

UNIVERSIDAD DE COSTA RICA
SISTEMA DE ESTUDIOS DE POSGRADO

Caracterización y evolución clínica de los pacientes nacidos desde el 01 de Agosto de 2016 al 31 de Julio de 2018 de madres con enfermedad confirmada por Virus del Zika durante el embarazo valorados en la Clínica de Enfermedades Congénitas del Hospital Nacional de Niños “Dr. Carlos Sáenz Herrera”.

Trabajo de graduación sometido a la consideración del Comité Director del Posgrado en Infectología Pediátrica para optar al grado académico de Especialista en Infectología Pediátrica.

Dra. Helena Brenes Chacón

**Ciudad Universitaria Rodrigo Facio, Costa Rica
2019**

Investigadores

- Investigador principal:

- Dr. Helena Brenes Chacón
Residente Infectología Pediátrica
Hospital Nacional de Niños Dr. Carlos Sáenz Herrera
Correo electrónico: helenabrenes@gmail.com

- Subinvestigadores:

- Dra. Alejandra Soriano Fallas
Doctora Especialista en Pediatría-Infectología
Hospital Nacional de Niños Dr. Carlos Sáenz Herrera
Correo electrónico: alejsoriano@yahoo.com
- Dra. María Luisa Ávila Agüero
Doctora Especialista en Pediatría-Infectología
Hospital Nacional de Niños Dr. Carlos Sáenz Herrera
Correo electrónico: avilaaguero@gmail.com
- Dra. Kattia Camacho Badilla
Doctora Especialista en Pediatría-Infectología
Hospital Nacional de Niños Dr. Carlos Sáenz Herrera
Correo electrónico: kcamachocr@gmail.com
- Dra. Gabriela Naranjo Zúñiga
Doctora Especialista en Pediatría
Hospital Nacional de Niños Dr. Carlos Sáenz Herrera
Correo electrónico: gabinarzu@hotmail.com

- Dra. Adriana Benavides
Doctora Especialista en Pediatría y Epidemiología
Instituto Costarricense de Investigación y Enseñanza en Nutrición y Salud
Correo electrónico: abenavides@inciensa.sa.cr

DEDICATORIA

A Dios y a mi familia, que han estado presentes en cada paso de este increíble viaje...

AGRADECIMIENTOS

- A mi tutora la Dra. Alejandra Soriano, por todo el apoyo y guía durante la realización del protocolo. Por abrirme tantas oportunidades de aprendizaje en el tema tanto nacional como internacionalmente.
- A la Dra. Adriana Benavides porque desde el INCIENSA ha colaborado enormemente a la composición de este proyecto.
- Al personal del laboratorio del INCIENSA por brindarme información vital para la realización de este protocolo.
- Al Departamento de Estadística del Hospital Nacional de Niños por la disposición para ayudar con la búsqueda de expedientes y la colaboración y disposición de ayudar en cualquier momento que fuese necesario.

San José, 07 de Enero de 2019

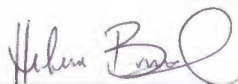
Sistema de Estudios de Postgrado

Universidad de Costa Rica

Estimados señores:

Por este medio hago constar que la investigación título "**Caracterización y evolución clínica de los pacientes nacidos desde el 01 de Agosto de 2016 al 31 de Julio de 2018 de madres con enfermedad confirmada por Virus del Zika durante el embarazo valorados en la Clínica de Enfermedades Congénitas del Hospital Nacional de Niños "Dr. Carlos Sáenz Herrera"**", sus resultados, discusión y conclusiones son obra y producto de mi persona, por lo que los derechos de propiedad intelectual sobre los mismos también me pertenecen. Este estudio fue debidamente aprobado por el Comité Local de Bioética e Investigación del Hospital Nacional de Niños. con el código CLOBI-HNN-023-2018.

Sin otro particular, se suscribe atentamente



Dr. Helena Brenes Chacón

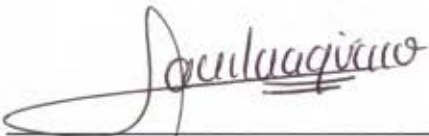
Cédula: 112650835

Código Médico: 10217

UNIVERSIDAD DE COSTA RICA
SISTEMA DE ESTUDIOS DE POSTGRADO
ACTA DE REVISION DEL PROYECTO DE GRADUACION

TITULO: Caracterización y evolución clínica de los pacientes nacidos desde el 01 de Agosto de 2016 al 31 de Julio de 2018 de madres con enfermedad confirmada por Virus del Zika durante el embarazo valorados en la Clínica de Enfermedades Congénitas del Hospital Nacional de Niños “Dr. Carlos Sáenz Herrera”.

Trabajo de Graduación aceptado por el Comité Director del Postgrado en Infectología Pediátrica para optar por el grado académico de Especialista en Infectología Pediátrica



Dra. María Luisa Ávila Agüero
Asistente Especialista en Infectología
Pediátrica
Coordinadora del Posgrado de
Infectología Pediátrica



Dra. Alejandra Soriano Fallas
Asistente especialista en Infectología
Pediátrica
Tutor académico



Dr. Helena Brenes Chacón
Autor Principal

TABLA DE CONTENIDOS

	Página
Investigadores	ii
Dedicatoria	iv
Agradecimientos	v
Carta de declaración al sistema de posgrados	vi
Hoja de aprobación	vii
Resumen	ix
Lista de abreviaturas	xi
Lista de tablas y gráficos	xii
Introducción	1
Justificación	6
Objetivos	7
Pacientes y métodos	8
Aspectos éticos	11
Fuentes de financiamiento	13
Definición de casos	14
Resultados	16
Discusión	21
Conclusiones	26
Limitaciones y sesgos del estudio	28
Recomendaciones	29
Anexos	30
Bibliografía	38

RESUMEN

Introducción: El virus del Zika (ZIKV), del género *Flavivirus* y familia *Flaviviridae*, es un tipo de arbovirus transmitido por el mosquito *Aedes sp.* Aunque la infección aguda tiende a ser asintomática o leve, la infección perinatal se asocia con diferentes alteraciones en el recién nacido, sobre todo a nivel de sistema nervioso central. El presente estudio busca describir aspectos epidemiológicos y demográficos de estos niños expuestos durante el embarazo, tanto aquellos con enfermedad congénita evidente al nacer, como aquellos que nacen sin manifestaciones evidentes, y documentar la evolución médica de los mismos.

Pacientes y métodos: Se revisaron los expedientes clínicos de los pacientes nacidos de madres con enfermedad por ZIKV confirmada durante el embarazo en control en la Clínica de Enfermedades Congénitas del Hospital Nacional de Niños.

Resultados: Se incluyó a 77 pacientes. 40/77 (52%) de sexo masculino, con media de edad de ingreso a la clínica de 4 meses (rango: 0-17). Las provincias más afectadas son Limón, Guanacaste y Puntarenas. 64/77 (83%) se clasificaron como de término adecuados para la edad gestacional, 6/77 (7.8%) como de término grandes para edad gestacional, 4/77 (5.2%) pretérminos adecuados para la edad gestacional. Al nacimiento 8/77 (10.3%) fueron clasificados con microcefalia, sólo 3/77 (4%) persistían con microcefalia en la segunda cita. Con respecto al momento de infección materna 25/77 (32.5%) tuvo exposición en el I trimestre, 42/77 (54.5%) II trimestre, y 8/77 (10.3%) en el III trimestre. Entre los síntomas presentados por la madre al momento de infección se obtuvo información de 46 pacientes, donde la mayoría presentó brote cutáneo, fiebre y cefalea (45/46 para 97.8%, 25/46 para 54.3% y 8/46 para 17.4%) En los estudios moleculares, 3/77 (4%) tuvo PCR por ZIKV positivo y 1/77 (1.3%) tuvo IgM positiva. Hallazgos anormales en el ultrasonido fueron identificados en 8/77 (10.4%); calcificaciones parenquimatosas, ventriculomegalia, zonas de hipoxia cerebral y atrofia corticosubcortical. Alteración en fondo de ojo se evidenció en 1/77 (1.3%); corioretinitis extensa bilateral. Con respecto a las valoraciones de control, en la primera cita 21/25 pacientes con infección en I trimestre tuvo valoración normal, al

igual que 38/42 (90.5%) de los expuestos en el II trimestre y 8/8 de los expuestos en III trimestre.

En la segunda cita de valoración que ha tenido un total de 42 pacientes, 37/42 (90.5%) han tenido valoraciones normales. 3/42 (9.5%) pacientes con infección durante el I trimestre y uno con infección en el II han tenido valoraciones descritas como anormales.

Diecisiete pacientes han tenido una tercera cita médica, donde se han reportado 9/17 (53%) pacientes con valoraciones normales. 8/17 (47%) se han reportando con valoraciones anormales. Solamente un paciente con infección durante el primer trimestre ha tenido una cuarta valoración descrita como anormal. No se documentaron pacientes fallecidos.

Conclusiones: Una décima parte de los pacientes fueron catalogados con microcefalia, sin embargo, en su primera cita de control, este número disminuye a valores más cercanos a los reportados. Los pacientes hijos de madres con infección durante el primer trimestre del embarazo, tienen mayores alteraciones documentadas en ultrasonidos de cerebro y estudio de fondo de ojo. Estos pacientes son aquellos donde además se reportan mayor afectación cognitiva y alteraciones en sistema nervioso central. Entre los hallazgos anormales en estudios de gabinete documentados en nuestros pacientes, se reporta ultrasonido de cerebro con calcificaciones parenquimatosas, ventriculomegalia, zonas de hipoxia cerebral y atrofia corticosubcortical, y fondo de ojo con corioretinitis bilateral extensa. Aquellos pacientes en los que se reporta alteraciones en la primera cita en la Clínica de Infecciones Congénitas, son pacientes con alteraciones presentes desde el nacimiento con afectaciones de sistema nervioso central como microcefalia, crisis convulsivas, retraso global del desarrollo psicomotor, entre otras. Las afectaciones observadas en pacientes después del año de edad en los cuales no se había documentado alteraciones previas, tienen que ver más con alteraciones del comportamiento y el lenguaje.

ABREVIATURAS

CCSS: Caja Costarricense del Seguro Social

HNN: Hospital Nacional de Niños “Dr. Carlos Sáenz Herrera”

INCIENSA: Instituto Costarricense de Investigación y Enseñanza en Nutrición y Salud

ZIKV: Virus del Zika

US: ultrasonido

FO: fondo de ojo

CDC: Centro de Diagnóstico y Prevención de Enfermedades Atlanta EEUU

CIC: Clínica Infecciones Congénitas

LISTA DE TABLAS

TABLAS	Página
Tabla 1. Características generales de los pacientes nacidos de madres con enfermedad confirmada por el Virus del Zika durante el embarazo valorados en la Clínica de Enfermedades Congénitas, HNN 2016-2018.	32
Tabla 2. Hallazgos en estudios de gabinete y valoraciones de especialistas en los pacientes nacidos de madres con enfermedad confirmada por el Virus del Zika según trimestre de infección valorados en la Clínica de Enfermedades Congénitas, HNN 2016-2018.	34
Tabla 3. Evolución clínica por cita de control de los pacientes nacidos de madres con enfermedad confirmada por el Virus del Zika según trimestre de infección valorados en la Clínica de Enfermedades Congénitas, HNN 2016-2018.	35
Tabla 4. Alteraciones clínicas encontradas en los pacientes según áreas de desarrollo valoradas en la Clínica de Enfermedades Congénitas, HNN 2016-2018.	36

INTRODUCCIÓN

El virus del Zika, del género *Flavivirus* y familia *Flaviviridae*, es un tipo de arbovirus transmitido por el mosquito *Aedes sp.* Se trata de un virus de cadena sencilla de ARN, con características muy parecidas a sus otros similares de la misma familia (1).

Los primeros reportes de la aparición del Virus del Zika datan del año 1947, cuando fue descrito en monos del Bosque de Zika en Uganda (2,3). Sin haberse encontrado aún en seres humanos (4), llamaba la atención la predilección del virus por el tejido neural, y las muchas características que compartía con el virus de la fiebre amarilla, que para ese momento, se había adaptado para producir enfermedad en seres humanos (3).

En años posteriores, se documentan algunos casos esporádicos de infección leve en humanos en áreas de África y el sureste de Asia, con menos de 10 reportes en la literatura para el año 2007 (5). Es en ese año cuando se describe el primer brote en humanos en la zona de Yap, Micronesia, con un cuadro clínico descrito como brote leve y fiebre en algunos pacientes, sin complicaciones descritas en este periodo (6).

En el 2013, en la Polinesia Francesa, se documentan cerca de 28 000 casos de enfermedad por Zika. Para este momento, la mayoría de ellos eran casos de infección leve (menos del 20% con sintomatología), con dos casos documentados de infección durante el período de gestación. No se documentó compromiso clínico en los hijos de estas madres, pero se plantea la posibilidad de transmisión ya sea durante el embarazo o por la lactancia materna (7). Se describe además en esta epidemia la primera probable asociación con el Síndrome de Guillain-Barré observado en un paciente, planteándose la asociación entre el virus y compromiso en tejido neural (8).

A pesar del comportamiento de infecciones esporádicas que hasta el año 2015 el virus del Zika había presentado, es en Noviembre del año 2015 donde en Brasil, se reporta una epidemia de casos en varios sitios de este país, describiendo entre 440 000 y 1.3 millones de casos autóctonos para esta época (9). Gracias a los

reportes generados durante ese brote y en brotes anteriores, en febrero 2016, el Centro de Control y Prevención de Enfermedades (CDC por sus siglas en inglés) advierte sobre la posibilidad de transmisión sexual del virus del Zika, y no solamente la transmisión vectorial como se conocía para ese momento (10-12).

A finales del año 2016, en las zonas de Brasil que fueron fuertemente afectadas por infecciones por el virus del Zika, se describen nacimientos de pacientes con algunas malformaciones congénitas no reportadas previamente y es en este momento donde se plantea la sospecha de infección congénita asociada al virus del Zika. El grupo de investigación de Brasil, basados en los datos que se tenían para este momento, describen que la afección perinatal podría encontrarse hasta en 3 de cada 1000 nacidos vivos (13), con hallazgos típicos de microcefalia, disminución del volumen cerebral, ventriculomegalia, hipoplasia cerebelar, lisencefalia, hidrocefalia y artrogriposis principalmente; datos que podrían encontrarse en otras infecciones congénitas, pero no con características tan claras como las observadas en estos casos (14, 15).

El genoma del virus de los casos encontrados durante la epidemia en Brasil, proviene de las cepas antes descritas en Asia (9), que había mutado y se había adaptado para producir infección en seres humanos, por medio de análisis filogenéticos del virus se logró demostrar que previo al brote en Brasil ya el virus circulaba en las Antillas (9).

La causalidad entre la infección por virus del Zika y el compromiso neurológico o la infección perinatal que se había descrito, empieza a cobrar fuerza y a ser estudiada por el CDC (16) y otros grupos de investigación (17). La afectación del sistema nervioso central en los recién nacidos, estaba sobrepasando lo esperado para cualquier otra infección vectorial, y los reportes de infecciones por virus del Zika en otras zonas de América avanzaban con rapidez (18).

Al igual que con otros arbovirus, (Dengue, Chikungunya Fiebre amarilla), el control del vector y sus fuentes de transmisión siempre han sido un problema sin una solución definitiva (18, 19), lo que hace, el Virus del Zika sea tan difícil de eliminar o de controlar.

Como se ha descrito desde el inicio de los casos en humanos, se estima que cerca del 80% de las personas infectadas por virus del Zika son asintomáticas o desarrollan una enfermedad leve autolimitada caracterizada por brote maculopapular, artralgias, conjuntivitis, prurito, mialgias y cefalea (20-22). La causalidad entre microcefalia o alteraciones neurológicas congénitas causadas por infección materna durante el embarazo por virus del Zika ha sido ampliamente estudiada en los últimos dos años. Estudios en maternidades en Brasil, en Pernambuco y en Recife, los sitios más afectados al inicio de la epidemia, han soportado esta teoría, cambiando la forma como se evalúan los pacientes con infecciones congénitas en muchos países en las Américas (23).

Actualmente se ha descrito que el riesgo de microcefalia secundaria a infección por virus del Zika es de 0.95%, 2 de cada 10 000 nacimientos (24). Al igual que en otras infecciones congénitas, el momento de la infección durante el embarazo hace que la sintomatología o las características al nacer varíen, considerando que infecciones tempranas durante el primer trimestre tienen más riesgo de producir microcefalia y compromiso neurológico severo (24, 25) a diferencia de aquellas producidas en embarazos avanzados.

El diagnóstico por laboratorio de la infección por virus del Zika es por estudio molecular o serológico. La reacción en cadena de polimerasa (PCR) detecta el virus durante la viremia, por lo que la recomendación es que se haga en los primeros 5 días del cuadro clínico. La IgM se detecta desde los primeros 4 días de síntomas hasta las 12 semanas posterior al cuadro (26). Uno de los problemas con respecto al diagnóstico ha sido en los pacientes recién nacidos, ya que, al tratarse de infecciones al inicio del embarazo, hay poca posibilidad de detectar viremia o serologías positivas en estos pacientes (27, 28).

La sintomatología en casos de infecciones congénitas ha sido un punto de investigación importante. Conociendo que el virus del Zika tiene gran tropismo por el sistema neuronal, es de esperar que las manifestaciones estén asociadas a este tejido. El neurotropismo del virus se ha observado en células de la glía y en neuronas, explicando que produzca microcalcificaciones, ventriculomegalia, colección de líquido extraaxial, alteraciones en circunvoluciones, hipoplasia de

cerebelo, vermis, lisencefalia, polimicrogiria, paquigiria. Se han descrito además alteraciones oculares como microftalmia, coloboma, calcificaciones intraoculares, hipoplasia nervio óptico y atrofia, cicatrices en macula, y alteraciones retineales pigmentarias que son muy características de la enfermedad. El compromiso articular (artrogriposis), ha sido descrito en estos casos, puede comprometer las 4 extremidades, en porcentajes tan altos como en el 86% de pacientes (29-33).

Desde el inicio de la epidemia, varias entidades a nivel nacional e internacional se han dado a la tarea de protocolizar el manejo de estos pacientes. En mujeres con diagnóstico de infección durante la gestación, se recomienda la realización de ultrasonido fetal, durante la semana 18 y 20 para observar estructura cerebral, y luego cada 3-4 semanas para descartar alteraciones posteriores (34).

Una vez que el paciente nace, el examen físico, la circunferencia cefálica, examen neurológico son de suma importancia. Realizar fondo de ojo con valoración oftalmológica y evaluación auditiva en las primeras semanas posterior al nacimiento son de suma importancia para observar alteraciones a este nivel desde edades tempranas (35, 36). El fenotipo de la enfermedad congénita por Zika es distintivo cuando se compara con otras enfermedades congénitas, sin embargo, no en todos los casos, sus manifestaciones van a ser evidentes (37).

Una particularidad que ha sido descrita con la infección congénita por virus del Zika es que la microcefalia no siempre está presente desde el nacimiento, y la misma podría desarrollarse en los primeros 6 meses de vida. Es por esta razón que el seguimiento de estos pacientes se vuelve una necesidad independientemente de la sintomatología presente al nacimiento (38, 39).

La infección por el virus del Zika se ha descrito como una enfermedad emergente, y sus complicaciones y sus manifestaciones en grupos de población especiales como lo son los recién nacidos ha sido ampliamente estudiada en los últimos dos años (40). La prevención de la enfermedad es difícil de implementar, no solo por lo complicado del control del vector, sino también por la transmisión sexual y la prolongada secreción viral en semen (10), por otro lado, aunque se está investigando el desarrollo de una vacuna (11), el virus del Zika tiene

neurotropismo no visto en otros virus de su misma familia lo que hace que los posibles efectos secundarios de la vacuna deben ser considerados. (41)

JUSTIFICACIÓN

Costa Rica es un país con transmisión autóctona, donde se han descrito desde Agosto del 2016, casos sugestivos y confirmados de Infección por Zika y de Síndrome de Enfermedad Congénita por Zika, la Clínica de Enfermedades Congénitas del Servicio de Infectología del Hospital Nacional de Niños, se ha dado a la tarea de dar seguimiento y evolución a estos pacientes (42).

Según el Boletín epidemiológico No. 23-2018 del Ministerio de Salud, con la información actualizada hasta el 23 de Noviembre de 2018, un total de 272 mujeres con infección confirmada por Zika durante el embarazo han sido identificadas, 150 en el 2016, 112 casos en el 2017 y 10 casos en el 2018 (43).

El presente estudio, describe los aspectos epidemiológicos y demográficos de los niños con exposición intrauterina al virus zika, con o sin evidencia de enfermedad congénita al nacer. Se describen las características iniciales presentadas por el paciente en las primeras valoraciones clínicas y su evolución en las citas de seguimiento. Hay poco conocimiento sobre la evolución a mediano y largo plazo de los pacientes nacidos de madres Zika positivas confirmada durante el embarazo, por lo que este estudio aportará información relevante sobre el crecimiento y desarrollo de estos niños durante sus primeros años de vida, permitiendo elaborar protocolos de identificación temprana e intervención oportuna de los problemas de salud y la adecuada remisión a los servicios de apoyo.

OBJETIVOS

Objetivo principal:

Describir la epidemiología y evolución clínica de los pacientes nacidos de madres con enfermedad confirmada por Virus del Zika durante el embarazo entre el 01 de Agosto de 2016 y el 31 de Julio de 2018 valorados en la Clínica de Enfermedades Congénitas del Hospital Nacional de Niños “Dr. Carlos Sáenz Herrera”

Objetivos específicos:

- Caracterizar la población de niños nacidos de madres con enfermedad confirmada por Virus del Zika durante el embarazo en control en la Clínica de Enfermedades Congénitas.

- Describir las comorbilidades presentadas por las madres durante el embarazo y las características clínicas de la enfermedad aguda por Virus del Zika presentadas por las madres en el momento del diagnóstico durante el embarazo.

- Identificar las características clínicas de los pacientes en control nacidos de madres con enfermedad confirmada por Virus del Zika durante el embarazo en las valoraciones tanto iniciales como consecuentes.

- Analizar las características clínicas al nacimiento de aquellos pacientes nacidos de madres con enfermedad confirmada por Virus del Zika durante el embarazo.

PACIENTES Y METODOS

Población del estudio

Pacientes nacidos de madres con enfermedad por virus del Zika confirmada durante el embarazo entre Agosto 2016 y Julio 2018, en control en la Clínica de Enfermedades Congénitas del Hospital Nacional de Niños “Dr. Carlos Sáenz Herrera”.

Se tomaron las definiciones utilizadas según el Protocolo de microcefalia y síndrome congénito asociado a virus del zika en Costa Rica (publicado 2016, actualizado en 2018) (42) para aquellos pacientes hijos de madre Zika positivo durante el embarazo que si tienen manifestaciones clínicas (ver definición de casos).

Criterios de inclusión

Rango de edad: todo paciente nacido entre Agosto 2016 y Julio 2018 en control a la Clínica de Enfermedades Congénitas del Hospital Nacional de Niños “Dr. Carlos Sáenz Herrera” hijos de madres con enfermedad confirmada por Virus del Zika durante el embarazo

Género: Cualquier género

Etnia: cualquier etnia

Inclusión de clases especiales o participantes vulnerables: todo paciente referido a la Clínica de Enfermedades Congénitas del Hospital Nacional de Niños “Dr. Carlos Sáenz Herrera” nacidos de madres con enfermedad confirmada por Virus del Zika durante el embarazo. Se incluirá a pacientes que tengan al menos un seguimiento de 3 meses desde su primera cita en la CIC.

Criterios de exclusión

- Todo paciente que no tenga más de 3 meses de seguimiento en la CIC, independiente de la causa.

Tamaño de la muestra

Se trabajó con la totalidad de la población. Según la información brindada por el Ministerio de Salud, desde el año 2016 y hasta la semana epidemiológica 45 del año 2018 (43), en Costa Rica se han confirmado 150 casos de mujeres embarazadas con infección por Zika en el 2016, 112 casos para el 2017 y 10 casos confirmados para el 2018, para un total de 272 mujeres con infección confirmada por Zika durante el embarazo, que corresponde al número esperado de pacientes para este estudio. Se incluyeron 102 pacientes en nuestro estudio, de estos, 25 fueron excluidos por no tener el seguimiento de más de 3 meses (no se excluyeron pacientes por muerte). En total, fueron incluidos 77 pacientes (28.3%).

Análisis de los datos

Variables a estudiar:

Datos del paciente: edad, sexo, clasificación del recién nacido, medidas antropométricas al nacimiento, diagnóstico de microcefalia al nacer, maternidad de nacimiento.

Antecedentes del embarazo: edad materna, lugar de residencia, enfermedades durante el embarazo, diagnóstico por laboratorio de enfermedad por Virus del Zika en la madre o padre, vivir o visitar zona de circulación de zika, diagnóstico por laboratorio de Dengue o Chikungunya en la madre

Estudios de laboratorio: Realización de PCR por Zika en madre, estudios por TORCHS en recién nacido, serologías por Zika en recién nacido, PCR por Zika en recién nacido

Estudios de laboratorio y gabinete del recién nacido: realización de hemograma, función hepática, control metabólico, tamizaje neonatal, ultrasonido de cerebro, emisiones otoacústicas, valoración por audiología, oftalmología, cardiología

Citas control: medidas antropométricas, presencia de microcefalia, alteraciones clínicas neurológicas asociadas (dificultad para alimentarse, irritabilidad anormal, crisis convulsivas, hipotonía o hipertonia, retraso en desarrollo motor, retraso de lenguaje, examen neurológico para la edad alterado.)

Método para el análisis de datos: Se utilizaron medidas de tendencia central (promedios, moda, mediana) y medidas de dispersión (desviación estándar, rango, IC 95%) para aquellas variables cuantitativas y se usaron distribuciones de frecuencia de variables cuantitativas. Se evaluó la normalidad de los datos para aquellos datos pertenecientes a variables cuantitativas. Se hizo uso del programa Microsoft® Excel® for Mac 2011, versión 14.7.1 (161129) para la edición de datos, y Epi Info 7.0® para estadística descriptiva del estudio.

Cálculo del tamaño muestral: Se trata del tamaño completo de la población, por lo cual no se hizo un cálculo de la muestra.

Mediciones y estimaciones: se hará datos comparativos entre los pacientes, utilizando medias para variables cuantitativas y porcentaje para categóricas, con su respectivos intervalos de confianza. Se calculará la prevalencia de microcefalia, alteraciones del sistema nervioso central o síndrome congénito asociado al Virus del Zika de la siguiente manera:

$$\frac{\text{Número de casos afectados}}{\text{Total de niños hijos de madre con enfermedad por Virus del Zika durante el embarazo}}$$

El número calculado se estratificó según trimestre de embarazo de positivas de la prueba en las madres.

Análisis secundarios: No aplican

ASPECTOS ÉTICOS

El estudio fue aprobado por el Comité Local de Bioética e Investigación del HNN con el código CEC-HNN-023-2018.

Se respetaron todos los principios éticos básicos estipulados en el informe de Belmont.

Principio de autonomía: Uno de los imperativos éticos más importantes. Al tratarse de un estudio retrospectivo donde se reclutará información de expediente clínico, no se aplicará el consentimiento informado, el estudio es por ende sometido a un comité de bioética local que asegure el cumplimiento de las buenas prácticas de investigación.

Principio de justicia: todo el manejo de los datos obtenidos de la revisión de expedientes, se hará respetando este principio, manejado todos los datos de cada paciente de igual manera, ajustándonos al cumplimiento del protocolo aprobado. La posibilidad de manejar estos pacientes de una forma centralizada en la Clínica de Enfermedades Congénitas, permite que las valoraciones iniciales sean echas de forma oportuna, temprana, y por los especialistas en el ámbito pediátrico conocedores de esta patología. Se logra de esta manera dar un manejo integral a estos pacientes que en ocasiones tendrán patología y afectaciones múltiples y complejas. Esta información será utilizada para la mejoría de los servicios de estos y los futuros pacientes.

Principio de beneficencia: Al ser un reclutamiento de pacientes de forma retrospectiva, el beneficio será para los futuros pacientes. Al conocer las afectaciones específicas que presentan los pacientes nacidos de madres con enfermedad por virus del Zika durante el embarazo y el seguimiento de los mismos los primeros meses de vida, los cuales no son del todo conocidas incluso a nivel mundial, los futuros pacientes con esta misma patología se beneficiarán del conocimiento adquirido tanto por el servicio de Enfermedades congénitas como por otros servicios que también valoran este tipo de pacientes (neurodesarrollo, genética, neurología entre otros). La atención temprana, oportuna y la posibilidad

de anticipar el comportamiento de estos pacientes según su afectación inicial, optimizará la forma como se manejan estos pacientes.

Principio de no maleficencia: no se obtendrá ningún dato o se hará uso inadecuado de la información obtenida de los expedientes clínicos.

FUENTES DE FINANCIAMIENTO

Esta investigación no contó con medios de financiamiento externo y no representó gastos extra para la institución de la Caja Costarricense del Seguro Social, puesto que consiste únicamente en una revisión de expedientes clínicos. Los gastos de papelería e impresión fueron cubiertos en su totalidad por los investigadores.

DEFINICION DE CASOS

Se tomaron las definiciones utilizadas según el Protocolo de microcefalia y síndrome congénito asociado a virus del zika en Costa Rica (publicado 2016, actualizado en 2018) para aquellos hijos de madre zika positiva durante el embarazo que si tuvieron manifestaciones clínicas:

A Caso de Microcefalia Congénita sospechoso de estar asociado a Infección por Zika

Todo recién nacido vivo con microcefalia, será considerado como sospechoso de infección por virus del Zika.

B Caso de Síndrome Congénito sospechoso de estar asociado a Infección por Zika

Todo recién nacido vivo que presente al menos dos de los siguientes defectos congénitos en donde al menos uno debe ser del sistema nervioso central:

Sistema nervioso central: microcefalia, calcificaciones intracerebrales, hipoplasia cerebral o cerebelar, adelgazamiento de la corteza cerebral, malformaciones del cuerpo calloso, ventriculomegalia o aumento de líquido extra-axial, patrón de los giros cerebrales anómalo (ej: polimicrogiria, lisencefalia).

Sordera neurosensorial o hipoacusia central

Ópticas: anomalías estructurales como microftalmia, coloboma, cataratas o calcificaciones intraoculares; anomalías de polo posterior como atrofia coriorretinal, anomalías del nervio óptico, pigmentación moteada de la retina, entre otras.

Artrogriposis o contracturas múltiples y pie bot unilateral o bilateral.

Todo recién nacido vivo o muerto hijo de madre con infección confirmada por zika en el embarazo, que presente cualquier defecto congénito.

C Caso de microcefalia o Síndrome Congénito probablemente asociado a la Infección por Zika

Recién nacido vivo de cualquier edad gestacional que cumpla la definición de caso sospechoso, en quien no se haya identificado el virus del Zika en muestras del recién nacido, pero se haya confirmado la presencia del virus en la madre y se descarten otras causas, incluyendo diagnósticos de TORCHS.

Recién nacido vivo de cualquier edad gestacional que cumpla la definición de caso sospechoso, en donde el laboratorio no detectó infección por virus del Zika en el recién nacido o la madre, y no se descubre alguna otra causa específica, pero la madre presentó un cuadro clínico típico de enfermedad de Zika y residió o visitó en ese período de embarazo una zona de circulación confirmada del virus del Zika.

D Caso de microcefalia o Síndrome Congénito con asociación confirmada con virus Zika

Recién nacido vivo de cualquier edad gestacional que cumpla la definición de caso sospechoso, en quien se haya identificado el virus del Zika en al menos una de las muestras del recién nacido, independientemente de la detección de otros agentes.

RESULTADOS

De 272 casos de embarazadas zika positivas documentados en el país, un total de 102/272 (37.5%) pacientes hijos de éstas madres han sido controlados en la CIC, de los cuales 77/102 pacientes (75.5%) cumplieron con los criterios de inclusión. 40/77 pacientes (52%) son del sexo masculino. La media de la edad en meses de ingreso a la clínica es de 4 meses, con rango que va desde los 0 meses (22 días de nacido) hasta los 17 meses (tabla 1).

Con respecto a la provincia de procedencia, se realizaron tasas de incidencia por 100 000 habitantes en cada provincia, con tasa de afectación del 2.56 en la provincia de San José, 1.29 en Alajuela, 1.64 en Heredia, 23.67 en Guanacaste, 8.95 en Puntarenas y 28.93 en la provincia de Limón (tabla 1).

Según las medidas antropométricas al nacer, 64 pacientes (83%) fueron clasificados como recién nacidos de término adecuados para la edad gestacional, 6 pacientes (7.8%) como de término grandes para la edad gestacional y 4 pacientes (5.2%) como pretérminos adecuados para la edad gestacional (tabla 1).

Según la circunferencia cefálica al nacer, 8 pacientes (10.3%) fueron clasificados con microcefalia, mientras los otros 69 (89.6%) se clasificaron como normocéfalos (tabla 1).

En la primera cita en la CIC al igual que en las citas de seguimiento, se documentó que 3 pacientes (4%) persistían con microcefalia, 74 pacientes (96%) se clasificaron como normocéfalos. (tabla 1).

Con respecto al momento de infección materna durante el embarazo por virus del Zika, 25 pacientes (32.5%) tuvo exposición viral en el primer trimestre, 42 pacientes (54.5%) durante el segundo trimestre, y 8 pacientes (10.3%) durante el tercero. Los datos no fueron anotados en 2 (2.6%) pacientes.

Indagando sobre las comorbilidades maternas durante el embarazo, 15/77 madres (19.5%) recibieron medicamentos durante el embarazo: 8/15 antibióticos, en su mayoría por infecciones documentadas del tracto urinario 8/15 (53%), 4/15 medicamentos antihipertensivos (27%), 2/17 (13%) tratamiento con levotiroxina y 2/17 otros medicamentos (tabla 1). Todos los medicamentos anotados fueron

revisados según la clasificación de riesgo de medicamentos para uso durante el embarazo dada por la Administración de Medicamentos y Alimentos de los Estados Unidos (FDA por sus siglas en inglés), y todos ellos fueron clasificados en las categorías A y B.

En cuanto a la sintomatología presentada por la madre al momento del diagnóstico de infección por virus del Zika, se observa que 45 pacientes presentan brote (58.4%), 25 (32.4%) fiebre, 8 (10.4%) cefalea, 5 pacientes (6.5%) conjuntivitis y la misma cantidad mialgias, 3 pacientes (4%) se presentaron con vómito, 2 (2.6%) con artralgias y una paciente con prurito y otra edema, para un 1.3% cada uno. No se documentó en el expediente los síntomas presentados en 31 pacientes (40.2%).

Con respecto al resultado, de laboratorio molecular (PCR) en los recién nacidos, 3 pacientes (4%) tuvieron PCR positiva para virus del Zika (2 de ellos con infección aguda en la madre en el primer trimestre y uno de ellos con infección en el segundo trimestre de embarazo), 64 pacientes (83%) con resultado negativo y en 10 pacientes (13%) este estudio no fue realizado o no fue procesado en el laboratorio de referencia. Se realizó serología IgM por virus del Zika en 65/77, 1 paciente (1.3%) tuvo resultado positivo (madre con infección aguda en el I trimestre), 64 pacientes (83%) tuvieron resultados negativos. En 2 pacientes (2.6%) no se realizó la prueba por el laboratorio de referencia porque ya tenían una PCR positiva, y en 10 pacientes (13%) la prueba no se tomó o no fue procesada (tabla 1).

A 60 pacientes se les tomaron serologías por otras infecciones congénitas (rubeola, citomegalovirus, toxoplasmosis, VDRL). En los pacientes en los que estas pruebas fueron realizadas, 7 pacientes (9.1%) tuvieron IgM positiva por CMV y 1 paciente (1.3%) tuvo un VDRL reactivo débil (tabla 1).

Durante las citas de control en la Clínica de infecciones Congénitas se realizó hemograma para ver el valor de las plaquetas y enzimas hepáticas (Aspartato Aminotransferasa y Alanino Aminotransferasa). El conteo de plaquetas fue valorado en 55 pacientes, documentando conteo normal en 53 pacientes (68.9%) y trombocitosis en 2 pacientes (2.6%). Trombocitopenia no fue documentada en

ningún paciente. Con respecto a las enzimas hepáticas, esta prueba fue realizada en 46 pacientes, con resultado normal en 43 pacientes (55.8%) y elevación de las mismas en 3 pacientes (4%) (tabla 1).

En la tabla 2, se documenta el análisis de los estudios de gabinete realizados y las valoraciones por especialistas, separando los pacientes según el trimestre de infección materna por virus del Zika.

En los pacientes con infección materna durante el primer trimestre de embarazo (25/77), en el ultrasonido de cerebro, en 20/25 pacientes (80%) no se identificó alteración, en 4 pacientes (16%) se documentó un ultrasonido anormal (tabla 2). Entre las anomalías anotadas, se citan un paciente con atrofia subcortical, calcificaciones periventriculares y cuerpo calloso adelgazado. Otro paciente con infarto parenquimatoso en estudio inicial, pero con un control normal a los 6 meses de edad. Otro paciente con calcificaciones en sustancia blanca frontal y paraventricular, con estudio control a los 5 meses de edad reportado normal. Y el cuarto paciente con quiste plexo coroideo izquierdo (tabla 2).

Con respecto al fondo de ojo, 24/25 pacientes (96%) tuvieron un estudio normal y en 1 paciente (4%) se reporta corioretinitis extensa bilateral. Por tamizaje auditivo, 21/25 pacientes (84%) tuvo un resultado normal, 3 pacientes (12%) con un reporte anormal. A 9/25 pacientes se le realizó estudio auditivo ya fuera con emisiones otoacústicas (EOA) o potenciales auditivos evocados (PAE), y todos fueron normales. Entre estos 9 pacientes se encontraban los 3 paciente con tamizaje auditivo neonatal alterado. Entre estos pacientes con infección en el primer trimestre, 3 (12%) fueron catalogados como síndrome congénito por virus del Zika confirmado, 2 de ellos por PCR y 1 de ellos por serología IgM positiva la nacer (tabla 2).

En pacientes con infección materna durante el II trimestre (42/77), 38 pacientes (90.4%) tuvieron ultrasonido normal y 3 pacientes (7.4%) anormal. En el primer paciente se documentaron calcificaciones periventriculares y talámicas, con ultrasonido control a los 6 meses de edad reportado normal. Otro paciente

presentó en secuelas de hipoxia en hemisferio cerebral izquierdo, asta occipital, atrium del ventrículo lateral izquierdo y ventriculomegalia. En el tercer paciente, se documentó atrofia corticosubcortical, con calcificaciones subdurales de tipo benignas. Con respecto al resultado del fondo de ojo, en 41/42 (97.6%) pacientes este estudio fue normal (tabla 2).

El tamizaje auditivo al nacer fue realizado en 37 pacientes, con 35 de ellos (83.3%) con resultado normal y 2 de ellos (4.7%) con resultado anormal. Se realizó EOA y/o PAE en 18 pacientes, incluidos los 2 pacientes con tamizaje auditivo neonatal alterado, y se reportó normal en 17 de ellos (40.5%), y 1 paciente con resultado anormal (2.4%). Este paciente con resultado anormal, tenía un tamizaje auditivo neonatal normal, y los dos pacientes con tamizaje alterado, resultaron normales en estas pruebas posteriores. No se documentaron pacientes con síndrome congénito por Zika confirmado, y en 1 paciente (2.4%) sí se reportó infección congénita por virus del Zika confirmado por PCR positiva al nacer (tabla 2).

En los pacientes con infección documentada durante el tercer trimestre de embarazo, 6/8 pacientes (75%) tuvieron un ultrasonido normal, y un paciente (12.5%) con resultado anormal. En este paciente se documentaron zonas hiperecogénicas en sustancia blanca, se realizó tomografía axial computarizada (TAC) reportando aumento espacio subaracnoideo frontotemporal, y con resonancia magnética nuclear (RMN) reportada como normal. Ninguno de los pacientes estudiados tuvo alteración en otros estudios como fondo de ojo, tamizaje auditivo y EOA o PAE. No se documentó por PCR o serologías positividad en ninguno de estos pacientes al nacer (tabla 2).

En la tabla 3 se anotan las valoraciones clínicas realizadas en los pacientes en las citas control según el trimestre de infección materna. De la totalidad de los pacientes en los que se pudo determinar el trimestre de embarazo de la infección (75/77) tuvo una primera valoración en la CIC, 42 pacientes ya tuvieron una

segunda valoración clínica, 17 pacientes ha tenido una tercera valoración clínica y 1 paciente ha tenido una cuarta valoración clínica.

En la primera cita se documenta que 21 de los pacientes con infección durante el I trimestre de embarazo tuvo una valoración normal, al igual que 38 pacientes con infección durante el segundo trimestre y los 8 pacientes con infección durante el tercer trimestre, para un total de 67 pacientes (89%). Por lo contrario, 4 pacientes con infección durante el primer trimestre y 4 pacientes con infección en el segundo tuvieron valoraciones anormales, para un total de 8 pacientes (10.6%) (tabla 3).

En la segunda cita de valoración que ha tenido un total de 42 pacientes, 13 pacientes con infección en el primer trimestre, 22 con infección en el segundo y 3 pacientes con infección en el tercero se han descrito como con valoraciones normales, para un total de 37 pacientes (90.5%). 3 pacientes con infección durante el primer trimestre y uno con infección en el segundo han tenido valoraciones descritas como anormales (9.5%) (tabla 3).

17 pacientes han tenido una tercera cita médica, donde se han reportado 9 pacientes con valoraciones normales (53%): 3 de ellos con infección en el primer trimestre y 6 de ellos con infección durante el segundo. 8 pacientes (47%) se han reportando con valoraciones anormales. Solamente un paciente con infección durante el primer trimestre ha tenido una cuarta valoración descrita como anormal (tabla 3).

En la tabla 4 se describen las alteraciones clínicas encontradas en las diferentes citas de control de los 14/77 pacientes (18.2%) que han sido descrito con valoraciones anormales: los diferentes hallazgos clínicos y el momento de infección materna de cada uno de estos pacientes.

DISCUSIÓN

En el año 2016, basándose en las recomendaciones dadas por organismos internacionales, y la corroboración de que la infección durante el embarazo por virus del Zika podía llevar a infección congénita, las instituciones de salud de nuestro país se dan a la tarea de elaborar el protocolo de manejo de los pacientes con microcefalia en los cuales hay sospecha de infección congénita por virus del Zika. Además, debido a la creciente evidencia de que los pacientes producto de madres con infección durante el embarazo podrían sufrir alteraciones en el crecimiento y desarrollo, se dispuso que estos pacientes fueran valorados por especialistas, en nuestro caso, por el servicio de Infectología en la Clínica de Infecciones Congénitas.

La microcefalia como hallazgo inicial se identificó en el 10% de los pacientes estudiados. Este porcentaje sobrepasa lo reportado en la literatura, sobre todo de Brasil, que para el 2016, describen un riesgo de microcefalia secundaria a infección por virus del Zika durante el embarazo de 0.95% (24, 25). El hecho de que menos de la mitad de los pacientes identificados en el país han sido incluidos en este estudio y a que al inicio el protocolo nacional indicaba que todos los pacientes con microcefalia debían ser referidos a la CIC, este valor podría no reflejar la realidad nacional. Es importante recalcar que, en la primera cita de control, generalmente entre los 4 y 5 meses de edad, solamente un 4% de estos pacientes continúa con microcefalia, valor más cercano a lo reportado en la literatura internacional (24,25). A diferencia de lo que ha sido descrito en Brasil, ninguno de nuestros pacientes clasificados como normocéfalos al nacer, desarrolló microcefalia posteriormente.

Una reciente revisión no sistemática que reúne datos publicados en diferentes fuentes bibliográficas (45) analiza parámetros antropométricos de los primeros 2,5 años de una cohorte de niños expuestos al virus Zika durante el embarazo, documentando que hay una restricción del crecimiento intrauterino como el bajo peso al nacer, lo anterior contrasta con nuestros datos, donde la mayoría de los pacientes fueron clasificados como recién nacidos de término adecuados a edad

gestacional, y las valoraciones posteriores evidenciaban crecimiento normal. Este es un hallazgo positivo para nuestra población ya que el déficit de crecimiento postnatal parece ser directamente proporcional al grado de deterioro neurológico. La etiología es multifactorial y probablemente intervienen factores nutricionales y no nutricionales. Los datos de dicha publicación muestran que la evolución de la circunferencia cefálica depende de esta medida al nacer y que el crecimiento peso / talla tiene una tendencia hacia un menor peso y longitud en niños con microcefalia congénita que desarrollan alguna anomalía neurológica. Este punto es sumamente importante para ser considerado en las citas de control en la CIC.

Con respecto a los riesgos durante el embarazo, además de la infección materna por virus del Zika, se documenta que una quinta parte de nuestros pacientes estuvo expuesto a algún tipo de medicamento fuera de aquellos recomendados de rutina durante el embarazo (es decir, sin incluir complejos vitamínicos o suplementos férricos), sin embargo, en esta población todos fueron clasificados como medicamentos en categoría A o B de la FDA, por lo que implican poco riesgo de afectación directa al feto. Entre las complicaciones durante el embarazo identificadas en nuestra población tanto la hipertensión arterial inducida por el embarazo como Diabetes mellitus gestacional son de las principalmente descritas en las mujeres embarazadas, no así el hipotiroidismo. Estas enfermedades pueden llevar a retraso en el crecimiento intrauterino fetal o bajo peso al nacer (44), condiciones no documentados en nuestra población. Serán necesarias más investigaciones que determinen si la asociación entre infección materna por Zika y comorbilidades maternas podría influir negativamente en el desarrollo y crecimiento de los niños.

Con respecto al diagnóstico al momento del nacimiento, los pacientes con resultados positivos se caracterizaron por tratarse de infecciones ya fuera en el I o II trimestre de embarazo, lo cual llama la atención ya que tanto la PCR como las serologías por IgM no tienden a estar positivas más allá de unas cuantas semanas posterior a la infección (26-28). Esto hace pensar que en pacientes con síndromes congénitos estas pruebas pueden estar positivas incluso por meses debido a que la replicación del virus continúa cercano al parto o incluso después del nacimiento

independientemente del momento de la infección materna (20). Esta hipótesis no ha sido aún validada en la literatura internacional.

La infección por virus del Zika puede tener características similares a otras enfermedades infecciosas congénitas (21), sobre todo con rubéola, por lo que es necesario establecer diagnóstico diferencial con ésta y otras infecciones congénitas (CMV, toxoplasmosis). En nuestra serie, similar a lo que se reporta en la literatura, no se identificaron coinfecciones.

Al analizar los datos de los pacientes según el momento de la infección materna, se puede observar que las alteraciones en el ultrasonido de cerebro son más frecuentes en aquellos pacientes con infección al inicio del embarazo. Esto ha sido reportado en otros estudios (24, 25), y como en nuestra casuística los principales hallazgos son calcificaciones parenquimatosas (28,30), ventriculomegalia (29), zonas de hipoxia cerebral (33) y atrofia corticosubcortical (28,29), y fondo de ojo con corioretinitis bilateral extensa (25). Aún así, la incidencia de los mismos en nuestra casuística es más baja que lo reportado a nivel internacional.

Cambios pigmentarios en retina que han sido descritos como principales hallazgos en los pacientes con enfermedad congénita por Zika (25,28) no fueron encontrados en nuestra población.

A pesar que pocos pacientes tuvieron una tercera o cuarta consulta, que generalmente corresponde a citas después del año de edad, se documentó por la valoración médica o por relato de los padres, la presencia de alteraciones en algunos aspectos del comportamiento, como lo son la hiperactividad o alteraciones en el lenguaje. Estos hallazgos refuerzan la conveniencia de evaluaciones a mediano y largo plazo, ya que alteraciones sutiles pueden no ser evidentes en los primeros meses de vida (37-39). Datos de Estados Unidos de Norte América, publicados este año en *US Zika Pregnancy and Infant Registry* (46) refieren que del análisis de 1450 hijos de madres con infección por Zika confirmada o sospechada, que tenían seguimiento al año de edad, 1 de cada 7 niños (14%), presentaba 1 o más problemas de salud probablemente asociado a la exposición

intrauterina al virus Zika. Sin duda, la microcefalia es apenas la punta del iceberg, y más investigaciones enfocándose en el neurodesarrollo son necesarias.

Es interesante que estos hallazgos se observaron en pacientes con infecciones más tardías durante el embarazo, es decir, en aquellos con infecciones en el segundo e incluso en el tercer trimestre, y que se reportaban en las primeras citas como pacientes sin alteraciones clínicas evidentes.

Varias publicaciones enfatizan sobre la posibilidad de que los pacientes con exposición perinatal podrían nacer sin manifestaciones clínicas iniciales y desarrollar estas de forma tardía durante el desarrollo del niño (32,36,39). Es por esta razón que el seguimiento de estos pacientes en el tiempo y la identificación temprana de alteraciones sutiles, es de suma importancia ya que pueden solucionarse o mejorarse con intervenciones preventivas y terapéuticas.

En nuestro estudio, no todos los pacientes tuvieron las valoraciones recomendadas completas, por lo que es necesario enfatizar en la necesidad del cumplimiento estricto del protocolo establecido. El incumplimiento en el protocolo podría estar en relación a que la emergencia de esta infección es un reto para los servicios de salud, y demandan una mayor cantidad de exámenes de laboratorio y gabinete. El reporte *US Zika Pregnancy and Infant Registry* (47) también menciona este hecho y en su casuística de 1450 pacientes, el 95% tenía al menos un examen físico, el 76% tenía valoración del desarrollo, el 60% tenía una neuroimagen postnatal y el 48% tenía una prueba o evaluación auditiva. En el 36% de los niños tenía un examen oftalmológico. Como se puede notar los pacientes incluidos en nuestra serie exhiben porcentajes mayores de evaluación que los niños en EEUU.

La mortalidad por enfermedad congénita por virus del Zika no ha sido bien establecida por tratarse de una enfermedad emergente y poco conocida en nuestra región, hasta el momento (20). Sin embargo, se han reportado muertes fetales en productos de más de 30 semanas, y muertes neonatales tempranas en las primeras 20 horas de nacidos en niños con microcefalia (48). En nuestro

estudio, no se documentaron pacientes fallecidos, durante el periodo de seguimiento.

La presente casuística plantea la necesidad de modificar los protocolos de seguimiento de los niños con exposición antenatal al virus del ZIKA y dar un seguimiento más prolongado, por otro lado, estudios de caso control serán necesarios para verificar que los hallazgos descritos están relacionados con el virus del ZIKA o bien hay interferencia de otros factores.

El 80% de los pacientes valorados procedían de Limón, Guanacaste y Puntarenas, es decir, de zonas costeras. Lo anterior es lo esperable ya que son las zonas donde predomina el vector y se dan la mayoría de los casos de otras arbovirosis (42,43). Esto plantea un reto social, ya que es conocido que éstas son las zonas con mayor índice de pobreza en el país, y por ende serán necesarias políticas públicas que consideren la vulnerabilidad de estas poblaciones. Campos MC y colaboradores (49) plantean la hipótesis de que la distribución inusual de la microcefalia en Brasil podría verse acentuada por la pobreza. Sin duda se requieren estudios de cohorte exhaustivos a gran escala para corroborar estos hallazgos.

CONCLUSIONES

Al finalizar el análisis de los datos del presente protocolo, se puede concluir que:

- La mayoría de los pacientes hijos de madre con infección por virus del Zika confirmada, provienen de las zonas costeras, principalmente de la provincia de Limón, seguido por la provincia de Guanacaste y luego Puntarenas.
- No se documentó en nuestra población un incremento en los partos prematuros o bajo peso al nacer. Por lo contrario, la mayoría fueron clasificados como pacientes nacidos a término.
- La sintomatología clínica presentada por las madres se caracterizó principalmente por brote, fiebre, cefalea, conjuntivitis y mialgias entre otros, que son los síntomas descritos para enfermedad aguda por virus del Zika, sin cuadros clínicos complicados por lo menos descritos en estas pacientes.
- Una décima parte de nuestros pacientes fueron catalogados con microcefalia, lo que sobrepasa los datos reportados en la literatura internacional, sin embargo, en su primera cita de control, este número disminuye a valores más cercanos a los reportados.
- Otras comorbilidades durante el embarazo como los son el uso de medicamentos o las infecciones presentadas por la madre durante el embarazo, no parecen haber tenido un impacto en las características clínicas o antropométricas de nuestros pacientes en estudio.
- Un 5% de nuestros pacientes tuvieron resultados moleculares o serológicos positivos por virus del Zika, siendo de interés que fueron pacientes con infecciones tempranas durante el embarazo y que por el tiempo de evolución de la enfermedad, no se espera encontrar estos resultados positivos. Esto hace pensar que la replicación viral del Zika en estos pacientes se prolongó más allá de lo esperado. Tres cuartas partes de estos pacientes tienen características que los catalogan como síndromes congénitos por virus del Zika con importantes afectaciones en sistema nervioso central.

- Otras infecciones virales congénitas no parecen tener relación con las manifestaciones o la ausencia de ellas en nuestra población estudiada. Coinfecciones con otros virus no fueron descritas en nuestros pacientes.
- Alteraciones en otros laboratorios como la presencia trombocitopenia o elevación significativa de enzimas hepáticas en estos pacientes no fueron documentadas en este estudio.
- A pesar de que la exposición prenatal al virus del Zika influye en alteraciones neurológicas documentadas en ultrasonidos de cerebro y estudio de fondo de ojo, solamente un 5% de nuestros pacientes presentaron estas alteraciones.
- Entre los hallazgos anormales en estudios de gabinete documentados en nuestros pacientes, se reporta ultrasonido de cerebro con calcificaciones parenquimatosas, ventriculomegalia, zonas de hipoxia cerebral y atrofia corticosubcortical, y fondo de ojo con corioretinitis bilateral extensa.
- Las principales afectaciones documentadas en las primeras citas son afectaciones de sistema nervioso central: como microcefalia, crisis convulsivas, retraso global del desarrollo psicomotor, entre otras.
- El reporte de valoraciones anormales incrementa en la tercera cita, que es alrededor de los 12 a 15 meses de vida del paciente. Las afectaciones observadas en pacientes después del año de edad en los cuales no se había documentado alteraciones previas, tienen que ver más con alteraciones del comportamiento y el lenguaje. Son pocos pacientes como para asegurar que sea una constante, pero podrían indicar una tendencia.
- Según los últimos reportes epidemiológicos brindados por el Ministerio de Salud, la cantidad de casos de infección materna por virus del Zika han disminuido de forma considerable, hecho documentado también en otros países de la región. Esto hace que esta cohorte de pacientes pueda ser la más grande a reportar en nuestro país.

LIMITACIONES Y SEGOS

Limitaciones:

1. Es inherente al estudio retrospectivo.
2. La población que se maneja en el Hospital Nacional de Niños “Dr. Carlos Sáenz Herrera” es una población en su mayoría referida de otros centros médicos. A pesar de que se espera que todos los hijos de madre con infección durante el embarazo por virus del Zika sean referidos para valoración en nuestra CIC, solamente el 50% tiene control en nuestro centro, y solamente el 28.2% fueron incluidos en este estudio.

Segos:

1. Al tratarse de una enfermedad emergente poco conocida y el hecho de no tener la totalidad de la población para estudiar, algunos datos podrían no estar representando la realidad nacional.

RECOMENDACIONES

Como parte de este protocolo y habiendo analizado los resultados presentes, se dan algunas recomendaciones sobre el manejo de estos pacientes en los servicios de consulta externa:

1. El protocolo de manejo instaurado por el Ministerio de Salud en el 2016 y actualizado nuevamente en el 2018, debe ser manejado y conocido por todas las unidades de maternidad regionales y centrales para el seguimiento correcto y referencia oportuna de estos pacientes.
2. A pesar de la baja tasa de positividad de pruebas moleculares como la PCR o serológicas como la IgM, la recomendación de estudiar a todos estos pacientes debe ser reforzada en las maternidades.
3. La microcefalia no es la única manifestación clínica de estos pacientes, por lo que una valoración cautelosa a la hora de nacer y en citas posteriores es primordial para la pronta captación de estos pacientes.
4. Alteraciones importantes a nivel de sistema nervioso central o de desarrollo psicomotor son evidentes desde el nacimiento o en valoraciones en los primeros meses de vida; sin embargo, alteraciones en otros niveles como en el comportamiento o en lenguaje, pueden no verse hasta después del año de edad, por lo que el seguimiento de estos pacientes los primeros años de vida es necesario en esta población.
5. Alteraciones sutiles en el desarrollo después del año de edad pueden observarse en aquellos pacientes expuestos perinatalmente al virus del Zika. El seguimiento de estos pacientes en el tiempo y la identificación temprana de alteraciones sutiles que puedan verse beneficiadas de intervenciones preventivas son necesarias y mandatorias.

ANEXO 1

Hoja de recolección de datos

Formulario No: _____			
Persona que recolecta información: Helena Brenes Chacón			
Fecha: / / 2018			
Investigadores: Dra. Helena Brenes, Dra. Alejandra Soriano, Dra. María Luisa Ávila, Dra. Kattia Camacho, Dra. Gabriela Naranjo, Dra. Adriana Benavides			
Criterios inclusión - Todo paciente ingresado a la Clínica de Enfermedades Congénitas del Hospital Nacional de Niños "Dr. Carlos Sáenz Herrera" nacidos de madres con enfermedad confirmada por Virus del Zika durante el embarazo. - Pacientes que tengan al menos un seguimiento de 3 meses desde su primera cita en la clínica.		Criterios exclusión - Paciente que deja de asistir a las citas de la Clínica de Enfermedades Congénitas del Hospital Nacional de Niños Dr. Carlos Sáenz Herrera que no haya tenido un seguimiento mayor de 3 meses en la consulta. - Paciente que fallece por cualquier circunstancia y que por lo tanto no logra tener un seguimiento mayor de 3 meses en la Clínica de Enfermedades Congénitas.	
Datos del Paciente			
Fecha de ingreso a la clínica (dd/mm/aaaa): _____			
Edad al ingreso a la clínica (meses): _____			
Maternidad donde nace: _____			
Sexo: 1. Masculino 2. Femenino	Edad gestacional (EG) al nacer (semanas): _____	Clasificación del recién nacido: 1. RNP 2. RNT 3. RNPo	Medidas antropométricas al nacer: Circ. Cefálica (cm): Talla (cm): Peso (g):
¿Tuvo diagnóstico de microcefalia al nacer? (medida de la CC menor a 2 DS para la edad gestacional): 1. Si 2. No			
Antecedentes del embarazo			
Lugar de residencia:			
1. Provincia: _____			
2. Cantón: _____			
3. Distrito: _____			
Edad de la madre (años): _____	¿Madre padeció de alguna enfermedad durante el embarazo? 1. Si 2. No	¿Madre utilizó algún medicamento durante el embarazo? (medicamentos fuera de complementos vitamínicos o ácido fólico) 1. Si 2. No	¿Madre tuvo diagnóstico por laboratorio de Enfermedad por Virus del Zika durante el embarazo? 1. Si 2. No a. I T b. II T c. III T
¿Vivió o visitó la madre alguna zona de circulación de Virus del Zika durante el embarazo? 1. Si 2. No	¿Se realizó PCR en tiempo real por Zika en la madre en sangre u orina? 1. Si 2. No	¿Se realizó estudios por TORCHS en el paciente recién nacido? 1. Si 2. No	Resultado de los estudios por TORCHS en el paciente recién nacido 1. CMV: _____ 2. Toxoplasmosis: _____ 3. VDRL: _____ 4. Rubeola: _____ 5. Otros: _____
1. Si 2. No	a. I T b. II T c. III T	1. Si 2. No	1. Si 2. No

¿Se realizó serologías por Zika en el recién nacido en sangre? 1. Si 2. No	Resultado de la prueba de serologías por Zika en el recién nacido en sangre: 1. Positivo 2. Negativo	¿Se realizó PCR por Zika en el recién nacido en sangre, orina, LCR, líquido amniótico o tejido? 1. Si 2. No	Resultado de la prueba en el recién nacido: 1. Positivo 2. Negativo
Estudios de laboratorio y gabinete del Recién Nacido			
¿Se realizaron estudios de laboratorios iniciales o en citas de control? Hemograma 1. Si a. Normal 2. No b. Anormal _____	¿Se realizaron estudios de gabinete iniciales o en citas de control?		
P. Función Hepática 1. Si a. Normal 2. No b. Anormal _____	Tamizaje neonatal 1. Si a. Normal 2. No b. Anormal _____	EOA / Pot. Auditivos por Audiología 1. Si a. Normal 2. No b. Anormal _____	Neurología 1. Si a. Normal 2. No b. Anormal _____
Control metabólico 1. Si a. Normal 2. No b. Anormal _____	Ultrasonido cerebro 1. Si a. Normal 2. No b. Anormal _____	Oftalmología 1. Si a. Normal 2. No b. Anormal _____	Cardiología 1. Si a. Normal 2. No b. Anormal _____
Tamizaje auditivo neonatal 1. Si a. Normal 2. No b. Anormal _____			
Citas control _____			
Fecha de la cita (dd/mm/aaaa): _____			
Circunferencia cefálica (cm) _____	Peso (g) _____	Talla (cm) _____	¿Tiene microcefalia? 1. Si 2. No
Defectos asociados:			
Dificultad para alimentarse 1. Si 2. No	Irritabilidad anormal 1. Si 2. No	Crisis convulsivas 1. Si 2. No	Hipotonía central 1. Si 2. No
Hipotonía central 1. Si 2. No	Retraso en Desarrollo Motor 1. Si 2. No	Retraso de lenguaje 1. Si 2. No	Examen neurológico 1. Normal 2. Anormal
Estudios control realizados: _____			
Observaciones: _____			

TABLAS

Tabla 1. Características generales de los pacientes nacidos de madres con enfermedad confirmada por el Virus del Zika durante el embarazo valorados en la Clínica de Enfermedades Congénitas, HNN 2016-2018 (n=77)

Sexo n (%)	
Masculino	40 (52)
Femenino	37 (48)
Edad de ingreso a la CIC¹ meses, media (rango)	4 (0-17)
Provincia de procedencia tasa de incidencia por 100 000 habitantes	
San José	2.56
Alajuela	1.29
Cartago	0
Heredia	1.64
Guanacaste	23.67
Puntarenas	8.95
Limón	28.93
Clasificación al nacer según medidas antropométricas n (%)	
RNP PEG	1 (1.3)
RNP AEG	4 (5.2)
RNP GEG	1 (1.3)
RNT PEG	1 (1.3)
RNT AEG	64 (83.1)
RNT GEG	6 (7.8)
Microcefalia al nacer n (%)	
Sí	8 (10.3)
No	69 (89.6)
Microcefalia documentada en la primera cita en CIC n (%)	
Sí	3 (3.9)
No	74 (96.1)
Trimestre de infección durante el embarazo n (%)	
Primero	25 (32.5)
Segundo	42 (54.5)
Tercero	8 (10.3)
Sin datos	2 (2.6)
Uso de medicamentos durante el embarazo n (%)	
Sí	15 (19.5)
Antibióticos	8 (53.3)
Antihipertensivos	4 (26.7)
Levotiroxina	2 (13.3)
Otros	2 (13.3)
No	62 (80.5)
Enfermedades durante el embarazo n (%)	
Sí	11 (14.3)
Hipertensión arterial inducida por el embarazo	6 (54.4)
Diabetes mellitus gestacional	2 (18.2)
Hipotiroidismo	3 (27.3)
Amenaza parto prematuro	2 (18.2)
No	66 (85.7)
Sintomatología materna por infección aguda por virus del Zika n (%)	
Brote cutáneo	45 (58.4)
Fiebre	25 (32.4)

Cefalea	8 (10.4)
Conjuntivitis	5 (6.5)
Mialgias	5 (6.5)
Vómito	3 (3.9)
Artralgias	2 (2.6)
Prurito	1 (1.3)
Edema	1 (1.3)
Sin datos	31 (40.2)
Resultado de PCR² por Virus de Zika en el paciente n (%)	
Positivo	3 (3.9)
Negativo	64 (83.1)
No tomado	10 (13)
Resultado de serología IgM por Virus del Zika en el paciente n (%)	
Positivo	1 (1.3)
Negativo	64 (83.1)
No realizado	2 (2.6)
No tomado	10 (13)
Resultado positivo o reactivo en otras serologías por infecciones congénitas realizadas en el paciente n (%)	
Rubeola	0
CMV IgM	7 (9.1)
Toxoplasmosis IgM	0
VDRL	1 (1.3)
Conteo de plaquetas n (%)	
Normal	53 (68.9)
Anormal	2 (2.6)
Trombocitopenia	0
Trombocitosis	2 (100)
No realizado	22 (28.6)
Resultado de Enzima Aspartato Aminotransferasa (AST) y Alanino aminotrasnferasa (ALT) realizada en el paciente n (%)	
Normal	43 (55.8)
Anormal	3 (3.9)
No realizado	31 (40.2)

¹ CIC: Clínica de Infecciones Congénitas

² PCR: Reacción en Cadena de Polimerasa

Tabla 2. Hallazgos en estudios de gabinete y valoraciones de especialistas en los pacientes nacidos de madres con enfermedad confirmada por el Virus del Zika según trimestre de infección valorados en la Clínica de Enfermedades Congénitas, HNN 2016-2018

	Infección materna en I trimestre n= 25 (%)	Infección materna en II trimestre n= 42 (%)	Infección materna en III trimestre n= 8 (%)
Ultrasonido de cerebro			
Normal	20 (80)	38 (90.4)	6 (75)
Anormal	4 (16)	3 (7.4)	1 (12.5)
No realizado	1 (4)	1 (2.4)	1 (12.5)
Fondo de ojo			
Normal	24 (96)	41 (97.6)	7 (87.5)
Anormal	1 (4)	0	0
Sin datos	0	1 (2.4)	1 (12.5)
Tamizaje auditivo			
Normal	21 (84)	35 (83.3)	7 (87.5)
Anormal	3 (12)	2 (4.7)	0
Sin datos	1 (4)	5 (11.9)	1 (12.5)
Estudio auditivo con EOA¹ o PAE²			
Normal	9 (36)	17 (40.5)	4 (50)
Anormal	0	1 (2.4)	0
No realizado	16 (64)	24 (57.1)	4 (50)
Síndrome Congénito por Virus del Zika confirmado	3 (12)	0	0
Infección Congénita por Virus del Zika Confirmada	0	1 (2.4)	0

¹ EOA: Emisiones otoacústicas

² PAE: Potenciales Auditivos evocados

Tabla 3. Evolución clínica por cita de control de los pacientes nacidos de madres con enfermedad confirmada por el Virus del Zika según trimestre de infección valorados en la Clínica de Enfermedades Congénitas, HNN 2016-2018

	Infección materna en I trimestre	Infección materna en II trimestre	Infección materna en III trimestre
Valoración clínica en la primera cita control n=75 (%)			
Normal	21 (28)	38 (50.7)	8 (10.7)
Anormal	4 (5.3)	4 (5.3)	0
Valoración clínica en la segunda cita control n=42 (%)			
Normal	13 (31)	22 (52.4)	3 (7.1)
Anormal	3 (7.1)	1 (2.4)	0
Valoración clínica en la tercera cita control n=17 (%)			
Normal	3 (17.6)	6 (35.3)	0
Anormal	4 (23.5)	2 (11.8)	2 (11.8)
Valoración clínica en la cuarta cita control n=1 (%)			
Normal	0	0	0
Anormal	1 (100)	0	0

Tabla 4. Alteraciones clínicas encontradas en los pacientes según áreas de desarrollo valoradas en la Clínica de Enfermedades Congénitas, HNN 2016-2018

Paciente	Alteraciones encontradas
1	Microcefalia Crisis convulsivas Retraso en desarrollo psicomotor Artrogriposis de muñecas Fondo de ojo con corioretinitis extensa bilateral Trastorno de deglución Síndrome de Zika congénito confirmado por IgM positiva al nacer Infección materna en el I trimestre
2	Leve hipotonía a los 10 meses, que resuelve a los 14 meses Infección materna en el I trimestre
3	Microcefalia Trastorno de lenguaje documentado por test de Denver a los 14 meses Síndrome de Zika congénito confirmado por PCR positiva al nacer Infección materna en el I trimestre
4	Microcefalia Epilepsia con electroencefalograma: lento, con brotes de ondas lentas, pobre organización Retraso en desarrollo psicomotor global Ultrasonido de cerebro con calcificaciones en sustancia blanca frontal y paraventricular, con ultrasonido control a los 6 meses de edad normal Síndrome de Zika congénito confirmado por PCR positiva al nacer Infección materna en el I trimestre
5	Desarrollo normal hasta los 21 meses, donde se reporta trastorno de lenguaje y trastorno de comportamiento con hiperactividad. Infección materna en el I trimestre
6	Microcefalia al nacer que recupera en la primera cita a los 3 meses Infección por Zika congénito confirmado por PCR positiva al nacer Infección materna en el II trimestre
7	Encefalopatía Hemiparesia derecha Ultrasonido de cerebro con datos de hipoxia en hemisferio cerebral izquierdo, ventriculomegalia, hipertono Retraso en desarrollo psicomotor Infección materna en el II trimestre
8	Hipotonía Trisomía 21 Infección materna en el II trimestre
9	Falla para progresar Trastorno de deglución Infección materna en el II trimestre
10	Hipotonía central Retraso en desarrollo psicomotor Hipertono de extremidades Ultrasonido de cerebro con atrofia corticosubcortical con calcificaciones subdurales Infección materna en el II trimestre
11	Desarrollo normal hasta los 17 meses de edad, donde se reporta con desarrollo cognitivo lento Infección materna en el II trimestre
12	Desarrollo normal hasta los 19 meses de edad, donde se reporta trastorno del

	comportamiento con hiperactividad. Infección materna en el II trimestre
13	Desarrollo normal hasta los 20 meses de edad, donde se reporta trastorno del comportamiento con hiperactividad. Infección materna en el III trimestre
14	Desarrollo normal hasta los 24 meses, donde se reporta trastorno de lenguaje Infección materna en el III trimestre

BIBLIOGRAFIA

1. Marrs C, Olson G, Saade G, et. al. Zika Virus and Pregnancy: A Review of the Literature and Clinical Considerations. *Am J Perinatol*, 2016; 33(7): 625–639. DOI: 10.1055/s-0036-1580089.
2. Dick GW, Kitchen SF, Haddow AJ. Zika Virus: Isolations and Serological Specificity. *Trop Med and Hyg*; 1952, 46(5): 509-520. DOI: 10.1016/0035-9203(52)90042-4.
3. Dick GW. Zika Virus (II): Pathogenicity and Physical Properties. *Trop Med and Hyg*; 1952; 46(5): 521-534. DOI: 10.1016/0035-9203(52)90043-6.
4. Marchette NJ, García R, Rudnick A. Isolation of Zika Virus from *Aedes aegypti* Mosquitoes in Malaysia. *Am Jour of Trop Med and Hyg*, 1969; 18(3): 411-415. DOI: 10.4269/ajtmh.1969.18.411.
5. Lanciotti RS, Kosoy OL, Laven JJ, et. al. Genetic and Serologic Properties of Zika Virus Associated with an Epidemic, Yap State, Micronesia, 2007. *Emerg Inf Dis*, 2008; 14(8):1232-9. DOI: 10.3201/eid1408.080287.
6. Iosifidis S, Mallet HP, Leparac I, et. al. General review: Current Zika virus epidemiology and recent epidemics. *Médecine et maladies infectieuses*, 2014; 44: 302–307. DOI: 10.1016/j.medmal.2014.04.008.
7. Besnard M, Lastère S, Teissier A, et. al. Evidence of perinatal transmission of Zika virus, French Polynesia, December 2013 and February 2014. *Euro Surveill*. 2014; 19(13): 207-51. DOI: 10.2807/1560-7917.
8. Oehler E, Watrin L, Larry P, et. al. Zika virus infection complicated by Guillain-Barré syndrome – case report, French Polynesia, December 2013. *Euro Surveill*. 2014; 19(9): 15-17. DOI: 10.2807/1560-7917.
9. Mlakar J, Korva M, Tul N, et. al. Zika Virus Associated with Microcephaly. *N Engl J Med*, 2016; 374(10): 951-958. DOI: 10.1056/NEJMoa1600651
10. Foy BD, Kobylinski KC, Foy JLC, et. al. Probable non–vector-borne transmission of Zika virus, Colorado, USA. *Emerg Infect Dis*. 2011; 17(5): 880-2. DOI: 10.3201/eid1705.101939.

11. Hills SL, Russell K, Hennessey M, et. al. Transmission of Zika Virus Through Sexual Contact with Travelers to Areas of Ongoing Transmission — Continental United States, 2016. *MMWR*, 2016; 65(8):215-216.
12. Musso D, Roche C, Robin E, et. al. Potential Sexual Transmission of Zika Virus *Emerg Infect Dis* 2015; 21(2):359-361. DOI: 10.3201/eid2102.141363
13. Delaney A, Mai C, Smoots A, et. al. Population-Based Surveillance of Birth Defects Potentially Related to Zika Virus Infection - 15 States and U.S. Territories, 2016. *MMWR*, 2018; 67(3):91-96.
14. Oliveira AS, Santana R, Ramos MM, et. al. Congenital Zika Virus Infection Beyond Neonatal Microcephaly. *JAMA Neurol.* 2016;73(12):1407–1416. DOI: 10.1001/jamaneurol.2016.3720.
15. Costa F, Sarno M, Khouri R, et. al. Emergence of Congenital Zika Syndrome: Viewpoint From the Front Lines. *Ann Intern Med*, 2016; 164(10):689–691. DOI:10.7326/M16-0332.
16. Krauer F, Riesen M, Reveiz L. Zika Virus Infection as a Cause of Congenital Brain Abnormalities and Guillain–Barre´ Syndrome: Systematic Review. *PLoS Med*,2017; 14(1):1-27. DOI: 10.1371/journal.pmed.1002203.
17. Schuler-Faccini L, Riveiro M, Feitosa I, et. al. Possible Association Between Zika Virus Infection and Microcephaly — Brazil, 2015. *MMWR*, 2016;65(3):59-62.
18. Yakob L, Walker T. Zika virus outbreak in the Americas: the need for novel mosquito control methods. *Lancet Infect Dis*, 2016;4:e148-149. DOI:10.1016/S2214-109X(16)00048-6.
19. Rubin EJ, Greene MF, Baden LR, et. al. Zika Virus and Microcephaly. *N Engl J Med*,2016;374(10):984-985. DOI: 10.1056/NEJMe1601862.
20. Driggers RW, Korhonen EM, Kuivanen S, et. al. Zika Virus Infection with Prolonged Maternal Viremia and Fetal Brain Abnormalities. *N Engl J Med* 2016;374(22):2142-51. DOI: 10.1056/NEJMoa1601824.
21. Ladhani SN, O’Connor C, Kirkbride H, et. al. Outbreak of Zika virus disease in the Americas and the association with microcephaly, congenital malformations and Guillain–Barré syndrome. *Arch Dis Child*, 2016; 101(7):600-602. DOI: 10.1136/archdischild-2016-310590.

22. Petersen LR, Jamieson DJ, Powers AM, et. al. Zika Virus. *N Engl J Med* 2016; 374(16): 1552-63. DOI: 10.1056/NEJMra1602113.
23. Barreto TV, Arraes R, Miranda-Rilho B, et. al. Association between microcephaly, Zika virus infection, and other risk factors in Brazil: final report of a case-control study. *Lancet Infect Dis* 2017; 3099(17):1-9. DOI: 10.1016/ S1473-3099(17)30727-2.
24. Johansson MA, Teran-Romero RM, Reefhuis J, et. al. Zika and the Risk of Microcephaly. *N Engl J Med*, 2016; 375(1): 1-4. DOI: 10.1056/NEJMp1605367.
25. Ventura CV, Maia M, Ventura BV, et. al. Ophthalmological findings in infants with microcephaly and presumable intra-uterus Zika virus infection. *Arq Bras Oftalmol.* 2016; 79(1): 1-3.
26. Petersen EE, Staples JE, Meaney-Delman D, et. al. Interim Guidelines for Pregnant Women During a Zika Virus Outbreak — United States, 2016. *MMWR*, 2016; 65(2): 30-33.
27. Staples JE, Dziuban EJ, Fischer M, et. al. Interim Guidelines for the Evaluation and Testing of Infants with Possible Congenital Zika Virus Infection – United States, 2016. *MMWR*, 2016; 65(3): 63-67.
28. Karwowski MP, Nelson JM, Staples JE, et. al. Zika Virus Disease: A CDC Update for Pediatric Health Care Providers. *Pediatrics.* 2016; 137(5): 2-14. DOI: 10.1542/peds.2016-0621.
29. Adebajo T, Godfred-Cato S, Viens L, et. al. Update: Interim Guidance for the Diagnosis, Evaluation, and Management of Infants with Possible Congenital Zika Virus Infection - United States, October 2017. *MMWR*, 2017; 66(41): 1089-99.
30. Zorrilla CD, García I, García L, et. al. Zika Virus Infection in Pregnancy: Maternal, Fetal, and Neonatal Considerations *JID* 2017; 216(10): S891-96. DOI:10.1093/infdis/jix448.
31. Martinez R, Bhatnagar J, Oliveira AM. Pathology of congenital Zika syndrome in Brazil: a case series. *Lancet Infect Dis* 2017; 6736(16): 30883-2. DOI: 10.1016/ S0140-6736(16)30902-3.

32. Van der Linden V, Leite E, Gomes O, et. al. Congenital Zika syndrome with arthrogyriposis: retrospective case series study. *BMJ*, 2016; 354: i3899. DOI: 10.1136/bmj.i3899.
33. Strafela P, Vizjak A, Mraz J, et. al. Zika Virus–Associated Micrencephaly: A Thorough Description of Neuropathologic Findings in the Fetal Central Nervous System. *Arch Pathol Lab Med*. 2017;141:73–81. DOI: 10.5858/arpa.2016-0341-SA
34. Oduyebo T, Petersen EE, Rasmussen SA, et. al. Update: Interim Guidelines for Health Care Providers Caring for Pregnant Women and Women of Reproductive Age with Possible Zika Virus Exposure - United States, 2016. *MMWR*, 2016; 65(5): 122-127.
35. Fleming-Dutra KE, Nelson JM, Fischer M, et. al. Update: Interim Guidelines for Health Care Providers Caring for Infants and Children with Possible Zika Virus Infection - United States, February 2016. *MMWR*, 2016;65(7):182-187.
36. Reynolds MR, Jones AM, Petersen EE, et. al. Vital Signs: Update on Zika Virus–Associated Birth Defects and Evaluation of All U.S. Infants with Congenital Zika Virus Exposure-U.S. Zika Pregnancy Registry, 2016. *MMWR*, 2017; 66(13): 363-373.
37. Moore, CA, Staples JE, Dobyns WE, et. al. Characterizing the Pattern of Anomalies in Congenital Zika Syndrome for Pediatric Clinicians. *JAMA Pediatr*. 2017; 171(3): 288-295. DOI: 10.1001/jamapediatrics.2016.3982.
38. Van der Linden V, Pessoa A, Dobyns W, et. al. Description of 13 Infants Born During October 2015–January 2016 With Congenital Zika Virus Infection Without Microcephaly at Birth – Brazil, *MMWR*, 2016; 65(47): 1343-1348.
39. Nonein MA, Jamieson DJ. Monitoring and Preventing Congenital Zika Syndrome. *N Engl J Med*, 2016; 375(24):2393-94. DOI: 10.1056/NEJMe1613368
40. Chen J, Liang Y, Yi P, et. al. Outcomes of congenital Zika disease depend on timing of infection and maternal-fetal interferon action. *Cell Rep*. 2017; 21(6): 1588–1599. DOI: 10.1016/j.celrep.2017.10.059.
41. Durbin AP, Whitehead SS. Zika Vaccines: Role for Controlled Human Infection. *J Inf Dis*, 2017; 216(10): S971-75. DOI: 10.1093/infdis/jix491.

42. Ministerio de Salud/INCIENSA/CCSS. Protocolo de vigilancia de microcefalia y síndrome congénito asociado a virus del zika. Versión 2, 2016.
43. Ministerio de Salud, Costa Rica. Boletín epidemiológico No. 23-2018. Enfermedades Transmitidas por Vectores. Publicado 23 de Noviembre de 2018.
44. Martin J, Hamilton B, Ventura S. et. al. Birth: Final Data for 2009. Centers for Disease Control and Prevention (CDC), 2011; 60(1): 1-72.
45. Prata-Barbosa A, Martins MM, Guastavino AB, Cunha AJ. Effects of Zika infection on growth. *J Pediatr (Rio J)* 2018. DOI: 10.1016/j.jpmed.2018.10.016
46. Centers for Disease Control and Prevention (2018) US Zika Pregnancy and Infant Registry. Estados Unidos de Norteamérica: Centers for Disease Control and Prevention. Recuperado de:
<https://www.cdc.gov/pregnancy/zika/research/registry.html>
47. Rice ME, Galang RR, Roth NM, et. al. *Vital Signs: Zika-Associated Birth Defects and Neurodevelopmental Abnormalities Possibly Associated with Congenital Zika Virus Infection — U.S. Territories and Freely Associated States*, 2018 *Weekly*, 2018; 67(31); 858-867. DOI: 10.15585/mmwr.mm6731e1.
48. Chibueze EC, Tirado V, Lopea KD, et. al. Zika virus infection in pregnancy: a systematic review of disease course and complications. *Reprod Health*. Feb 2017; 14(1): 28. DOI: 10.1186/s12978-017-0285-6.
49. Campos MC, Dombrowski JG, Phelan J, et. al. Zika might not be acting alone: Using an ecological study approach to investigate potential co-acting risk factors for an unusual pattern of microcephaly in Brazil. *PLoS ONE*, 2017; 13(8): e0201452. DOI: 10.1371/journal.pone.0201452.