

Ana Lúcia Vieira de Freitas Borja

PROCESSOS INTERATIVOS
DOS ÓRGÃOS E SISTEMAS
PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO • ICS • UFBA



**Potencial evocado auditivo cortical em
crianças com exposição presumida ao
zika vírus na gestação**

**Salvador
2020**

ANA LÚCIA VIEIRA DE FREITAS BORJA

**POTENCIAL EVOCADO AUDITIVO CORTICAL EM
CRIANÇAS COM EXPOSIÇÃO PRESUMIDA AO ZIKA
VÍRUS NA GESTAÇÃO**

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação em Processos Interativos dos Órgãos e Sistemas, do Instituto de Ciências da Saúde, da Universidade Federal da Bahia, como requisito para obtenção do grau de Doutor em Processos Interativos dos Órgãos e Sistemas.

Orientador: Prof. Dr. Roberto Paulo Correia de Araújo

Coorientador: Prof. Dr. Jamary Oliveira Filho

Salvador
2020

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Borja, Ana Lúcia Vieira de Freitas.

Potencial evocado auditivo cortical em crianças com exposição presumida ao zika vírus na gestação / Ana Lúcia Vieira de Freitas Borja. - 2020.
88 f.: il.

Orientador: Prof. Dr. Roberto Paulo Correia de Araújo.

Coorientador: Prof. Dr. Jamarly Oliveira Filho.

Tese (Doutorado) - Universidade Federal da Bahia. Instituto de Ciências da Saúde. Programa de Pós-Graduação em Processos Interativos dos Órgãos e Sistemas, Salvador, 2020.

1. Infecção pelo Zika vírus. 2. Potencial evocado P300. 3. Potenciais auditivos evocados. 4. Transtornos do neurodesenvolvimento. 5. Córtex auditivo. 6. Distúrbios da audição em crianças. 7. Distúrbios da linguagem em crianças. I. Araújo, Roberto Paulo Correia de. II. Oliveira Filho, Jamarly. III. Universidade Federal da Bahia. Instituto de Ciências da Saúde. Programa de Pós-Graduação em Processos Interativos dos Órgãos e Sistemas. IV. Título.

CDU 614.4

Elaborada por Maria Auxiliadora da Silva Lopes - CRB-5/1524

ANA LÚCIA VIEIRA DE FREITAS BORJA

Potencial evocado auditivo cortical em crianças com exposição presumida ao zika vírus na gestação

Tese apresentada como requisito para obtenção do grau de Doutora em Processos Interativos dos Órgãos e Sistemas, Instituto de Ciências da Saúde, Universidade Federal da Bahia.

Salvador, 21 de dezembro de 2020.

COMISSÃO EXAMINADORA

Roberto Paulo Correia de Araújo – Orientador _____

Doutor em Odontologia, pela Universidade Federal da Bahia
Universidade Federal da Bahia

Deolinda Maria Felin Scalabrin _____

Doutora em Medicina, pela Universidade Federal do Rio Grande do Sul
Fundação Oswaldo Cruz

Conceição Silva Oliveira _____

Doutora em Processos Interativos dos Órgãos e Sistemas, pela Universidade Federal da Bahia
Universidade do Estado da Bahia

Janayna Trench _____

Doutora em Processos Interativos dos Órgãos e Sistemas, pela Universidade Federal da Bahia
Universidade Federal de Sergipe

Maria da Glória Canto de Sousa _____

Doutora em Processos Interativos dos Órgãos e Sistemas, pela Universidade Federal da Bahia
Universidade do Estado da Bahia

Dedico à minha família, ao meu amor Antônio, às minhas filhas Cecília e Juliana e ao meu neto Gabriel. Juntos, eles são a razão da minha felicidade e a certeza do motivo pelo qual estou aqui.

AGRADECIMENTOS

Todo sucesso é fruto de um grande trabalho de equipe. É preciso agradecer.

Ao meu marido, amor de uma vida toda, pela cumplicidade, compreensão e apoio nessa longa jornada, entremeada por desafios e dores que só o amor é capaz de curar.

Às minhas filhas Cecília e Juliana e ao meu neto amado, Gabriel, pelo apoio, por vibrarem comigo e torcerem pela minha vitória. O amor de vocês é como um alimento que nos torna fortes e aptos a qualquer desafio.

Ao meu orientador, Prof. Roberto Paulo Correia de Araújo, a minha vida acadêmica nunca mais foi a mesma desde que os nossos caminhos se cruzaram. Sou grata por ter me mentorado, conduzido e me ensinado tantas coisas. A sua dedicação e o compromisso com a Universidade são uma inspiração e um exemplo constante para mim.

Ao Prof. Jamary Oliveira Filho, meu coorientador, a minha eterna gratidão pelo auxílio na gestão do projeto desta tese e por compartilhar seus conhecimentos com tanta leveza e generosidade.

À Profa. Deolinda Maria Felin Scalabrin, por me presentear com o estudo ZIP. Não tenho palavras para agradecer toda sua generosidade, parceria e contribuição ao longo dos últimos quatro anos. Muitas portas se abriram a partir do seu convite para participar desse estudo. Gratidão eterna pela sua amizade, pelo convite, pela confiança, incentivo e contribuição a este trabalho.

À Dra. Cynthia Rodamilans, pela imensa colaboração e parceria, facilitando a minha coleta de dados durante o atendimento aos participantes do estudo ZIP. Sem a sua preciosa ajuda teria sido muito árdua a caminhada.

Ao Prof. Mitermayer Galvão dos Reis, uma das pessoas mais generosas e receptivas que conheci nos últimos anos. Obrigada por me acolher na Fiocruz com tanta generosidade. Foram muitos os ensinamentos compartilhados nas nossas reuniões semanais.

Ao grupo de reuniões científicas da Fiocruz, obrigada por tanto conhecimento compartilhado. Vocês foram muito importantes nesse processo. Um agradecimento especial ao Prof. Federico Costa presença gentil, generosa e participativa.

À Enfa. Francine Galiano, pela dedicação para que o máximo de agendamentos fossem feitos na prazo da janela do estudo. Você fez toda diferença!

À Mansão do Caminho, por me acolher, por não medir esforços para que eu tivesse todas as necessidades de espaço, material, elétrica, de informática resolvidas em tempo recorde. Cada necessidade tem um nome, um rosto, um sorriso, impossível citar todos os nomes, mas estão todos gravados no meu coração.

À D. Nilza pela imensa dedicação no atendimento e organização das minhas agendas. Por cuidar de mim com tanto amor, da minha sala sempre super organizada, por cuidar da minha saúde, dos cafezinhos e lanchinhos nos longos turnos de atendimento. Gratidão por todos os sorrisos, abraços e bom dias cheios de amor!

A Raquel Bittencourt, amiga recente, mas que entrou na minha vida para sempre. Gratidão por estar sempre disponível, por assumir minhas tarefas para que tivesse foco total na etapa final e por me lembrar todos os dias que eu tinha uma tese para entregar até dezembro!

Aos participantes do estudo ZIP, mães e crianças, por doar seu tempo e permitir que esse estudo fosse possível.

No que diz respeito ao empenho, ao compromisso, ao esforço, à dedicação, não existe meio termo. Ou você faz a coisa bem feita ou não faz.

Ayrton Senna

BORJA, Ana Lúcia Vieira de Freitas. **Potencial evocado auditivo cortical em crianças com exposição presumida ao zika vírus na gestação.** Orientador: Roberto Paulo Correia de Araújo. 88 f. il 2020. Tese (Doutorado em Processos Interativos dos Órgãos e Sistemas) – Instituto de Ciências da Saúde, Universidade Federal da Bahia, Salvador, 2020.

RESUMO

Introdução: Estudos recentes com crianças normocefálicas, expostas ao zika vírus no período gestacional, têm revelado comprometimentos do neurodesenvolvimento, especialmente nos domínios cognitivo e de linguagem. O desenvolvimento da fala e da linguagem depende da integridade do sistema auditivo periférico e central. Alterações auditivas não identificadas na infância, congênitas ou adquiridas, podem trazer grande impacto à comunicação, à cognição, bem como interferir no neurodesenvolvimento da criança. **Objetivo:** Investigar a associação entre a latência e a amplitude dos potenciais evocados auditivos corticais e o neurodesenvolvimento, dados gestacionais, clínicos e sociodemográficos em crianças com exposição presumida ao Zika vírus. **Metodologia:** Estudo transversal e prospectivo, de caráter exploratório, analítico, baseado em uma amostra aleatória simples, representativa de uma coorte observacional do *Estudo internacional de coorte prospectivo observacional do zika em crianças e gestantes* (Estudo ZIP), aprovado pelo Comitê de Ética e Pesquisa CAEE n. 56673616.3.1001.5269. A população do estudo foi composta por 237 crianças ouvintes, com e sem exposição presumida ao zika vírus. A média de idade foi 15+/-2,1 meses. Avaliações auditivas prévias, com emissões otoacústicas e potencial auditivo evocado de curta latência, confirmaram os critérios de inclusão. Para avaliação do potencial auditivo cortical, aplicaram-se 150 estímulos acústicos *tone burst*, monoauralmente a uma taxa de 1,2 estímulos/segundo, que diferiram quanto à frequência (estímulo padrão: 1000 Hertz e raro de 2000 Hertz). Para avaliação do neurodesenvolvimento, aplicou-se a escala *Bayley Infant Neurodevelopmental Screener*. **Resultados:** Os componentes do potencial cortical estiveram presentes em todas as crianças, com diferença significativa entre as médias das latências para crianças com exposição presumida ao zika vírus, com nível de significância estatística para P1 e N1. As médias das latências dos componentes P1-N1-P2-N2 foram maiores em crianças com risco para atraso do neurodesenvolvimento, em todos os domínios avaliados. Os domínios cognitivos e de linguagem expressiva tiveram significância estatística para as latências médias de todos os componentes do potencial cortical. Observou-se também associação entre a classificação de risco e sexo para os domínios cognitivo ($p=0,025$) e de linguagem ($p=0,050$), com vantagem de desempenho para as meninas. As médias dos escores brutos foram maiores para o sexo feminino em todos os domínios do Bayley, com significância estatística para linguagem receptiva ($p=0,008$) e expressiva ($p=0,041$). **Conclusão:** Crianças com exposição presumida ao zika vírus apresentaram latências médias maiores para as respostas corticais de P1-N1, sugerindo um pior processamento do sinal acústico em relação a crianças não expostas. A exposição presumida ao vírus zika na gestação pode estar associada a maiores latências do complexo P1-N1, menores escores em domínios do neurodesenvolvimento, sugerindo comprometimento das vias auditivas corticais e do neurodesenvolvimento, principalmente da linguagem expressiva.

Palavras-chave: Infecção congênita por Zika. Componente P300 de potencial evocado. Transtornos do neurodesenvolvimento. Córtex auditivo.

BORJA, Ana Lúcia Vieira de Freitas. **Auditory cortical evoked potential of children with presumed exposure to the Zika virus during pregnancy.** Thesis advisor: Roberto Paulo Correia de Araújo. 93 s.ill. 2020. Thesis (PhD) – Institute of Health Sciences, Federal University of Bahia, Salvador, 2020.

ABSTRACT

Introduction: Recent studies have suggested the presence of neurodevelopmental impairments, especially for cognitive and language domains, in normocephalic children exposed to ZIKV during gestational period. The development of speech and language depends on the integrity of both peripheral and central auditory system. Undetected hearing disorders in childhood, either congenital or acquired, can significantly affect communication and cognition and also interfere with the child's neurodevelopment. **Objective:** To investigate the association between the latency and amplitude of cortical auditory evoked potentials and neurodevelopment, gestational, clinical and socio-demographic data in children with presumed exposure to Zika virus. **Methodology:** Cross-sectional prospective exploratory study based on a representative simple random sample of the observational cohort study *International observational prospective cohort study of zika in children and pregnant women* (ZIP study), approved by the Research Ethics Committee CAEE No 56673616.3.1001.5269. The study population consisted of 237 hearing children supposedly exposed to ZIKV and not. The average age was 15 +/- 2,1 months. Previous hearing tests that presented otoacoustic emissions and short latency auditory evoked potential confirmed inclusion criteria. To assess the cortical auditory potential, 150 tone burst stimuli presented monoaural, rate of 1.2 stimuli per second, which differed in frequency (standard stimulus: 1000 Hz; rare stimulus: 2000 Hz). To assess neurodevelopment, the Bayley Scales of Infant Development was applied. **Results:** The cortical potential were in all children and presented substantial difference of average latencies and level of statistical significance for P1 and N1 in children supposedly exposed to zika virus. Latency averages for components P1-N1-P2-N2 were higher in children at risk for neurodevelopment delay, in all areas assessed. The cognitive and expressive language domains were statistically significant for the mean latencies of all cortical potential structures. There was also an association between risk classification and sex for cognitive ($p = 0.025$) and language ($p = 0.050$) domains and a performance advantage for girls. The mean of the raw scores were also higher for females in all Bayley domains, with statistical significance for both receptive ($p = 0.008$) and expressive ($p = 0.041$) language. **Conclusion:** Children supposedly exposed to zika virus presented average latencies higher for P1-N1 cortical responses, which suggests a worse processing of the acoustic signal in relation to unexposed children. Supposed exposure to zika virus during pregnancy may be associated with higher latencies of P1-N1 complex and lower scores for neurodevelopmental domains, which suggests both cortical auditory and neurodevelopment impairments, especially for expressive language.

Keywords: Congenital zika virus infection. Evoked potential P300. Neurodevelopmental disorders. Auditory cortex

LISTAS DE FIGURAS

Figura 1	Morfologia das ondas do PEALL com identificação do complexo P1-N1-P2-N2 e a latência do P300	30
Figura 2	Fluxograma dos exames audiológicos	36
Figura 3	Kit Auditivo Simonek	37
Figura 4	Equipamento de emissões otoacústicas	38
Figura 5	Esquema de posicionamento dos eletrodos no sistema 10-20	39
Figura 6	Ilustração do equipamento de aquisição dos exames eletrofisiológicos	39
Figura 7	Desenho esquemático do paradigma <i>Oddball</i> Auditivo	40
Figura 8	Ilustração do kit <i>Bayley Scales of Infant Development- BSID III</i>	41

ARTIGO 1

Figura 1	Latências dos PEAC de acordo com a exposição presumida ao zika vírus.	49
Figura 2	Amplitude dos PEAC de acordo com a exposição presumida ao zika vírus.	50

LISTAS DE TABELAS

ARTIGO 1

Tabela 1	Características sociodemográficas e maternas estratificadas pelo resultado de soroconversão (IgM+ para ZIKV) aferido por teste imunoenzimático de captura de imunoglobulina da classe M (MAC-ELISA)	47
Tabela 2	Características gestacionais, antropométricas e clínicas das crianças, estratificadas pelo resultado de soroconversão por detecção de anticorpo anti-ZIKV (IgM+ para ZIKV)	48
Tabela 3	Latências e amplitudes do PEAC de acordo com a soroconversão durante a gestação (IgM+ para ZIKV)	49
Tabela 4	Latências e amplitudes do potencial cortical de acordo com as respostas comportamentais de avaliação da localização sonora	50

ARTIGO 2

Tabela 1	Características da genitora e sociodemográficas	61
Tabela 2	Características gestacionais e clínicas das crianças	62
Tabela 3	Latências e amplitudes do potencial cortical em função da condição de risco para atraso do neurodesenvolvimento	63
Tabela 4	Modelo de Regressão Linear das latências dos componentes do PEAC (P1-N1-P2-N2) em função das variáveis sociodemográficas e da classificação do risco para o neurodesenvolvimento.	64

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E NOTAÇÕES

ANOVA	Análise de Variância
BINS	<i>Bayley Infant Neurodevelopmental Screener</i>
CDC	Centro de Controle e Prevenção de Doenças
CMV	Citomegalovírus
dB	Decibel
dB NA	Decibel Nível de Audição
EOAt	Emissões Otoacústicas por Transientes
FIOCRUZ	Fundação Oswaldo Cruz
HALICI	<i>Hearing and Language in Infants with Congenital Infections</i>
HIV	Vírus da Imunodeficiência Humana
Hz	Hertz
IgM	Imunoglobulina M
IRDA	Indicadores de Risco para Perda Auditiva
JCIH	Joint Committee on Infant Hearing
MAC-ELISA	Teste Imunoenzimático de Captura de Imunoglobulina da Classe M
ms	Milissegundos
μ V	Microvolt
NICHD	<i>National Institute of Child Health and Human Development</i>
NIAID	<i>National Institute of Allergy and Infectious Diseases</i>
NIEHS	<i>National Institute of Environmental Health Sciences</i>
OMS	Organização Mundial da Saúde
PEAC	Potencial Evocado Auditivo Cortical

PEALL	Potencial Evocado Auditivo de Longa Latência
PEATE	Potencial Evocado Auditivo de Tronco Encefálico
RNA	Ácido ribonucleico
RT-PCR	Reação da transcriptase reversa seguida de reação em cadeia da polimerase
SCZV	Síndrome Congênita do Zika Vírus
SNC	Sistema Nervoso Central
TAN	Triagem Auditiva Neonatal
STORCH	Sífilis, Toxoplasmose, Rubéola, Citomegalovírus e Herpes Simplex
ZIKV	Zika vírus

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	17
2	JUSTIFICATIVA	20
3	OBJETIVOS	21
3.1	GERAL	21
3.2	ESPECÍFICOS	21
4	REVISÃO DA LITERATURA	22
4.1	INFECÇÕES CONGÊNITAS E PERINATAIS	22
4.2	ALTERAÇÕES AUDITIVAS NAS INFECÇÕES CONGÊNITAS E PERINATAIS	23
4.3	LINGUAGEM E AUDIÇÃO	26
4.4	TESTES ELETROFISIOLÓGICOS E NEUROMATURACÃO DA VIA AUDITIVA	28
4.5	ESCALA BAYLEY DE NEURODESENVOLVIMENTO	31
6	MATERIAL E MÉTODOS	33
5.1	ESTUDO INTERNACIONAL DE COORTE PROSPECTIVO OBSERVACIONAL DO ZIKA EM CRIANÇAS E GESTANTES - (ESTUDO ZIP)	33
5.2	ASPECTOS ÉTICOS	34
5.3	TIPO DE ESTUDO	34
5.4	CONTEXTO E PARTICIPANTES	34
5.4.1	CrITÉrios de Inclusão	34
5.4.2	CrITÉrios de não Inclusão	35
5.5	ESTRATÉGIAS E INSTRUMENTOS DE COLETA	35
5.6	AVALIAÇÃO DA AUDIÇÃO	35

5.7	AVALIAÇÃO AUDITIVA, EQUIPAMENTOS E CONDIÇÕES DE TESTE	37
5.8	AVALIAÇÃO DO NEURODESENVOLVIMENTO	41
5.9	ORGANIZAÇÃO E ANÁLISE DOS DADOS	41
6	RESULTADOS	43
6.1	ARTIGO I	43
6.2	ARTIGO II	58
7	DISCUSSÃO	72
8	CONSIDERAÇÕES FINAIS	74
	REFERÊNCIAS	75
	ANEXO A - Carta de Aprovação do Estudo pelo Consórcio ZIP	84
	ANEXO B - Parecer Consubstanciado do Comitê de Ética em Pesquisa	85

1 INTRODUÇÃO

O ano de 2015 foi marcado por uma emergência nacional na área de saúde decorrente do crescimento acelerado das ocorrências de arboviroses transmitidas pelo vetor *Aedes aegypti*, como a dengue, chikungunya e zika. Apesar da alta mortalidade relacionada à dengue e das sequelas associadas às infecções por chikungunya, o que mais chamou a atenção da comunidade científica e das autoridades sanitárias foi o aumento alarmante dos casos de microcefalia em recém-nascidos, cujas mães haviam sido infectadas pelo zika vírus (ZIKV) durante a gravidez.⁽¹⁻⁴⁾

O ZIKV é neurotrópico e demonstra ter preferência pelas células neurais progenitoras, bem como células neuronais em diferentes estados de maturidade.⁽⁵⁻⁷⁾ Quando adquirido verticalmente durante a gestação pode implicar em distúrbios imediatos e/ou tardios em vários sistemas do bebê, resultando em comprometimento de vários domínios do desenvolvimento infantil, incluindo a audição e a linguagem.^(6, 8)

Um espectro extenso de anormalidades relacionadas à infecção gestacional pelo ZIKV já foram descritas, como a microcefalia e outras anomalias já presentes ao nascimento.^(9, 10) Todavia, após o período crítico do surto, houve uma redução crescente de formas mais graves da síndrome congênita, apesar da permanência da circulação do vírus e das taxas de transmissão ainda permanecerem altas.⁽¹¹⁾

A falta do conhecimento do espectro clínico, em médio e em longo prazo, induziu os profissionais de saúde a acreditar que a ausência de microcefalia ou evidências de injúria cerebral não implicaria desfechos desfavoráveis para a criança, apesar da exposição intraútero. Contudo, estudos recentes com crianças normocefálicas e expostas ao ZIKV no período gestacional, têm revelado comprometimentos do neurodesenvolvimento, especialmente nos domínios cognitivo e de linguagem, à medida que as crianças vão atingindo a fase linguística.⁽¹²⁻¹⁷⁾

A alta afinidade do ZIKV por tecidos nervosos pode resultar também em comprometimento da função auditiva periférica ou central.⁽¹⁸⁻²⁰⁾ Reciprocamente, a aquisição e o desenvolvimento da fala e da linguagem, bem como das habilidades auditivas e da comunicação, dependem da integridade do sistema auditivo desde a gestação, pois as sensações auditivas são experienciadas pelo feto já no período intrauterino. Em torno da 26ª

semana gestacional, o bebê já é capaz de ouvir e identificar sons familiares, reconhecer padrões de frequência e intensidade.⁽²¹⁻²³⁾

Alguns autores acreditam que alterações tardias podem ser influenciadas por respostas inflamatório-imunológicas mais sutis mediadas pelo ZIKV.⁽²⁴⁾ Nesse sentido, a vigilância e o monitoramento do desenvolvimento de crianças expostas ao ZIKV intraútero poderiam propiciar intervenção precoce e prevenir agravos. Desta forma, o reconhecimento e a descrição da variedade de fenótipos clínicos por exposição pré-natal ao zika podem ajudar a garantir uma intervenção precoce, uma avaliação interdisciplinar apropriada e um tratamento terapêutico abrangente.⁽²⁴⁾

Disfunções auditivas periféricas ou centrais não identificadas na infância, congênitas ou adquiridas, podem gerar um grande impacto sobre a comunicação, a cognição, o desempenho escolar, o desenvolvimento emocional e o bem-estar psicossocial.⁽²⁵⁻²⁷⁾ Pesquisadores da área acreditam que tais dificuldades podem resultar em menores níveis de escolaridade e de oportunidades de emprego na idade adulta.^(28, 29)

O diagnóstico audiológico precoce, preferencialmente na fase neonatal, é crucial para o sucesso da reabilitação auditiva quando a criança está em pleno amadurecimento do seu aparato neurobiológico, permitindo ações de prevenção, minimizando prejuízos psicossociais e reduzindo os custos do tratamento.^(23, 25, 27)

Entretanto, algumas alterações auditivas não se relacionam exclusivamente com a capacidade de ouvir, mas também de decodificar e processar a informação acústica com precisão, visto que o som percorre um longo caminho até chegar ao córtex auditivo.⁽³⁰⁻³²⁾ A integridade estrutural da via auditiva permite uma análise mais acurada da composição espectral da mensagem auditiva, preservando as características dinâmicas do som, tais como modulação, intensidade, frequência e amplitude do sinal.⁽³³⁾

O desenvolvimento auditivo de crianças típicas segue uma agenda previsível de comportamentos, que se iniciam ao nascimento e evoluem até os dois anos de idade aproximadamente, compondo uma hierarquia de habilidades.^(21, 23, 34) Quando a alteração auditiva não está circunscrita ao órgão sensorial periférico, pode haver alterações em nível cortical, envolvendo estruturas que compartilham funções primordiais relacionadas às habilidades de atenção, memória e discriminação auditiva.⁽³⁵⁾

Na perspectiva de melhor entender o funcionamento da via auditiva central e o seu impacto sobre o desenvolvimento da criança, muitos estudos seguem investigando a aplicabilidade dos potenciais auditivos de longa latência, especialmente dos potenciais corticais ou exógenos, em populações infantis.⁽³⁵⁻⁴⁰⁾ As respostas produzidas por esses potenciais refletem informações da sensibilidade funcional do sistema auditivo. Ou seja, as respostas características do potencial evocado auditivo cortical (PEAC), representadas pelo complexo P1-N1-P2-N2, indicam a chegada do estímulo acústico nas áreas corticais, permitindo que o examinador verifique o tempo que o sinal acústico percorreu a via auditiva e se ele foi recebido adequadamente no córtex auditivo.⁽⁴¹⁾

Dispor de testes objetivos que possam ser considerados bons preditores de alterações da fala e da linguagem agregaria valor para a solução de dois problemas que dificultam a avaliação de crianças pequenas: a necessidade da participação da criança e o uso de uma técnica compatível com bom custo-benefício, podendo ser amplamente aplicável a uma variedade de crianças de diferentes classes sociais e ambientes linguísticos, inclusive as bilíngues.⁽⁴²⁾

A identificação precoce de possíveis transtornos do desenvolvimento na infância tem sido uma preocupação crescente da Academia Americana de Pediatria, consolidada por uma proposta de um modelo universal de vigilância e triagem, que visa à identificação precoce de condições que afetam o desenvolvimento de crianças em curto e em longo prazo.⁽⁴³⁾ A recomendação é incorporar a triagem do desenvolvimento para todas as crianças durante consultas regulares de puericultura aos 9, 18 e 30 meses de vida.

Reduzir o hiato entre a suspeita, o diagnóstico e a reabilitação das alterações auditivas, da linguagem e do desenvolvimento em crianças pequenas é a quimera de todo profissional de saúde que trabalha com o diagnóstico e a reabilitação. Nesse sentido, o objetivo deste estudo foi comparar as respostas dos potenciais evocados auditivos corticais, suas relações com o neurodesenvolvimento e o histórico pré, peri e neonatal entre crianças com e sem exposição presumida ao zika vírus durante a gestação.

2 JUSTIFICATIVA

As infecções congênitas, pela sua afinidade com os tecidos neurais, ^(12, 17, 44, 45) podem causar sequelas na via auditiva, desde a porção periférica até o córtex, e em áreas de associação.⁽²⁰⁾

Destaca-se que as manifestações auditivas tardias em crianças expostas ao zika vírus durante a gestação ainda não estão bem estabelecidas na literatura. Quando essas alterações ocorrem acima do tronco encefálico, o diagnóstico costuma ser difícil e tardio, visto que a criança não manifesta comportamentos que sugerem *deficit* auditivo, como nas perdas auditivas periféricas.

Anormalidades no desenvolvimento auditivo podem levar a alterações da fala e da linguagem, a déficit cognitivo e comprometer o desempenho psicossocial e acadêmico da criança.^(28, 31, 46-48) Diversos autores destacam a importância do uso de um modelo de habilidade de processamento perceptual que possibilite a avaliação de precursores do desenvolvimento da linguagem com base em dados objetivos, principalmente de testes eletrofisiológicos.^(33, 41, 49, 50)

Este estudo se justifica pela demanda crescente de ferramentas que auxiliem no diagnóstico precoce e no seguimento clínico dos distúrbios relacionados a disfunções auditivas e de linguagem. O potencial auditivo cortical tem sido um dos testes eletrofisiológicos mais estudados na atualidade. A contribuição das pesquisas experimentais tem demonstrado que os potenciais corticais têm sido um excelente instrumento de avaliação da maturação do sistema auditivo e potencial preditor de desfechos adversos para o neurodesenvolvimento e o desenvolvimento da linguagem.

Considerando a relevância deste tema e as lacunas referentes ao diagnóstico precoce das disfunções auditivas corticais e sua relação com a aquisição e desenvolvimento da fala e da linguagem em crianças normocefálicas expostas ao ZIKV, o presente estudo visa a contribuir com dados relevantes que possam sistematizar e dimensionar a abordagem clínica e a intervenção precoce.

3 OBJETIVOS

3.1 GERAL

Comparar a latência e a amplitude dos potenciais evocados auditivos corticais com o neurodesenvolvimento, os dados gestacionais, clínicos e sociodemográficos entre crianças com e sem exposição presumida ao zika vírus.

3.2 ESPECÍFICOS

- Comparar as latências e as amplitudes do PEAC com os escores dos domínios do neurodesenvolvimento de crianças com e sem exposição presumida ao zika vírus.
- Comparar os escores dos domínios do neurodesenvolvimento entre crianças com e sem exposição presumida ao zika vírus.
- Verificar se há associação entre a duração do aleitamento materno com as latências e amplitudes do PEAC e os escores dos domínios do neurodesenvolvimento em crianças com e sem exposição presumida ao zika vírus.

4 REVISÃO DA LITERATURA

4.1 INFECÇÕES CONGÊNITAS E PERINATAIS

A gravidez planejada é o ideal para uma gestação bem-sucedida. A realização do pré-natal representa um papel fundamental na prevenção e/ou detecção precoce de patologias, tanto maternas, como fetais, permitindo um desenvolvimento saudável do bebê e reduzindo os riscos para a gestante.^(51, 52)

Algumas doenças, quando ocorrem durante a gestação, podem ser transmitidas ao feto pela placenta ou canal do parto. Alguns desses agentes, mesmo não tendo ocasionado doença na mãe, podem se manifestar no feto com quadros leves, graves e até levar ao óbito fetal.^(27, 53, 54)

O diagnóstico das infecções maternas que podem comprometer o desenvolvimento fetal, apesar de reconhecidas, bem descritas e estudadas há muitas décadas, ainda é um desafio.^(45, 55) Em muitos casos, essas infecções podem ser assintomáticas e o diagnóstico vai depender de métodos efetivos de rastreamento e de um pré-natal bem assistido .

Embora alguns autores preconizem que o rastreamento pré-concepcional e pré-natal da mãe e neonatal da criança, quando disponíveis, têm importância fundamental para o diagnóstico e o tratamento precoce das infecções congênitas,⁽⁵⁶⁾ outros consideram ser uma assertiva terapêutica ineficiente, em virtude da baixa prevalência para algumas afecções do ciclo gravídico, da reduzida confiabilidade e do elevado custo de certos testes laboratoriais utilizados nessa investigação. Soma-se a essa discussão, o fato de que, quando a infecção materna é confirmada, em geral, é difícil confirmar a infecção do embrião/feto.^(57, 58)

Estudos relatam a baixa relação custo-benefício e custo-efetividade do rastreamento de rotina para a maioria das infecções congênitas, considerando o alto investimento desse protocolo e a baixa especificidade dos testes sorológicos para determinar a exposição do feto.^(54, 56-58) Deve-se considerar, entretanto, que a incidência de infecções congênitas e perinatais é variável em diferentes populações⁽⁵⁹⁾ e o seu risco dependerá de vários elementos que interferem na saúde materna.⁽⁵⁴⁾ O nível socioeconômico, a escolaridade, as condições de habitação e de saneamento podem contribuir para a elevação das taxas de infecções, tais como: citomegalovírus (CMV), sífilis, toxoplasmose e infecções bacterianas^(55, 59) Além disso,

as práticas sexuais e o uso de drogas também podem influenciar a incidência dessas infecções, principalmente sífilis, hepatite B, vírus da imunodeficiência humana (HIV), CMV e herpes simplex⁽⁵⁹⁾

Até 2015, os patógenos mais frequentemente relacionados às infecções intrauterinas eram: a bactéria *Treponema pallidum* que causa a sífilis (S), o protozoário *Toxoplasma gondii* que causa a toxoplasmose (TO) e os vírus da rubéola (R), do citomegalovírus (C) e do vírus herpes simplex (H), compondo o acrônimo STORCH.^(20, 27, 45, 60, 61) A partir da epidemia do zika vírus (ZIKV) em 2015, que afetou gravemente o Nordeste brasileiro, profissionais de saúde observaram uma forte associação de malformações congênitas e condições neurológicas em crianças expostas ao ZIKV.^(7, 62, 63) Assim, a necessidade da vigilância e monitoramento das malformações decorrentes dessa infecção durante a gestação ampliou o acrônimo STORCH para Z-STORCH, com adição do zika vírus.^(6, 19, 27, 45, 63)

4. 2 ALTERAÇÕES AUDITIVAS NAS INFECÇÕES CONGÊNITAS E PERINATAIS

As infecções congênitas mais relacionadas às disfunções auditivas incluem mais frequentemente a rubéola, CMV, toxoplasmose, sífilis, herpes e HIV.^(20, 27, 44, 60, 64-67) O CMV é a causa mais comum de perda auditiva sensorioneural não hereditária na infância⁽⁶⁶⁾ e a causa mais frequente de infecção perinatal viral, podendo variar geograficamente. A prevalência de infecções em nascidos vivos nos Estados Unidos é estimada em 0,48%, na Holanda em 0,54% e no Brasil, 1,08%.⁽⁶⁸⁾

A infecção pelo ZIKV tem um espectro variado de alterações auditivas, já descritas em diversos artigos, todavia uma revisão integrativa que compilou e analisou as evidências disponíveis admite que as alterações de origem central ainda não estão bem esclarecidas nessa população.^(18-20, 69, 70)

Comitês nacionais e internacionais são unânimes em recomendar a triagem auditiva neonatal (TAN), preferencialmente, nas primeiras 48 horas de vida do neonato, como a primeira medida para o diagnóstico precoce e como prevenção para evitar possíveis prejuízos linguísticos, sociais, emocionais e cognitivos relacionados à perda auditiva não identificada precocemente. O segundo passo é o estabelecimento de intervalos para reavaliação e

monitoramento do desenvolvimento auditivo até o 36º mês de vida, nos casos com indicadores de risco para perda auditiva (IRDA).⁽⁷¹⁻⁷³⁾

Documentos oficiais no Brasil e diretrizes internacionais de atenção à saúde auditiva demonstram uma preocupação especial em relação às infecções congênitas, incluindo a infecção por zika vírus, já mencionada na última atualização do *Joint Committee on Infant Hearing* em 2019.⁽⁷³⁾ Nesses documentos, há uma indicação clara da necessidade do monitoramento auditivo para todos os recém-nascidos com infecções congênitas, em função da possibilidade de ocorrência de perdas auditivas tardias e/ou progressivas.

Pelas fragilidades do Sistema Único de Saúde e as desigualdades sociais e territoriais em um país com as dimensões do Brasil, princípios constitucionais como a equidade não são respeitados, acarretando, ainda nos dias de hoje, diagnósticos tardios. Garantir ao neonato o acompanhamento do desenvolvimento auditivo pelo menos até os 24 meses de vida é fundamental e é ratificado em diversos protocolos e artigos científicos.^(26, 65, 67, 73, 74)

Estudos destacam que lactentes com IRDA, mesmo tendo passado na TAN, são suscetíveis a desvios ou distúrbios do desenvolvimento auditivo devido às possíveis alterações nas etapas de maturação da função auditiva durante o primeiro ano de vida, podendo repercutir negativamente no processo de aquisição da linguagem oral.^(27, 42)

Com o objetivo de prever a ocorrência de perda auditiva pós-natal e descrever os fatores de risco associados, pesquisadores australianos acompanharam 2.107 crianças que passaram na triagem auditiva ao nascimento e tinham um ou mais fatores de risco para perda auditiva. O desenvolvimento auditivo foi monitorado a cada seis meses até os dois anos. Identificaram perda auditiva tardia em 2,7% das crianças. Os resultados, todavia, não foram conclusivos sobre a associação entre as perdas auditivas tardias e as infecções congênitas. As evidências foram mais robustas para fatores de risco como história familiar de perda auditiva, anomalias craniofaciais, síndromes e ventilação mecânica prolongada.⁽⁷⁵⁾

Quando há fatores de risco para perda auditiva progressiva ou tardia é necessário um acompanhamento com intervalos bem definidos, visando à detecção de alterações no desenvolvimento auditivo.⁽⁷⁴⁾ Isso se justifica pelo fato de que o desenvolvimento e a maturação do sistema auditivo em crianças com audição normal seguem uma sequência de comportamentos que se iniciam no nascimento e evoluem até os dois anos de idade aproximadamente, compondo uma hierarquia de habilidades já bem descritas e consolidadas na literatura.^(21, 34, 76)

As etapas que fazem parte do desenvolvimento auditivo e do processamento do sinal acústico são: detecção, discriminação, localização, reconhecimento e, finalmente, a compreensão auditiva.⁽²¹⁾ Entretanto, mesmo crianças que podem ouvir perfeitamente os sons, porque possuem a audição periférica preservada, podem apresentar atrasos significativos no desenvolvimento das habilidades auditivas, que são processos regulados pelo sistema nervoso auditivo central (SNAC), cujas funções são vitais para o desenvolvimento da fala e da linguagem.⁽⁷⁷⁾ Embora o processamento de uma mensagem auditiva tenha início nos neurônios localizados na cóclea, o conteúdo dessas informações percorrerá uma longa e complexa via até chegar ao córtex auditivo, onde ocorrerá a decodificação da mensagem.^(32, 41)

Em audiologia, quando se fala em alterações no processamento da informação auditiva em nível central, refere-se a como o cérebro interpreta as informações que chegam através da orelha.⁽⁴²⁾ Quando há alguma lesão na via auditiva, os padrões sonoros que codificam a mensagem acústica podem não ser analisados e interpretados adequadamente. Quando isso ocorre, há prejuízo na compreensão das informações pelo córtex auditivo primário e pelas áreas de associação ou córtex auditivo secundário, ocasionando alterações no desenvolvimento da linguagem, da memória, da atenção, da análise e da síntese, além de dificuldades em selecionar figura–fundo.⁽⁷⁸⁾

Comumente, as habilidades envolvidas no processamento auditivo central se desenvolvem em paralelo ou reciprocamente com as habilidades de linguagem. Ao nascer, a audição do bebê é reflexa, mas a partir do momento que a criança está exposta a estímulos auditivos variados iniciam-se as respostas comportamentais aos sons.⁽²²⁾ As experiências auditivas nos primeiros anos de vida auxiliam a organização de processos neuropsicológicos, orgânicos, afetivos e simbólicos. O intervalo entre o nascimento e os dois primeiros anos de vida compreende o período de maior plasticidade neuronal.^(21, 77)

Os déficits nas habilidades auditivas em crianças com distúrbio no processamento auditivo, em geral, tornam-se perceptíveis na fase escolar. Entre elas estão a dificuldade de compreensão da fala na presença de ruído, atenção reduzida, baixo desempenho acadêmico, memória auditiva limitada, dificuldade de identificação da ideia principal de um enunciado, baixa capacidade de interpretação de palavras, frases e analogias de sentido ambíguo, além de alteração na emissão verbal e dificuldade de resgate verbal.⁽⁷⁹⁾

Além dos diversos estudos,^(29, 34, 65, 79-81) a observação clínica no atendimento a crianças expostas a diferentes IRDA, incluindo as infecções congênicas, tem demonstrado que

a investigação audiológica deve ir além da triagem auditiva proposta para os grupos de risco. Na maioria das vezes, avalia-se apenas a função coclear e, menos frequentemente, a integridade do tronco encefálico e das demais áreas subcorticais e corticais. Estudos mais recentes^(35, 37, 40, 42) têm sugerido que no processo de avaliação da criança de risco sejam incluídas informações do processo de maturação das áreas de processamento cortical, visando ao estabelecimento de um prognóstico para o desenvolvimento das habilidades de linguagem e cognitiva.

4. 3 LINGUAGEM E AUDIÇÃO

O primeiro ano de vida, quando ocorre grande parte da maturação do sistema nervoso central (SNC), é considerado vital para o desenvolvimento das habilidades auditivas e de linguagem, pois é um período de grande plasticidade e é quando ocorre o maior crescimento cerebral e a formação de novas conexões neuronais.^(32, 74) Os processos da linguagem e da aprendizagem são bastante complexos, envolvem redes de neurônios distribuídas em diferentes regiões cerebrais que se relacionam à percepção da fala, sendo dependentes da integridade auditiva periférica e central.^(42, 82, 83)

Durante o desenvolvimento da linguagem, duas fases distintas podem ser reconhecidas: a pré-linguística, caracterizada pelas vocalizações que persistem até os 11-12 meses; e a fase linguística, quando a criança começa a falar palavras isoladas, justapostas e, em seguida, a formar frases contextualizadas com a compreensão do ambiente. Posteriormente, a criança progride na escalada de complexidade da expressão. Esse processo é contínuo e ocorre de forma ordenada e sequencial, com sobreposição considerável entre as diferentes etapas.^(83, 84)

Estudiosos que se identificam com os estudos de Chomsky acreditam que existe uma predisposição biológica para percepção de várias dimensões acústicas da fala, associando essa predisposição inata à existência de uma rede neural, comum aos humanos, que se desenvolve a partir das experiências auditivas.^(21, 85) Mais recentemente, após cinco décadas de trabalho, Chomsky e Berwick⁽⁸⁴⁾ publicaram um livro em que exploram as evidências da universalidade da linguagem humana. Embora com outra roupagem, permanece a ideia de que a linguagem

humana é um desdobramento das nossas capacidades cognitivas inatas e das nossas experiências auditivas.

Inegavelmente, o desenvolvimento das habilidades auditivas e o aparecimento da linguagem têm uma relação direta com o tempo, com a quantidade e a qualidade das interações com o ambiente.^(21, 32, 79, 86, 87)

Os seres humanos, de modo geral, constroem o seu repertório de conhecimentos e tomam decisões a partir do que ouvem, processam e compreendem dos estímulos externos e da autorregulação das suas emoções.⁽⁸⁸⁾ Quando a informação chega pela via auditiva, o cérebro precisa analisar as características acústicas da informação e transformar dados sensoriais brutos, que codificam os padrões de frequência, intensidade e duração, em unidades verbais como palavras e frases.⁽³²⁾ Parte dessa informação também pode ser identificada como unidades não verbais, como a prosódia e as demais características da expressão afetivo-emocional.⁽³²⁾ Ouvir, decodificar, entender e memorizar são tarefas de escuta ativa, exigem integridade sensorial e participação do sistema nervoso central.⁽⁸³⁾

A expressão da linguagem engloba múltiplos sons complexos que ocorrem simultaneamente, em várias frequências e com rápidas transições entre elas. Para haver aprendizado, compete a orelha sintonizar esse sinal auditivo complexo, decodificá-lo e transformá-lo em impulsos elétricos, os quais são conduzidos por células nervosas à área auditiva do córtex cerebral, no lobo temporal.⁽³²⁾

Nos últimos anos, testes e equipamentos para medições cerebrais seguras e não invasivas se tornaram viáveis para o uso em crianças pequenas, multiplicando o interesse da neurociência em desvendar os mecanismos do processamento inicial da linguagem. Através desses testes, o nível fonético da linguagem pode ser documentado e diferenciar o estado inato do efeito do aprendizado no cérebro.⁽⁸⁹⁾

Dada a importância central da linguagem nos diversos aspectos interacionais da vida humana – cognição, sociabilidade, educação, entre outros, a identificação precoce, a prevenção e o tratamento dos transtornos da linguagem têm alta prioridade para as profissões terapêuticas.⁽⁴²⁾ Atrasos ou dificuldades para falar e utilizar a linguagem são uma das causas mais comuns de consultas aos pediatras, fonoaudiólogos e outros profissionais que cuidam da saúde infantil. O atraso pode indicar uma dificuldade específica de linguagem ou ser um indicador precoce de um problema ligado ao processamento do sinal acústico ou algo mais amplo, como o atraso no desenvolvimento global ou autismo.⁽⁸³⁾

Quando há alterações auditivas periféricas ou centrais, o desenvolvimento da linguagem oral é afetado de forma decisiva e significativa pela idade de identificação e pela idade do início da reabilitação.^(21, 73, 90) Alterações sugestivas do comprometimento da via auditiva central foram descritas em crianças com desvio fonológico, avaliadas pelos potenciais corticais.⁽⁸⁰⁾

Desta forma, o uso dos potenciais de longa latência na avaliação da via auditiva central, em lactentes e crianças pequenas, tem sido excelente ferramenta de investigação da integridade da via auditiva central e da presença de déficits funcionais, podendo contribuir para o diagnóstico precoce de possíveis alterações da fala e da linguagem oral.

4.4 TESTES ELETROFISIOLÓGICOS E NEUROMATURACÃO DA VIA AUDITIVA

Muito se tem investigando sobre a aplicabilidade dos potenciais de longa e média latência em diversas populações, na clínica audiológica e de linguagem.^(33, 35-38, 40, 50, 91) As ondas produzidas por esses potenciais refletem informações da bioeletrogênese de todo o sistema auditivo. As respostas obtidas em forma de ondas positivas e negativas refletem a atividade elétrica e indicam, através da latência e da amplitude, o tempo que o sinal acústico levou para percorrer a via auditiva e se foi recebido adequadamente no córtex auditivo.⁽⁴¹⁾ Também representam a atividade cortical relacionada às habilidades de atenção, de memória e de discriminação auditiva.⁽³⁵⁾

A evolução e a sofisticação das tecnologias de varredura e mapeamento do cérebro e das funções somestésicas ajudaram a desvendar detalhes do neurodesenvolvimento.⁽⁹²⁾ Uma das descobertas mais importantes e que contribuiu para consolidar resultados de estudos do final dos anos de 1950 foi de que o cérebro tem uma enorme capacidade de se reorganizar, baseado nos estímulos sensoriais e motores. Além disso, trouxe evidências de que o desenvolvimento do cérebro no primeiro ano de vida é infinitamente maior do que se pensava,⁽²¹⁾ deixando um caminho a ser explorado através da eletrofisiologia.

Os métodos de avaliação através de potenciais eletrofisiológicos não estudam alterações estruturais, registram os processos neurofisiológicos subjacentes, que ocorrem simultaneamente à apresentação do estímulo, ou seja, registram uma resposta processada em tempo real.⁽⁹³⁾ Embora sujeitos a variações individuais e eventualmente sejam difíceis de

interpretar, inclusive pela falta de normalização para as diversas faixas etárias, é um instrumento que propicia informações qualitativas e quantitativas sobre o tecido nervoso da via auditiva central.

O potencial evocado auditivo de tronco encefálico (PEATE) e o potencial evocado auditivo cortical (PEAC), quando aplicados juntos, permitem estudar a neurofunção da via auditiva, desde a porção mais periférica até as áreas corticais, e podem ser detectados em neonatos e lactentes, visto que não dependem da atenção individual ao estímulo acústico.⁽³⁷⁾ Enquanto o PEATE avalia a integridade neurofisiológica do tronco encefálico, o PEAC avalia a capacidade talâmica e cortical da via auditiva central em detectar e decodificar estímulos acústicos.⁽⁴¹⁾

Desde o nascimento, as respostas corticais ao estímulo acústico, sejam por estímulos tonais e/ou por estímulos de fala (sílabas), conseguem mostrar a organização de geradores corticais e o desenvolvimento do sistema auditivo central. Nos neonatos e lactentes é possível observar a presença de todos os componentes do PEAC, os quais não dependem da atenção individual da criança ao estímulo sonoro apresentado durante a avaliação, sendo, portanto, uma representação da habilidade cortical em detectá-los.^(37, 91)

O potencial evocado auditivo de longa latência (PEALL) representa uma das técnicas neurofisiológicas com maior utilidade na investigação cognitiva. As respostas bioelétricas da atividade do tálamo e do córtex são detectadas em forma de ondas positivas e negativas, num intervalo de 80 a 600 milissegundos (ms), como observado no exemplo da Figura 1. Os componentes P1-N1-P2-N2 são chamados exógenos ou sensoriais, por refletirem as características acústicas e temporais do estímulo.⁽⁴¹⁾ Esse complexo de ondas reflete a avaliação funcional e a sensibilidade auditiva, trazendo informações da chegada do estímulo auditivo ao córtex e do início do processamento cortical.^(33, 36, 41) Já o P300, ou potencial cognitivo, corresponde à resposta endógena, por envolver uma tarefa cognitiva e depender das características do estímulo.⁽⁴¹⁾

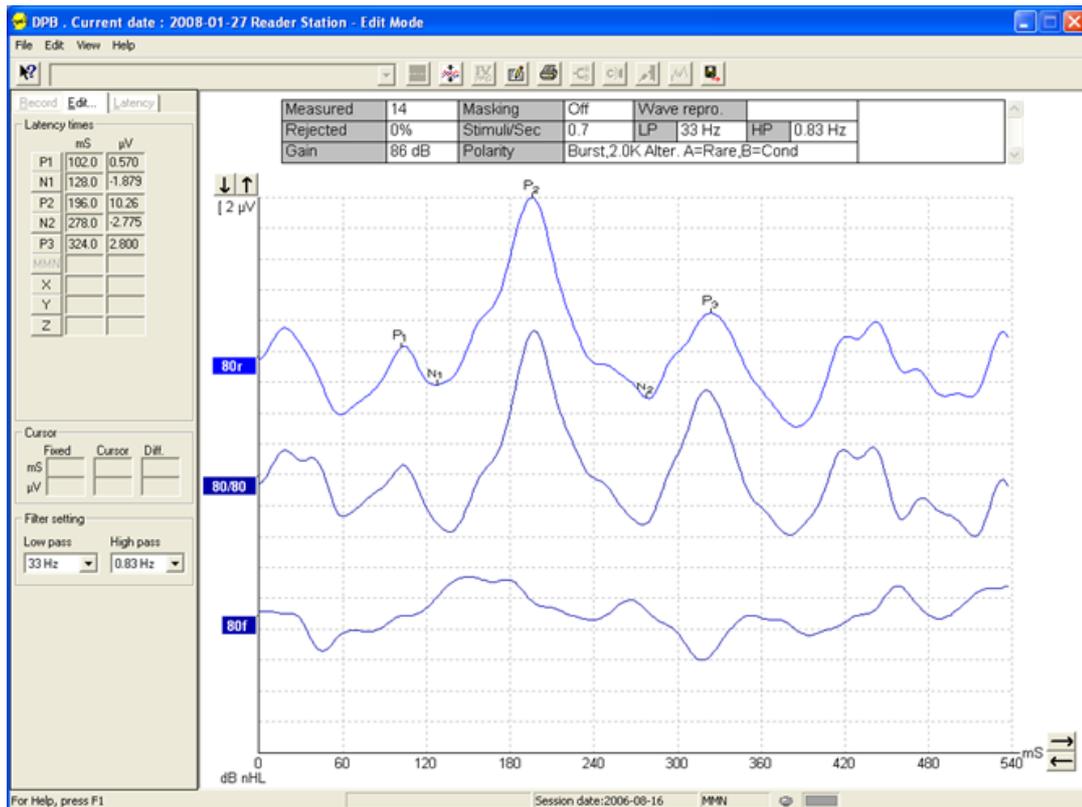


Figura 1 - Morfologia das ondas do PEALL de um adulto com a identificação do complexo P1-N1-P2-N2 e a latência do P300.

Fonte: Arquivo da autora.

A contribuição dos testes eletrofisiológicos auditivos, utilizados nas mais diversas populações infantis, tem apontado para um caminho de fortalecimento do seu uso no protocolo de avaliação de crianças pequenas, como preditor de alterações no desenvolvimento da linguagem, contribuindo com informações qualitativas e quantitativas que podem melhor expressar o uso funcional que a via auditiva faz da informação acústica. (35-37, 41, 50, 81, 94)

Outro aspecto importante a se considerar e que reforça o uso dos testes eletrofisiológicos de média e longa latência em neonatos e lactentes expostos às infecções congênitas é o neurotropismo dos agentes infecciosos. (7, 27, 95) Em alguns casos, observam-se alterações do tecido nervoso que podem comprometer diversos sistemas. Quando se trata de alterações sutis, nem sempre é possível diagnosticá-las precocemente nos exames de imagem, como ocorre com alterações mais graves, tais como calcificações distróficas da substância branca cortical e subcortical, hipoplasia pontina, hipogênese do corpo caloso, ventriculomegalia e paquígia, sinais importantes na caracterização da Síndrome Congênita do Zika Vírus (SCZV). (27, 44, 95)

O desenvolvimento humano acontece por meio de padrões de crescimento, estabilidade e mudança no comportamento ao longo de todo o ciclo de vida, sendo que cada idade tem a sua própria agenda desenvolvimental.^(77, 88, 96) As principais aquisições da criança saudável de zero a três anos e os indicadores ou marcos do desenvolvimento estão bem descritos na literatura.^(77, 96, 97)

Desse modo, outros marcos da maturação auditiva podem e devem ser utilizados em protocolos de triagem, como a investigação da resposta de localização sonora, que são passíveis de serem observadas em 95% das crianças com audição normal.^(21, 34) Entre 21 e 24 meses de vida, a criança deve localizar uma fonte sonora audível em qualquer azimute.⁽²¹⁾

Paralelamente ao desenvolvimento auditivo, a maturação do SNC e a experiência cultural são responsáveis pelas mudanças nos comportamentos adaptativos e no aumento dos domínios de desenvolvimento da criança.⁽⁹⁶⁾ Ambos dependem de fatores biológicos e contextuais representados por dois importantes processos: a maturação e a interação com o meio.⁽⁴²⁾

Nesse sentido, o desenvolvimento da linguagem oral também depende da maturação do SNC, da funcionalidade satisfatória do sistema auditivo, do desenvolvimento cognitivo e da funcionalidade dos órgãos fonoarticulatórios, de modo a permitir a produção da fala.⁽⁴⁹⁾

4.5 ESCALA BAYLEY DE NEURODESENVOLVIMENTO

De forma didática, o neurodesenvolvimento infantil é subdividido em domínios específicos, como o cognitivo, o motor grosso, o motor fino, a linguagem expressiva e a linguagem receptiva.^(77, 98) O diagnóstico precoce de alterações em quaisquer desses domínios continua sendo um desafio para os profissionais da saúde.

A avaliação e a compreensão do significado entre um possível atraso do neurodesenvolvimento e o limite da normalidade requer a combinação de dois fatores complementares: um profissional experiente e instrumentos confiáveis. Na avaliação do neurodesenvolvimento e dos seus diversos domínios, deve-se destacar a importância do uso de escalas validadas, de comprovada sensibilidade e especificidade, e que representem a diversidade cultural dos indivíduos.^(99, 100)

Testes e escalas de desenvolvimento, quando bem aplicados, facilitam a triagem e o monitoramento do desenvolvimento, bem como possibilitam o diagnóstico precoce, evitando que o tratamento ou a reabilitação sejam oferecidos tardiamente, caso alguma anormalidade seja detectada. Diversos instrumentos estão disponíveis para auxiliar na identificação do risco de aspectos do neurodesenvolvimento em crianças. Quando utilizados na prática clínica, dentro de programas de acompanhamento do crescimento e desenvolvimento de recém-nascidos de risco, podem antecipar a intervenção ou a estimulação precoce.^(42, 99-101)

A escala de desenvolvimento infantil Bayley, na sua terceira edição (*Scales of infant development - Bayley – III*), tem sido a mais utilizada e referenciada na literatura mundial, considerada padrão ouro para avaliar o desenvolvimento evolutivo de crianças de 1 a 42 meses de idade, com e sem deficiências.^(15, 98, 100-103)

Reconhecida internacionalmente como uma das escalas mais abrangentes para avaliação de crianças pequenas, fornece resultados confiáveis com propriedades psicométricas robustas.^(100, 101) Sua utilização em pesquisa é bem aceita na comunidade acadêmica, tendo crescido no Brasil com o advento do surto do zika vírus em 2015, estando entre os instrumentos listados para avaliação de crianças com SCZV no plano nacional de enfrentamento à microcefalia.⁽¹⁰⁴⁾ A escala avalia cinco domínios do desenvolvimento: cognitivo, motor, linguístico, socioemocional e comportamento adaptativo. A confiabilidade da versão brasileira da Bayley-III foi considerada como boa, com excelente consistência interna. Há duas versões de apresentação da escala Bayley-III, sendo uma completa e uma de triagem, ambas utilizadas na clínica e em pesquisas.⁽¹⁰⁰⁾

A versão de triagem, *Bayley Infant Neurodevelopmental Screener* (BINS) foi validada no Brasil ⁽¹⁰⁵⁾ sendo descrita como um instrumento de rápida aplicação, baixo custo, com alta sensibilidade e propriedades psicométricas confiáveis para rastrear crianças em risco, com alto índice de confiabilidade.^(100, 101, 105) A confiabilidade teste-reteste do BINS variou de 0,71 a 0,81 e a consistência interna foi relatada como moderada a forte. O coeficiente alfa variou de 0,73 a 0,85 ao longo da idade e a confiabilidade interexaminador variou de 0,79 a 0,96.⁽¹⁰⁵⁾

A escala BINS é um teste de triagem projetado para examinar bebês com idades entre 3 e 24 meses quanto ao risco de comprometimento do neurodesenvolvimento.⁽¹⁰⁶⁾ Consiste na avaliação de 11 a 13 itens de cada domínio, dependendo da idade da criança. A pontuação obtida reflete o nível de risco da criança para atrasos no desenvolvimento ou deficiências neurológicas e é classificada em três grupos de risco: “Competentes” para baixo risco,

“Emergentes” para risco moderado ou “Em risco” para alto risco. As pontuações de corte que determinam a classificação de risco variam de acordo com a idade da criança.⁽¹⁰⁵⁾

5 MATERIAL E MÉTODOS

5.1 ESTUDO INTERNACIONAL DE COORTE PROSPECTIVO OBSERVACIONAL DO ZIKA EM CRIANÇAS E GESTANTES - (ESTUDO ZIP)

A presente pesquisa está vinculada a um estudo de caráter multicêntrico, com a participação de diversos países e estados brasileiros, entre os quais a Bahia, através da cidade do Salvador-BA, intitulado *Estudo internacional de coorte prospectivo observacional do zika em crianças e gestantes (Estudo ZIP)*, com o objetivo de avaliar a dimensão da ligação entre a infecção pelo ZIKV durante a gravidez, os efeitos adversos nas mães/fetos e o risco de transmissão vertical em 10 mil gestantes residentes em áreas endêmicas.

O *National Institute of Child Health and Human Development* (NICHD), o *National Institute of Allergy and Infectious Diseases* (NIAID), o *National Institute of Environmental Health Science* (NIEHS) e a Fundação Oswaldo Cruz (Fiocruz) foram os patrocinadores e responsáveis financeiros por todos os processos e procedimentos descritos no projeto do Estudo ZIP.

O Estudo ZIP, na cidade de Salvador-BA, foi desenvolvido entre 2016 e 2019. Avaliou prospectivamente 600 mulheres grávidas, admitidas entre o primeiro até início do segundo trimestre de gestação e as acompanhou durante a gravidez, com o objetivo de identificar evidências do ZIKV na fase aguda, controlando possíveis fatores confundidores. Enfermeiras obstetras e médicos acompanharam as participantes da coorte durante consultas pré-natais ambulatoriais até o parto, de acordo com as diretrizes nacionais para cuidados pré-natais e obstétricos.

Após o parto, os recém-nascidos de 509 mulheres, considerando desistências e perdas de seguimento, foram acompanhados longitudinalmente durante o primeiro ano de vida, com visitas pediátricas e exames complementares programados ao nascimento, aos 3, 6 e 12 meses.

5. 2 ASPECTOS ÉTICOS

A proposta deste subestudo foi submetida à apreciação do Comitê de Governança do Estudo ZIP, com o título *Hearing and language in infants with congenital infections* (HALICI), recebendo a aprovação do consórcio, através da carta-resposta do Dr. John H. Moye Jr-S, endereçada à investigadora principal do estudo no centro de Salvador, Dra. Deolinda Scalabrin, conforme o Anexo A. O Anexo B refere-se à aprovação do projeto ZIP (Parecer N° 1.943.399) e da emenda apresentada posteriormente (Parecer n. 1.582.767), pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Fiocruz do Rio de Janeiro, CAAE: 56673616.3.1001.5269.

5. 3 TIPO DE ESTUDO

Estudo transversal e prospectivo, de caráter exploratório, analítico, baseado em uma amostra aleatória simples, representativa de uma coorte observacional do *Estudo internacional de coorte prospectivo observacional do zika em crianças e gestantes (Estudo ZIP)*.

5. 4 CONTEXTO E PARTICIPANTES

A população deste estudo foi constituída por crianças com idades entre 12 e 20 meses, inscritas na coorte do Estudo ZIP do centro de Salvador-BA, que compareceram para a visita de 12 meses e foram elegíveis pelos critérios de inclusão.

5. 4.1 Critérios de Inclusão

Crianças inscritas na coorte ZIP que tiveram emissões otoacústicas por estímulos transientes (EOAt) presentes bilateralmente e latências e amplitudes do PEATE, dentro do padrão de normalidade, de acordo com os valores de referência.⁽¹⁰⁷⁾

5. 4.2 Critérios de Não Inclusão

Perda auditiva de qualquer grau, diagnosticada ao nascimento ou na visita de 12 meses, síndromes genéticas, distúrbios neurodegenerativos, malformação craniofacial ou de orelha externa e/ou média que inviabilizassem a realização dos testes eletrofisiológicos.

5. 5 ESTRATÉGIAS E INSTRUMENTOS DE COLETA

Dados sociodemográficos, história pré, peri e pós-natal, exames auditivos e laboratoriais foram extraídos do banco de dados Redcap (*Research Electronic Data Capture*). Foram de interesse específico do presente estudo, as medidas antropométricas, a duração do aleitamento materno, os resultados das sorologias para Z-STORCH (ZIKV, toxoplasmose, rubéola, citomegalovírus, herpes vírus e sífilis), chikungunya e dengue e da triagem auditiva neonatal.

Ensaio para detecção de anticorpos para toxoplasma, rubéola, CMV, sífilis, hepatite ou vírus do herpes simples foram feitas de acordo com os procedimentos laboratoriais clínicos locais, utilizados no pré-natal do Centro Espírita Caminho da Redenção - Mansão do Caminho

Ensaio de imunoabsorção enzimática para captura de anticorpo (MAC-ELISA) anti-ZIKV foram realizados mensalmente por meio de testes qualificados pelo Centro de Controle e Prevenção de Doenças (CDC).

Sempre que a Imunoglobulina M para ZIKV testou positivo, o teste de reação da transcriptase reversa, seguido pela reação em cadeia da polimerase (RT-PCR) foi realizado para identificar o ácido ribonucleico (RNA) viral e confirmar a exposição.

5.6 AVALIAÇÃO DA AUDIÇÃO

Os exames auditivos foram precedidos da inspeção do meato acústico externo com otoscópio de fibra ótica da marca Welch Allyn®, para verificação de excesso de cerume e/ou malformação que pudessem impedir a realização dos testes.

Quando detectada a presença de cerume em excesso a criança foi encaminhada para a remoção e posterior avaliação. Os testes de emissões otoacústicas e potencial evocado auditivo de tronco encefálico foram realizados com o objetivo de cancelar os critérios de inclusão e visaram garantir que a audição periférica estivesse dentro dos padrões de normalidade, com integridade da orelha média e do tronco encefálico. As etapas de investigação da função auditiva constaram dos testes de avaliação do desenvolvimento das habilidades de localização sonora e dos testes fisiológicos e eletrofisiológicos da audição, seguindo o fluxograma registrado na Figura 2.

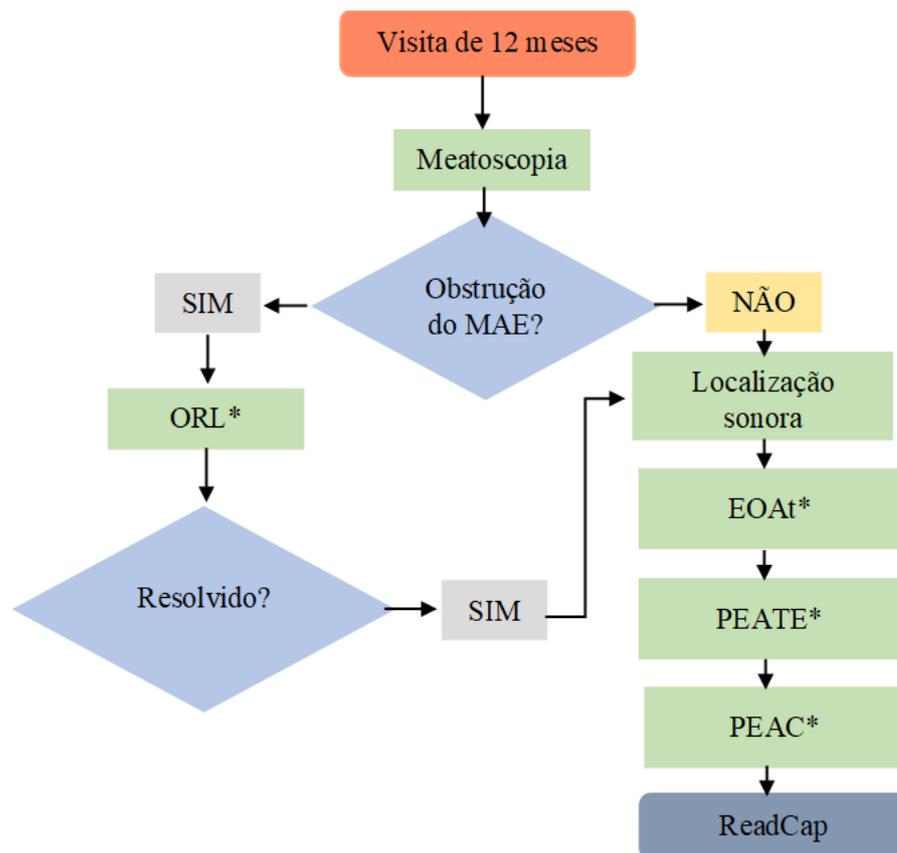


Figura 2 - Fluxograma dos exames audiológicos
Fonte: Dados da pesquisa

Legenda: ***MAE** – Meato Acústico Externo; ***ORL** – Otorrinolaringologista; ***EOAt** – Emissões Otoacústicas por Transientes; ***PEATE** – Potencial Evocado Auditivo de Tronco Encefálico; ***PEAC** – Potencial Evocado Auditivo Cortical; ***RedCap** - *Research Electronic Data Capture*

Os dados referentes aos testes audiológicos integrantes deste subestudo foram anotados em formulário desenvolvido para esta finalidade e incluídos no RedCap do Estudo ZIP, sendo preenchido pela pesquisadora ao longo do estudo.

5.7 AVALIAÇÃO AUDITIVA, EQUIPAMENTOS E CONDIÇÕES DE TESTE

Avaliação do desenvolvimento das habilidades auditivas de localização

O instrumento utilizado para avaliação do desenvolvimento das habilidades auditivas de localização sonora faz parte do Kit Auditivo III de Simonek⁽¹⁰⁸⁾, fabricado pela Audi Center Brasil Ltda (Figura 3).



Figura 3 - Kit Auditivo Simonek

Fonte: <https://www.cristinasimonek.com.br> (108)

Utilizou-se o sino pequeno, que possui um nível de pressão sonora considerado de média intensidade, aproximadamente de 62 decibéis (dB) nível de audição (NA), sendo apresentado na localização lateral, para baixo e para cima. As crianças foram classificadas quanto ao seu desempenho como adequado, abaixo ou acima do esperado, considerando o tipo de resposta evolutiva de localização apresentada, levando-se em conta a faixa etária, mediante a comparação entre os critérios determinados por Northern e Downs.⁽²¹⁾

Avaliação da audição periférica e integridade da orelha média

As emissões otoacústicas por transiente foram avaliadas com o equipamento *Accuscreen Otometrics da Madsen*® (Figura 4), com um protocolo de avaliação clínica e critério passa/falha. Considerou-se *passa* para emissões presentes com reprodutibilidade igual ou superior a 80%, resposta mínima de 3 dB acima do ruído e amplitude positiva para a banda de frequência de 500 Hertz (Hz) e resposta mínima 6 dB acima do ruído e amplitude positiva para as bandas de frequência de 1000, 2000 e 4000 Hz.



Figura 4 - Emissões otoacústicas Accuscreen
Fonte: Manual do usuário⁽¹⁰⁹⁾

Avaliação Eletrofisiológica da Audição (PEATE e PEAC)

Antes da realização dos potenciais evocados, realizou-se a limpeza da pele na fronte, glabella e atrás do pavilhão auditivo com gel abrasivo para a aplicação dos eletrodos. Foram utilizados eletrodos de superfície descartáveis do tipo Ambu® Neuroline 720 Snap, posicionados de acordo com o Sistema Internacional 10-20 (Figura 5), posicionados no Vértex (Cz), mastoide direita (A2) e esquerda (A1), e o eletrodo terra na glabella, aceitas impedâncias máximas entre 3 e 5 KOhms.

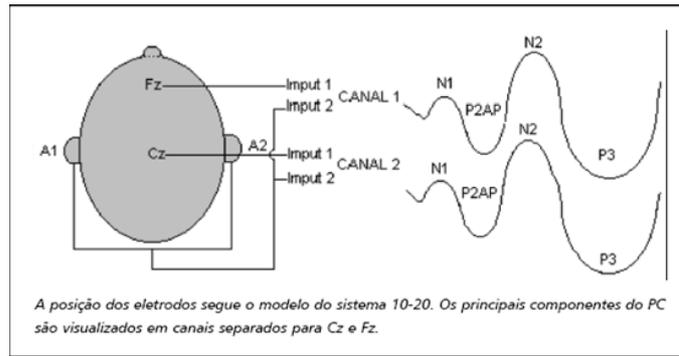


Figura 5 - Esquema de posicionamento dos eletrodos no sistema
Fonte: Arquivos de Neuropsiquiatria(93)

Os registros do PEATE e do PEAC foram obtidos com o equipamento Eclipse EP-25 da *Interacoustics*[®] (Figura 6), com dois canais, utilizando fones de inserção *earstone* 3A (ER-3A).

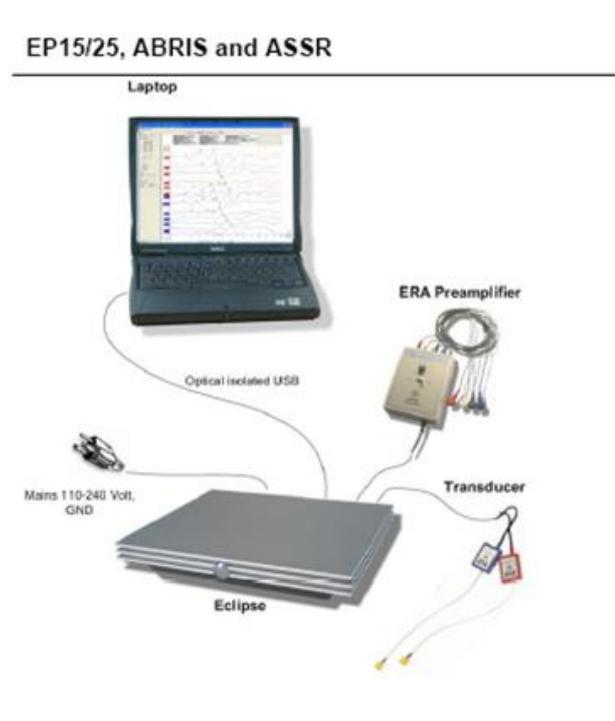


Figura 6 - Ilustração do Equipamento Eclipse EP-25
Fonte: Manual de Operação do Eclipse EP25⁽¹¹⁰⁾

Todos os testes foram realizados em vigília. Como recurso facilitador para manter a criança colaborativa durante o exame, utilizou-se um *notebook* com desenhos animados, indicados pelo acompanhante como da preferência da criança, suprimindo o som. Durante o exame, a criança permaneceu no colo do acompanhante, assistindo ao filme e aquelas que

ainda estavam em aleitamento materno foi facultado mamar durante o exame, caso a criança preferisse ou viesse a solicitar.

As condições de temperatura e luminosidade da sala foram mantidas estáveis e não havia elementos que pudessem desviar a atenção da criança. As condições de ruído interno e externo também foram controladas, a fim de que não interferissem em nenhum dos testes.

O PEATE, para avaliação da integridade do VIII par craniano até o tronco encefálico, foi pesquisado com estímulo clique a uma taxa de 21,1 cliques/segundo, polaridade rarefeita, janela de 12 milissegundos, filtro passa-banda de 100-1500 Hertz. A intensidade foi fixada em 80dB NA e promediação de até 2000 estímulos/segundo. Observaram-se a presença, a morfologia e as latências absolutas das ondas I, III e V e intervalos interpicos I-III, III-V e I-V. Analisaram-se os resultados e compararam-se os valores de normalidade estabelecidos por Gorga e colaboradores⁽¹⁰⁷⁾.

Para a pesquisa dos PEAC, aplicaram-se 150 estímulos acústicos *tone burst*, monoaurais a uma taxa de 0,7 estímulos/segundo, que diferiram quanto à frequência (estímulo frequente de 1000 Hz e raro de 2.000 Hz). A janela de análise foi de 540 ms, com ganho de 86 dB, tempo de *rise-fall* de 10 ms, platô de 100 ms e filtros passa-banda de 0,83 e 33 Hz.

Os estímulos frequentes ocorreram 80% das vezes e os raros, em 20%, em sequência aleatória, técnica conhecida como paradigma *Oddball* ⁽³⁶⁾ (Figura 7), com discriminação de duas frequências tonais.

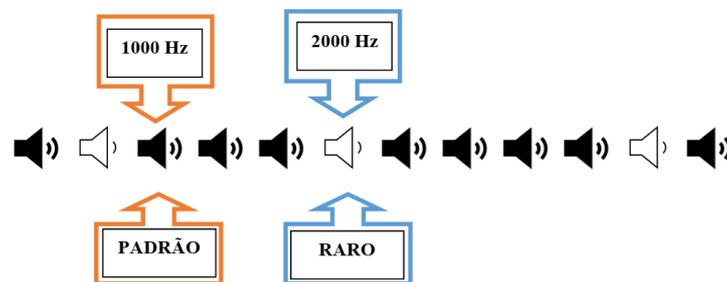


Figura 7 - Desenho esquemático do paradigma Oddball Auditivo
Fonte: Elaboração da autora.

5. 8 AVALIAÇÃO DO NEURODESENVOLVIMENTO

A avaliação do neurodesenvolvimento foi realizada através da aplicação do protocolo *Bayley Scales of Infant Development- Screening* (BINS) (Figura 8), por profissionais da equipe multidisciplinar (médico, enfermeiro ou fisioterapeuta) do estudo ZIP, devidamente habilitados.



Figura 8 - Kit do Bayley Scales of Infant Development - BSID III
Fonte: Manual BSID III⁽¹¹¹⁾

A escala BINS avaliou o desempenho da criança nos domínios: cognitivo, linguagem (expressiva e receptiva) e motor (fino e grosso). O resultado da triagem classificou o risco da criança para cada item testado, de acordo com o escore bruto em “Competente” ou baixo risco, “Emergente” ou risco moderado e “Em Risco” ou alto risco.

5.9 ORGANIZAÇÃO E ANÁLISE DOS DADOS

Os dados foram importados do RedCap e processados para tratamento e geração dos resultados a partir do ambiente de programação computacional R *Development Core Team* (2009), versão 4.0.2, cuja versão encontra-se em livre acesso e disponível gratuitamente (www.r-project.org/).

Empregaram-se técnicas estatísticas para descrição das frequências simples de todas as variáveis qualitativas categóricas de interesse. Essas descrições foram apresentadas em forma de gráficos e tabelas, com as medidas estatísticas apropriadas.

Em seguida, com intuito de verificar associações estatisticamente significantes entre as variáveis de desfechos, de acordo com a exposição, realizou-se a análise bivariada por meio do teste Qui-quadrado de Pearson (χ^2) ou teste exato de Fisher, adotando-se o nível de 5% de significância.

Para as variáveis contínuas, estimaram-se médias e desvio padrão; adicionalmente, utilizou-se o teste t na comparação das médias das latências e amplitudes dos componentes do potencial cortical por grupos e, para a análise das respostas comportamentais da avaliação da localização sonora, utilizou-se análise de variância (ANOVA). O teste de Tukey foi utilizado como pós-teste para comparação das médias duas a duas, sendo considerados como estatisticamente significantes valores de $p < 0,05$.

Por fim, examinou-se o poder preditivo de um conjunto de covariáveis, através do modelo de regressão linear múltiplo para estimar os parâmetros da regressão. Adotou-se o critério de *stepwise* para seleção do melhor modelo, o que permitiu avaliar a contribuição das variáveis ou dependência entre as observações.

6 RESULTADOS

Os resultados a seguir, serão apresentados em forma de dois artigos expandidos, tratando do objeto desta pesquisa, ainda não submetidos a periódicos. A formatação segue as orientações do Programa de Pós-graduação e Processos Interativos dos Órgãos e Sistemas, do Instituto de Ciências da Saúde, da Universidade Federal da Bahia.

6.1 ARTIGO I

POTENCIAL AUDITIVO CORTICAL EM CRIANÇAS COM EXPOSIÇÃO PRESUMIDA AO ZIKA VÍRUS DURANTE A GESTAÇÃO

Introdução

Algumas infecções no ciclo gravídico-puerperal podem ter um grande impacto no neurodesenvolvimento de crianças, pela característica neurotrópica de alguns agentes infecciosos, que atacam as células progenitoras do tecido nervoso do feto.^(7-9, 16, 27) Alterações na via auditiva em crianças expostas nem sempre são diagnosticadas no período pós-natal imediato, podendo apresentar-se de forma tardia ou progressiva, independentemente do período de exposição gestacional.^(18-20, 27, 60, 66, 67, 74, 75, 90)

A infecção congênita pelo zika vírus (ZIKV) tem um espectro variado de alterações auditivas já descrito em diversos artigos.^(19, 20, 69, 70) Todavia, uma revisão integrativa que compilou e analisou as evidências disponíveis admite que as alterações de origem central ainda não estão bem esclarecidas nessa população.⁽¹⁸⁾

Estudos destacam que lactentes expostos a infecções congênitas intraútero, sintomáticos ou não, mesmo com resultados compatíveis com integridade da função coclear ao nascimento, estão suscetíveis a perdas auditivas tardias ou distúrbios do desenvolvimento auditivo.^(60, 67) Tais alterações podem prejudicar as etapas de maturação auditiva durante o primeiro ano de vida, o que pode repercutir negativamente no processo de aquisição da linguagem oral.^(27, 42, 49)

Nesse sentido, a avaliação eletrofisiológica de estruturas acima do tronco encefálico, tais como regiões talâmicas, córtex auditivo e áreas de associação pode complementar a avaliação auditiva de crianças de risco, utilizando-se os potenciais de longa latência (PEALL).

Os PEALL ocorrem entre 80 e 750 ms após a estimulação acústica e refletem a atividade neuroelétrica da via auditiva, nas regiões do tálamo e córtex auditivo, estruturas responsáveis pela função de discriminação, de integração e atenção, fornecendo informações sobre o funcionamento sistema nervoso central (SNC).^(33, 41)

Estudos recentes demonstram o crescente interesse pelos componentes exógenos do PEALL, representados pelas ondas do complexo P1-N1-P2-N2, também chamados de potencial cortical (PEAC) ou potencial sensorial.^(30, 37, 40, 91, 94, 112) Os PEAC são obtidos pela estimulação acústica tonal ou com estímulos de fala que provocam atividades bioelétricas, nos diversos estágios da via auditiva, e mensuram a atividade cortical envolvida nas habilidades de discriminação, integração e atenção ao som.⁽⁴⁷⁾ Por se tratar de um potencial que reflete o uso funcional do estímulo acústico, demarcando o início do processamento cortical, tem beneficiado a investigação qualitativa da integridade da via auditiva central, principalmente nas populações infantis.^(30, 38, 41, 113)

Uma das suas aplicações em lactentes é o estudo da maturação auditiva.⁽¹¹⁴⁾ Estudos experimentais com crianças reabilitadas com implante coclear confere ao teste, principalmente ao componente P1, o *status* de biomarcador fisiológico das habilidades linguísticas. Em crianças surdas, usuárias de implante coclear, observou-se que, entre três a oito meses após a ativação do dispositivo, a latência do componente P1 atinge os valores de normalidade. Ou seja, a bioeletrogênese que ocorre nas vias auditivas centrais, após a ativação do implante, pode ser monitorada à medida em que há um aumento nos diversos estímulos sensoriais relacionados às habilidades comunicativas e à percepção dos estímulos de fala.^(30, 115)

Autores que utilizaram estímulos de frequência para avaliação do PEAC em crianças de 12 meses, observaram que os resultados encontrados nessa idade podem ser equivalentes aos encontrados em crianças em de três a oito anos de idade. Esses achados fornecem evidências de que os processos auditivos que antecedem o desenvolvimento da linguagem já podem ser observados em lactentes.⁽³⁰⁾ Desta forma, a análise do complexo de ondas P1-N1-P2-N2 em crianças pequenas pode funcionar como biomarcador de desfechos adversos para linguagem, principalmente em crianças de risco.

Alterações na neurocondução dos estímulos acústicos, seja na velocidade, nos processos inibitórios ou excitatórios ou na distorção da informação sonora, podem causar alterações na aquisição e no desenvolvimento da linguagem.⁽¹¹⁶⁾

Os componentes do PEAC, pela sua característica de biomarcador da neuromaturação cortical, podem indicar um comprometimento ao longo da via auditiva, mesmo antes da fase linguística, os quais, muito provavelmente, não seriam diagnosticados precocemente sem uma avaliação funcional.^(48, 116, 117)

Este estudo visa contribuir com informações acerca da função auditiva cortical de crianças com exposição presumida ao ZIKV, tendo em vista a abordagem de estudos recentes que descrevem falhas no neurodesenvolvimento dessa população, especialmente no domínio da linguagem.^(12, 14, 118-120) É possível que crianças com piores desempenhos em testes que avaliam o risco para neurodesenvolvimento tenham déficits sensoriais ligados ao processamento do estímulo acústico, resultando em atraso no desenvolvimento da fala e da cognição.

Visto que o diagnóstico precoce permite o direcionamento, o planejamento e a introdução de medidas terapêuticas, prevenindo agravos e possibilitando a melhoria da qualidade de vida da criança e da família,⁽⁴²⁾ o objetivo deste estudo foi comparar as latências e amplitudes dos componentes exógenos do PEAC de crianças com e sem exposição presumida ao ZIKV.

Material e Métodos

Estudo transversal e prospectivo, de caráter exploratório, analítico, baseado em uma amostra aleatória simples representativa de uma coorte observacional do *Estudo internacional de coorte prospectivo observacional do zika em crianças e gestantes (Estudo ZIP)*, aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa CAEE n.º 56673616.3.1001.5269. Os dados são referentes aos participantes do centro de Salvador-BA, desenvolvido entre agosto de 2016 e junho de 2019.

Participaram do estudo crianças que compareceram para a visita de 12 meses do Estudo ZIP, sem notificação de fatores de risco para perda auditiva, exceto exposição presumida ao ZIKV. Todas com perímetro cefálico ≤ 2 desvios padrão, classificado como normal ao nascimento para a idade gestacional e sexo, segundo o *Intergrowth-21st*.⁽¹²¹⁾

Foram excluídas crianças identificadas no pré-natal com exposição a TORCHS (*Toxoplasma gondii*, *Treponema pallidum*, rubéola, citomegalovírus e herpes simplex), vírus varicela-zoster, vírus Epstein-Barr, vírus da imunodeficiência humana ou outra condição considerada fator de risco para perda auditiva pelo *Joint Committee on Infant Hearing*.⁽⁷³⁾

Previamente aos exames, realizou-se inspeção do conduto auditivo externo com otoscópio da marca Welch-Allyn® para verificar a presença de possíveis obstruções ou alterações que pudessem interferir nos procedimentos. Para confirmar a integridade coclear e da via auditiva do tronco encefálico, realizaram-se testes de emissões otoacústicas por transientes e potencial evocado auditivo de curta latência em ambas as orelhas.

O PEAC foi realizado com o equipamento Eclipse EP-25 da *Interacoustics*® com dois canais, fones de inserção *earstone* 3A e eletrodos descartáveis posicionados após a limpeza da pele com pasta abrasiva, de acordo com o Sistema Internacional 10-20, posicionados no Vértex (Cz), mastoide direita (A2) e esquerda (A1) e o eletrodo terra na glabella, aceitas impedâncias máximas até 5 KOhms.

O registro foi obtido monoauralmente em duas varreduras para garantir a reprodutibilidade. Utilizou-se o estímulo *tone burst* que diferiu em frequência, sendo 1000 Hertz (Hz) para o estímulo padrão e 2000 Hz para o estímulo raro apresentados a uma taxa de 0,7 estímulos/segundo, com janela de análise de 540 milissegundos (ms), ganho de 86 decibel, tempo de *rise-fall* de 10 ms, platô de 100 ms e filtros passa-banda de 0,83 e 33 Hertz. Os estímulos padrão ocorreram 80% das vezes e os raros em 20%, em sequência aleatória, técnica conhecida como paradigma *oddball*.⁽³⁶⁾

As crianças estavam em vigília e no colo do acompanhante. Como recurso facilitador foi utilizado um *notebook* com desenhos animados da preferência da criança, suprimindo-se o som. Condições de ruído interno e externo foram controladas.

O desenvolvimento das habilidades auditivas de localização sonora foi avaliado utilizando-se um sino pequeno com nível de pressão sonora considerado de média intensidade (aproximadamente 62,1 dB nível de audição), apresentado na localização lateral, para baixo e para cima. Os resultados foram categorizados de acordo com o tipo de resposta evolutiva para a idade em acima, adequado e abaixo do esperado, conforme descrito por Northern e Downs.⁽²¹⁾

Dados sociodemográficos, história pré, peri e pós-natal e resultados sorológicos dos exames para zika vírus e TORCHS foram extraídos do banco de dados Redcap (*Research Electronic Data Capture*), preenchido ao longo de todo Estudo ZIP pelos profissionais responsáveis pelo pré-natal e pelo acompanhamento pediátrico.

Resultados

Participaram do estudo 222 crianças normocefálicas, média do perímetro cefálico de 34,3 cm (mínimo de 29,0 e máximo de 38,0 cm), com idades entre 12 e 20 meses, média de 15 e desvio padrão de 2,1 meses. A maioria dos participantes foi avaliada em única visita e duas crianças não concluíram o potencial cortical, mesmo após uma ou duas tentativas. A taxa de soroconversão entre as gestantes para ZIKV foi de 20,72% (n=46).

A Tabela 1 apresenta as características maternas e sociodemográficas. Trata-se de uma população residente no bairro de Pau da Lima e adjacências, bairro populoso de Salvador-BA, área endêmica dos vírus zika e dengue.

Tabela 1 - Características sociodemográficas e maternas estratificadas pelo resultado de soroconversão (IgM+ para ZIKV) aferido por teste imunoenzimático de captura de imunoglobulina da classe M (MAC-ELISA)

Variáveis	Positivo		Negativo		P-valor
	n	%	n	%	
Idade materna					
até 21 anos	5	29,4	12	70,6	0,709
22-30 anos	23	20,9	87	79,1	
Acima de 30 anos	18	20,7	69	79,3	
Primíparas					
Sim	22	19,6	90	80,4	0,689
Não	24	21,8	86	78,2	
Número de consultas pré-natal					
De 5 a 8	15	33,3	30	66,7	0,019
Acima de 8	31	17,5	146	82,5	
Escolaridade materna*					
Fundamental Incompleto/completo	6	26,1	17	73,9	0,555
Médio Incompleto/completo	28	19,0	119	81,0	
Superior Incompleto/completo	12	23,1	40	73,9	
Renda Familiar (Salários-mínimos)					
Até 1	14	17,7	65	82,3	0,661
De 1 a 2	21	32,3	69	76,7	
Entre 2 e 3	10	22,8	32	76,2	
Acima de 3	0	0	9	100	

Fonte: Dados da pesquisa.

Legenda: Escolaridade agrupada em graus completos e incompletos, Salário-mínimo vigente à época do nascimento das crianças R\$937,00), IgM - Imunoglobulina M, ZIKV – Vírus zika, MAC-ELISA – Teste imunoenzimático de captura de imunoglobulina da classe M

A Tabela 2 apresenta as características gestacionais, medidas antropométricas e clínicas dos participantes estratificada pelo critério de exposição.

Tabela 2 – Características gestacionais, antropométricas e clínicas das crianças estratificadas pelo resultado de soroconversão por detecção de anticorpo anti-ZIKV (IgM+ para ZIKV)

Variáveis	Positivo		Negativo		P-valor
	n	%	n	%	
Idade Gestacional					
Pré-termo	2	28,6	5	71,4	0,588
Termo	43	18,9	170	79,8	
Sexo do bebê					
Feminino	25	21,4	87	77,7	0,553
Masculino	21	17,5	89	80,9	
Peso					
Baixo peso (< 2.500g)	2	20,0	8	80,0	0,996
Normal (>2.500 < 4.000g)	41	20,8	156	79,2	
Macrossômico (>4.000g)	3	20,0	12	80,0	
Apgar 1º minuto					
Abaixo de 7	6	20,7	23	79,3	0,996
Acima de 7	39	20,9	148	79,1	
Apgar 5º minuto					
Abaixo de 7	3	50,0	3	50,0	0,074
Acima de 7	42	20,0	168	80,0	
Desenvolvimento Auditivo					
Adequado a Idade	24	19,5	86	80,5	0,369
Abaixo do esperado	14	27,5	37	72,5	
Acima do esperado	8	16,7	40	83,3	

Fonte: Dados da pesquisa.

Legenda: IgM - Imunoglobulina M, ZIKV – Vírus zika

A Tabela 3 descreve a comparação entre as médias das latências e as amplitudes do potencial evocado auditivo cortical estratificadas pelo resultado da soroconversão por detecção de anticorpo anti-ZIKV (IgM+ para ZIKV).

Tabela 3 - Latências e amplitudes do PEAC de acordo com a soroconversão durante a gestação (IgM+ para ZIKV).

PEAC	IgM+	Latência (ms)		P-valor	Amplitude (μ V)		P-valor
		Média	DP		Média	DP	
P1	Sim	129,96	24,8	0,000	5,7	3,8	0,533
	Não	116,63	21,0		5,8	3,7	
N1	Sim	158,70	26,5	0,000	4,4	2,6	0,438
	Não	144,22	23,6		5,0	3,2	
P2	Sim	197,27	28,7	0,276	4,5	2,8	0,010
	Não	191,90	29,7		5,2	3,0	
N2	Sim	233,86	39,1	0,119	4,7	2,5	0,703
	Não	224,16	36,1		4,8	3,4	

Fonte: Dados da pesquisa.

Legenda: ms – milissegundo, μ V – Microvolt, DP – Desvio Padrão, ZIKV – zika vírus, IgM – Imunoglobulina M

As Figuras 1 e 2 descrevem as médias das latências e amplitudes do potencial evocado auditivo cortical de acordo com a exposição presumida ao ZIKV, respectivamente.

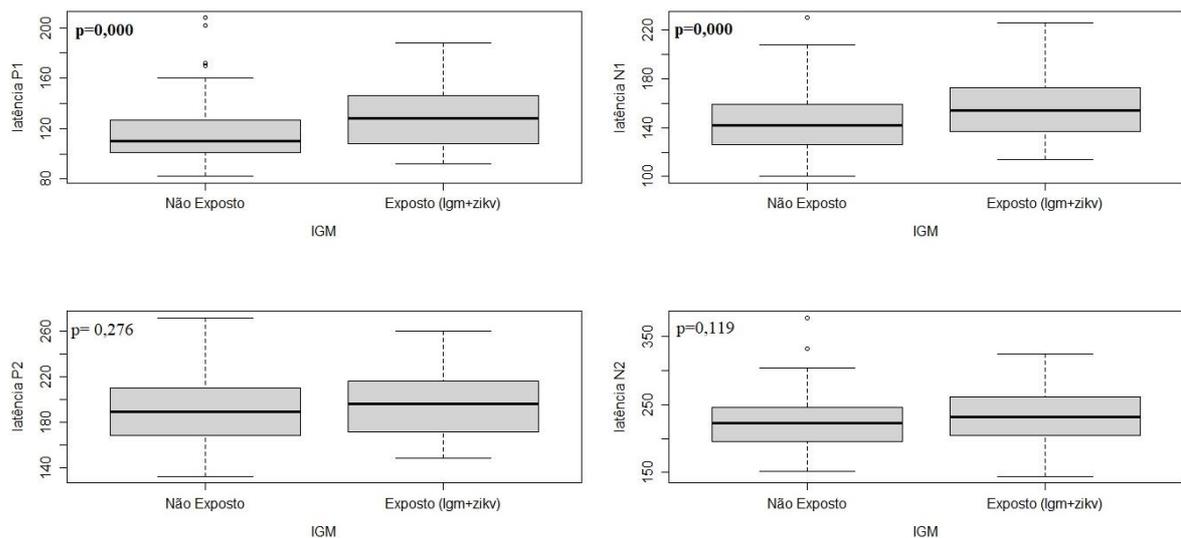


Figura 1- Latências dos PEAC de acordo com a exposição presumida ao zika vírus.

Fonte: Dados da pesquisa.

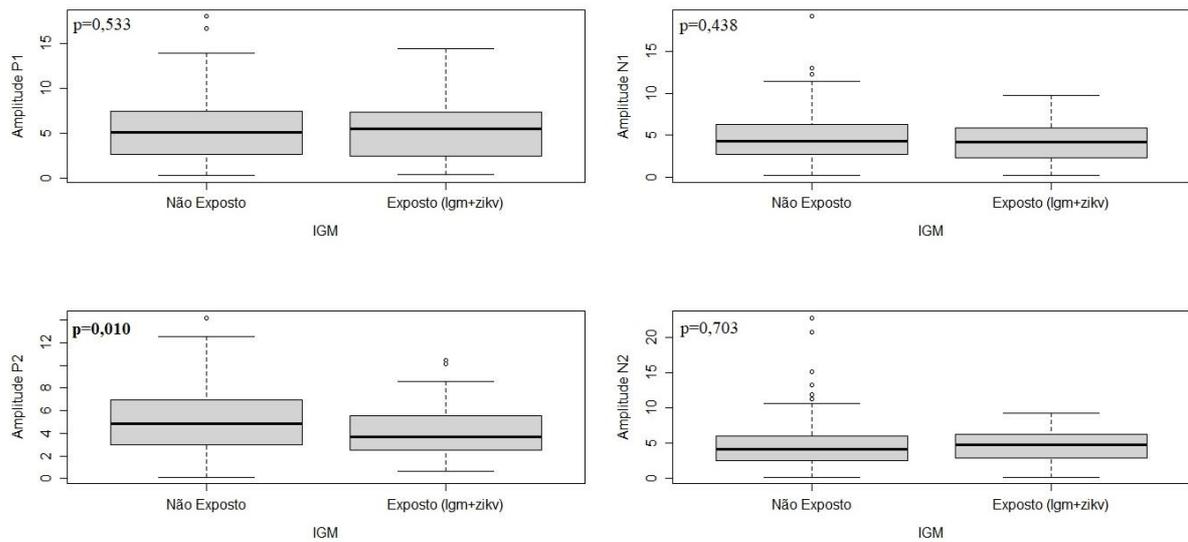


Figura 2 - Amplitude dos PEAC de acordo com a exposição presumida ao zika vírus.

Fonte: Dados da pesquisa.

A Tabela 4 apresenta os resultados referentes à maturação das respostas auditivas para a localização sonora classificada de acordo com a resposta evolutiva para a idade.

Tabela 4 - Latências e amplitudes do potencial cortical de acordo com as respostas evolutivas comportamentais da avaliação da localização sonora.

Resposta de Localização Sonora							
PEAC	Respostas N=222	Latência (ms)		P-valor	Amplitude (μ V)		P-valor
		Média	DP		Média	DP	
P1	Abaixo	128,6	26,3	0,001	5,9	3,3	0,520
	Adequado	117,7	22,5		5,9	3,9	
	Acima	113,0	13,7		5,4	3,4	
N1	Abaixo	155,4	28,2	0,009	5,6	3,6	0,123
	Adequado	146,0	25,0		4,8	2,8	
	Acima	140,7	17,3		4,5	3,2	
P2	Abaixo	200,4	29,8	0,037	5,1	3,0	0,891
	Adequado	192,7	29,2		5,2	3,0	
	Acima	185,2	28,4		4,9	2,7	
N2	Abaixo	234,0	42,1	0,134	5,1	3,4	0,608
	Adequado	225,4	36,0		4,7	3,3	
	Acima	219,2	32,2		4,4	2,7	

Fonte: Dados da pesquisa.

Legenda: ms – milissegundo, μ V – Microvolt, DP – Desvio Padrão

Os participantes apresentaram características gestacionais e clínicas homogêneas em relação a sexo, idade gestacional, perímetro cefálico e idade da avaliação, de forma que a análise bivariada não mostrou associação entre as médias das latências ou amplitudes. Também não houve relação entre as médias das latências e amplitudes para variáveis sociodemográficas e maternas, tais como: idade materna, escolaridade, renda familiar ou o fato de serem primíparas.

O peso ao nascimento teve associação com as latências médias dos componentes P1 ($p=0,013$), N1 ($p= 0,022$), P2 ($p= 0,020$) e N2 ($p=0,019$). Crianças nascidas com peso <2.500 gramas apresentaram latências maiores que aquelas com peso normal ou macrossômicas, independente da exposição.

Na análise entre as latências do PEAC e o Apgar, verificou-se associação com o Apgar <7 no 5º minuto para as latências dos componentes P1 (0,009), N1 ($p=0,005$), P2 ($p=0,052$) e N2 ($P= 0,005$), independente do critério de exposição. As latências para o Apgar <7 no 1º minuto no grupo de expostos foram maiores do que as latências do não expostos, embora sem significância estatística. As amplitudes não tiveram associação com as diversas covariáveis, exceto para o componente P2 do PEAC, onde o grupo não exposto apresentou amplitudes maiores que o grupo com IgM+ para ZIKV.

Discussão

Os componentes do PEAC P1-N1-P2-N2 estiveram presentes em todas as crianças avaliadas e as médias das latências foram maiores no grupo com exposição presumida ao ZIKV, com significância estatística para P1 e N1. Os componentes P1-N1 são considerados os potenciais mais predominantes em neonatos e em crianças até os três meses e estão associados à maturação da via auditiva e detecção da fala a nível cortical.^(31, 114)

Aumento nas latências do complexo P1-N1 indicam alteração em estruturas corticais responsáveis pela qualidade da informação acústica. A geração dessas respostas é atribuída ao córtex auditivo primário e estão intimamente ligadas à percepção da fala.^(41, 122) Embora certas características acústicas do som já possam ser diferenciadas pelo feto na 26ª semana de gestação⁽²¹⁻²³⁾, os componentes corticais responsáveis por processar, analisar, decodificar e integrar a mensagem sonora não estão completamente maduros ao nascimento.^(32, 122, 123) As experiências sonoras e as diferenciações contínuas do sistema nervoso central, concomitante à mielinização da via cortical, é que vão conferir o desenvolvimento das habilidades auditivas tão necessárias ao desenvolvimento da linguagem oral.⁽¹²³⁾

A habilidade de localizar a fonte sonora, detectar a fala, compreender, discriminar e reconhecer estímulos acústicos está intimamente ligada à capacidade do sistema nervoso central em utilizar a informação auditiva de forma eficiente e efetiva.⁽¹²⁴⁾ Os marcos da maturação auditiva referentes à resposta de localização sonora, presentes em 95% das crianças com audição normal^(21, 34), completam-se aos 24 meses de vida, quando a criança deve localizar uma fonte sonora audível em qualquer azimute.⁽²¹⁾ No presente estudo, 25% das crianças com exposição presumida ao ZIKV apresentaram respostas para o desenvolvimento das habilidades auditivas abaixo do esperado para idade.

De forma complementar e em consonância com a premissa de que atrasos na localização da fonte sonora podem comprometer a maturação dos comportamentos auditivos, verificou-se que as crianças com habilidade de localização sonora abaixo do esperado para a idade tiveram maiores latências para o complexo P1-N1-P2 do que aquelas com o desenvolvimento adequado ou acima para a idade.

A análise de variância das respostas de localização sonora mostrou diferença estatisticamente significativa entre as latências médias para P1-N1-P2, componentes relacionados a processos neurais de percepção da fala.⁽⁴¹⁾ Como são passíveis de registro desde o nascimento^(30, 40, 41), esses componentes podem prever não apenas a maturação do sistema auditivo cortical, mas possíveis alterações na formação do sistema linguístico da criança precocemente.

Não obstante, atribui-se alto valor clínico ao desenvolvimento da resposta à localização sonora, pela sua forte correlação com os marcos do desenvolvimento global da criança nos primeiros dois anos de vida.^(21, 34, 96) A fase neonatal e a primeira infância são períodos de grandes mudanças nas estruturas auditivas, no que diz respeito tanto à eficiência, quanto à qualidade do processamento do sinal acústico, quando ocorre a aquisição da linguagem receptiva e expressiva.⁽¹²³⁾ Concomitantemente, o crescimento e aprimoramento das habilidades auditivas refletem o desenvolvimento contínuo do cérebro e das áreas de associação.⁽¹¹⁶⁾

Paralelamente ao desenvolvimento auditivo, a maturação do SNC e a experiência cultural são responsáveis pelas mudanças nos comportamentos adaptativos e no aumento dos domínios de desenvolvimento da criança.⁽⁹⁶⁾ Ambos dependem de fatores biológicos e contextuais⁽⁴²⁾, representados por dois importantes processos: a maturação e a interação com o meio, que devem ser considerados pelo examinador na avaliação.

Adicionalmente, a redução da latência e o aumento das amplitudes relacionadas ao aumento da idade são descritas em estudos de potenciais de curta, média e longa latência.^(30, 38, 39, 112) Todavia, não houve associação entre a idade de realização do teste e as latências e amplitudes do PEAC na população estudada, provavelmente pela pequena variação etária entre os participantes, que foi de 15 meses com desvio padrão de 2,1.

Entretanto, as latências obtidas para os diversos componentes do PEAC para o grupo não exposto foram consistentes e compatíveis com a faixa-etária e estão de acordo com achados de autores que estudaram os PEAC em crianças típicas.^(30, 39)

O grupo não exposto apresentou amplitudes maiores do componente P2 que o grupo com IgM+ para ZIKV, com diferença estatisticamente significativa. Pesquisadores da área relacionam a amplitude de P2 com a função de discriminação auditiva,⁽⁴¹⁾ refletindo o aumento da sincronia neural à medida que melhora a percepção da fala.⁽¹²⁵⁾

Um estudo com magnetoencefalografia demonstrou aumento na amplitude de P2 após o treinamento auditivo com estímulos de fala. Os autores atribuíram o aumento da amplitude de P2 a mudanças na atividade neural, associada ao processo de aquisição e não ao resultado da aprendizagem em si.⁽¹²⁵⁾ É possível que as crianças com amplitudes maiores de P2 tenham um ambiente mais favorável para a estimulação linguística e estejam em processos mais adiantados de desenvolvimento da linguagem oral.

As mudanças na latência, morfologia das ondas e amplitude das respostas com o avanço da idade, comumente, estão associadas à maturação da estrutura da substância cinzenta e branca, relativas à eficiência sináptica e às mudanças maturacionais da camada cortical.⁽⁹²⁾

Anormalidades do desenvolvimento cortical podem ocorrer por fatores genéticos ou ambientais.⁽¹²⁶⁾ Diversos estudos descreveram interferências dessas variáveis nos processos maturacionais e desfechos adversos sensoriais, motores ou cognitivos associados a problemas perinatais, como prematuridade, baixo peso, hipóxia neonatal e necessidade de cuidados em unidade de terapia intensiva.^(37, 48, 75, 76, 91, 113)

No presente estudo, 13% das crianças tiveram Apgar abaixo de 7 no 1º min e 2,7% permaneceram com o índices abaixo de 7 no 5º min. Para ambos os grupos as latências do PEAC foram maiores para índices < 7, tanto no 1º minuto, quanto no 5º, sendo que, para

aqueles que permaneceram com índices <7 no 5º minuto, as latências foram ainda maiores, refletindo uma lentificação na promediação do sinal acústico.

Crianças com menor peso ao nascimento e Apgar <7 no 5º minuto tiveram latências maiores, independente da exposição, corroborando outros estudos que descrevem intercorrências neonatais como preditivo de alterações corticais e do neurodesenvolvimento.^(37, 46, 49, 91, 127)

Um estudo longitudinal observou que 30% das crianças com Apgar abaixo de 7 no 5º minuto apresentaram atraso em todos os domínios de desenvolvimento avaliados pelo protocolo *Denver Developmental Screening Tool 2nd-Ed*, sendo que o desenvolvimento motor foi afetado de modo mais significativo.⁽¹²⁷⁾

Em outro estudo, as latências médias dos PEAC de bebês prematuros foram maiores em comparação com o de bebês a termo, permanecendo a diferença entre as médias durante o primeiro ano de vida. Os autores também observaram correlação entre as médias das latências e as médias dos escores do neurodesenvolvimento aos dois anos de idade, avaliado com a Escala Bayley -III⁽⁹⁸⁾, sugerindo um risco aumentado de disfunção cognitiva em crianças nascidas prematuramente.⁽⁴⁸⁾ No presente estudo, não houve correlação entre a idade gestacional e as latências ou amplitudes do PEAC. Vale ressaltar que apenas sete crianças (3%) foram consideradas pré-termo, sendo todas com idades gestacionais superiores a 34 semanas, consideradas prematuras tardias.

O interesse em estudar preditores de distúrbios sensoriais, cognitivos, motores, de aprendizagem entre outros, não é recente. Há mais de 25 anos, um estudo de coorte na Holanda associou o baixo desempenho escolar de crianças de cinco a nove anos a fatores de risco perinatais.⁽¹¹⁷⁾ Desfechos como atraso de linguagem, déficits de aprendizagem, baixa concentração e atenção reduzida foram associados em diversos estudos a anormalidades neurológicas neonatais.^(48, 117)

Por outro lado, certas infecções do ciclo gravídico-puerperal também podem resultar em uma miríade de desfechos adversos para o conceito.^(20, 52, 55, 58, 128) Na atualidade, muito se discute sobre o desenvolvimento de crianças com exposição gestacional ao ZIKV e o espectro de condições mórbidas resultantes de quadros mais leves, especialmente sobre as sequelas não detectadas ao nascimento.^(12-15, 24, 118, 119) 20,72% (n=46).

Uma em cada cinco mulheres tiveram soroconversão para ZIKV, caracterizada pela presença de anticorpos IgM no período gestacional, na presente amostragem (20,72%). A soroconversão foi detectada em amostras de sangue coletadas mensalmente, durante as consultas do pré-natal e testadas através do MAC-ELISA, teste qualificado pelo CDC. A elevada proporção de soroconversão justifica-se por se tratar de crianças nascidas de uma coorte de gestantes acompanhadas durante o ano de 2016, quando o vírus zika ainda circulava na Bahia, com uma taxa de 331,4/100 mil hab. e registro e 50.629 casos suspeitos⁽¹²⁹⁾

Para confirmação da infecção, testes moleculares para detecção do RNA viral foram realizados na amostra de sangue cujo IgM para ZIKV testou positivo e na amostra coletada na consulta do mês anterior, além da urina dos dois períodos, entretanto, não houve resultados positivos nas amostras testadas.

Nesse sentido, é preciso considerar que diagnóstico sorológico em áreas endêmicas de outras arboviroses, como a dengue, põe em dúvida a exposição ao ZIKV por causa das reações cruzadas e pelo fato de os exames moleculares restringirem a janela do diagnóstico diferencial à fase aguda.^(130, 131)

Sem dúvida, a dificuldade na confirmação ou exclusão da infecção por ZIKV prejudica o entendimento da história natural da doença e da relação com os desfechos adversos.⁽¹³²⁾ Para a maior confiabilidade na confirmação da exposição não basta um bom teste, mas sobretudo aplicá-lo dentro da janela quando a viremia for maior. Além disso, as infecções pelo vírus zika, mesmo quando sintomáticas, a apresentação clínica, muitas vezes inespecífica, pode tornar o diagnóstico ainda mais desafiador.⁽¹³³⁾

Entre o final de 2015 e maio de 2017, quando o governo brasileiro declarou o fim da Emergência Nacional em Saúde Pública devido ao ZIKV, todas as atenções estiveram voltadas para a síndrome congênita do zika vírus (SCZV). Um espectro de manifestações que, além da microcefalia congênita, incluiu uma série de alterações das estruturas corticais e subcorticais, deformidades, espasticidade, convulsões, irritabilidade, entre outros.^(4, 6, 10, 62) Todavia, neste mesmo período, inúmeras gestantes podem ter sido infectadas silenciosamente, pois estima-se que 80% dos infectados pelo zika vírus sejam assintomáticos.⁽¹³²⁾

Os resultados do presente estudo e os já relatados por outros autores^(12-15, 118-120) sugerem a necessidade de melhor compreender o espectro clínico de crianças com exposição presumida ou confirmada ao ZIKV, consideradas normais ao nascimento, e incluí-las em um programa de avaliação e monitoramento do desenvolvimento.

Um estudo de coorte realizado na Colômbia acompanhou o desenvolvimento de crianças de gestações com provável infecção pelo vírus zika, clinicamente normais ao nascimento, utilizando os critérios clínicos do Centro de Controle e Prevenção de Doenças. Embora os autores não deixem claras as informações sobre as confirmações da exposição para todas as crianças, descreveram um declínio no desenvolvimento neurológico com o aumento da idade, especialmente para os domínios motor e cognitivo.⁽¹⁴⁾ Dois outros estudos que avaliaram o neurodesenvolvimento em crianças normocefálicas, expostas ao ZIKV durante a gestação com e sem confirmação por PCR, encontraram alterações no neurodesenvolvimento nos domínios cognitivo, linguagem e motor.^(17, 120)

No Rio de Janeiro, pesquisadores acompanharam prospectivamente 345 grávidas que manifestaram sintomas leves de infecção presumível por zika vírus durante a gestação. O PCR foi positivo em apenas 53% das gestantes. As taxas de morte fetal foram de 7% em ambos os grupos; os resultados adversos gerais foram 46% entre os filhos de mulheres ZIKV-positivas *versus* 11,5% entre os filhos de mulheres ZIKV-negativas.⁽⁶²⁾

O Brasil ainda convive com as consequências da emergência nacional de saúde pública causada pelo ZIKV. No estado da Bahia, entre outubro de 2015 e julho de 2019, foram notificados 1.934 casos de Microcefalia por Síndrome Congênita do Zika Vírus, conforme dados da Secretaria de Saúde do Estado.⁽¹¹⁾ Entretanto, muitos outros casos considerados suspeitos figuraram no limbo das estatísticas entre a suspeita e a confirmação, seja pela manifestação assintomática estimada em cerca de 80% dos expostos, seja pela dificuldade no diagnóstico diferencial.

Conclusão

As médias das latências dos componentes P1-N1, consideradas preditores do desenvolvimento auditivo e de detecção da fala em nível cortical, são maiores no grupo com exposição presumida ao ZIKV em comparação com não expostos. Crianças com exposição presumida ao vírus zika podem apresentar alterações de linguagem, em função do processamento mais lento do sinal acústico a nível cortical.

Observou-se no presente estudo que as crianças com maiores médias de latência nos componentes P1-N1-P2 apresentaram respostas abaixo do esperado para a idade nos testes de localização sonora e maturação da via auditiva, independente da exposição. Esses resultados reforçam a importância dos testes comportamentais na avaliação de crianças pequenas. Sendo

uma avaliação simples e de baixo custo como abordagem preliminar nos protocolos de seguimento de crianças com risco para disfunções auditiva e desenvolvimento da fala.

Limitações e Recomendações

Em virtude das interações imunológicas complexas entre os vírus da zika e o da dengue, que podem interferir nos resultados da sorologia, e o fato do testes de PCR não terem confirmado a exposição pela detecção do RNA viral, os resultados obtidos neste estudo devem ser interpretados com cautela.

Embora os métodos de amplificação de ácido nucléico, como o RT-PCR, ainda sejam a principal abordagem diagnóstica devido a sua maior sensibilidade e especificidade^(134, 135), é importante a compreensão de que a viremia se estende a um breve período na fase aguda da doença.^(136, 137) Desta forma, é possível que indivíduos expostos tenham apenas a sorologia como contraprova, visto que a janela para detecção da IgM pode variar de 2 a 12 semanas.

Referências

Ainda estão consolidadas com o texto da tese e serão oportunamente desmembradas.

6. 2 ARTIGO II

RESPOSTAS CORTICAIS AUDITIVAS EXÓGENAS E O NEURODESENVOLVIMENTO EM CRIANÇAS PEQUENAS

Introdução

Um grande desafio para as áreas clínicas que trabalham com puericultura é a identificação precoce de atrasos no neurodesenvolvimento que afetam as funções motoras, cognitivas e de linguagem, sendo as duas últimas mais difíceis de serem identificadas precocemente em nível clínico, sem o auxílio de um instrumento com boa sensibilidade e especificidade.

Testes e escalas de desenvolvimento, quando bem aplicados, facilitam a triagem e o monitoramento do desenvolvimento, bem como possibilitam o diagnóstico precoce, evitando que o tratamento ou a reabilitação sejam feitos tardiamente. Na atualidade, existem diversos instrumentos que se propõem a identificar recém-nascidos de risco, dentro de programas de acompanhamento do crescimento e do desenvolvimento.^(42, 99-101)

A *Escala de Desenvolvimento Infantil* de Bayley, na sua terceira edição (Bayley – III), tem sido a mais utilizada e referenciada na literatura mundial recente e considerada padrão ouro para avaliar o desenvolvimento evolutivo de crianças de um a 42 meses de idade, com e sem deficiências.^(15, 98, 100-103)

Na versão de triagem, a *Bayley Infant Neurodevelopmental Screener* (BINS), também validada no Brasil,⁽¹⁰⁵⁾ avalia crianças de 0 a 24 meses. É descrita como um instrumento de rápida aplicação, baixo custo, alta sensibilidade e propriedades psicométricas robustas para rastrear crianças em risco, com alto índice de confiabilidade.^(100, 101, 105)

Para que o desenvolvimento infantil ocorra de forma plena, é necessária uma boa interação entre os fatores biológicos e ambientais. Estimulações sociais, afetivas e sensoriais também influenciam o desenvolvimento cognitivo, que ocorre concomitantemente à maturação das vias auditivas e ao desenvolvimento da linguagem.⁽¹²⁴⁾

Aspectos nutricionais também guardam forte relação com o neurodesenvolvimento. A Organização Mundial da Saúde (OMS) destaca a importância da nutrição nos primeiros anos de vida e o papel crucial que as práticas alimentares adequadas desempenham na saúde

infantil.⁽¹³⁸⁾ Nos primeiros meses de vida, o aleitamento materno protege a saúde do bebê contra um espectro de resultados adversos.⁽¹³⁹⁾ Taxas de mortalidade significativamente mais altas foram observadas entre crianças que nunca foram amamentadas, em comparação com aquelas que foram amamentadas exclusivamente nos primeiros seis meses de vida e que receberam amamentação continuada após os 6 meses de idade.⁽¹³⁹⁾

Muitos fatores podem interferir no neurodesenvolvimento. O ambiente e as condições pré-natais podem afetar não apenas o número de células, mas também a quantidade e qualidade das conexões entre elas.⁽⁷⁷⁾ Diversos estudos descrevem desfechos adversos em crianças nascidas pré-termo, de baixo peso, pequenas para idade gestacional, com intercorrências perinatais ou expostas a infecções congênitas. (12, 34, 49, 55, 117, 140)

Nos primeiros anos de vida, a audição é um elo fundamental para o desenvolvimento e a aquisição da linguagem oral, representando uma interface importante para a interação com o ambiente. Disfunções auditivas identificadas na infância, congênitas ou adquiridas, podem ocasionar dificuldades no desenvolvimento das habilidades da fala e da linguagem ao longo da vida, o que, por sua vez, pode acarretar grande impacto sobre a comunicação, a cognição, o desempenho escolar, o desenvolvimento emocional e o bem-estar psicossocial⁽²⁵⁻²⁷⁾.

Testes eletrofisiológicos relacionados a eventos, como os potenciais evocados auditivos corticais (PEAC), são capazes de mensurar o tempo que um estímulo leva para percorrer a via auditiva, desde a sua porção mais periférica até o córtex, fornecendo informações sobre os processos neurais responsáveis pela fala.^(41, 89) Refletem a neurofunção da via auditiva nas regiões do tálamo e do córtex auditivo, estruturas que envolvem a discriminação, integração e atenção, atividades corticais dependentes do sistema nervoso auditivo central (SNAC).⁽⁴¹⁾

Cada um dos seus componentes (P1-N1-P2-N2) tem um correlato anatomofisiológico e juntos respondem por marcos neuromaturacionais como descritos: P1- habilidades auditivas de decodificação das características acústicas, (N1), discriminação auditiva (P2) e processamento do estímulo acústico (N2).⁽⁴¹⁾

Este estudo teve como objetivo verificar se os resultados do PEAC de crianças com algum grau de risco para atraso do neurodesenvolvimento diferem dos de crianças com neurodesenvolvimento típico, principalmente para os domínios de linguagem expressiva e receptiva.

Material e Métodos

Estudo transversal, prospectivo e analítico, baseado em uma amostra aleatória representativa de uma coorte observacional do *Estudo internacional de coorte prospectivo observacional do vírus zika em crianças e gestantes (ZIP)*, que acompanhou gestantes e seus conceptos no período de 2016 a 2019. O Estudo ZIP foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa CAEE n. 56673616.3.1001.5269 e parecer n.1.582.767/2016.

Incluíram-se crianças normouvintes, avaliadas previamente com emissões otoacústicas transientes e potencial evocado auditivo de tronco encefálico para garantir a integridade da audição periférica até o tronco encefálico. O PEAC foi realizado com o equipamento Eclipse EP-25 da Interacoustics®, com dois canais e fones de inserção (3A) e eletrodos descartáveis posicionados de acordo com o Sistema Internacional 10-20, no Vértex (Cz), mastoide direita (A2) e esquerda (A1) e o eletrodo terra na glabella. Foram aceitas impedâncias máximas entre 3 e 5 KOhms. A criança permaneceu em vigília, no colo do acompanhante e como recurso facilitador foi utilizado um *notebook* com desenhos animados da preferência da criança, suprimindo o som. As condições de iluminação, ruído interno e externo foram controladas.

O PEAC foi registrado monoauralmente, em duas varreduras para garantir a reprodutibilidade. A pesquisa foi realizada com *tone burst* que diferiu em frequência, sendo 1000 para o estímulo padrão e 2000 Hertz para o estímulo raro apresentados a uma taxa de 0,7 estímulos/segundo, com janela de análise de 600 milissegundos, ganho de 86 decibel, tempo de *rise-fall* de 10 ms, platô de 100 ms e filtros passa-alto de 0,83 HZ e passa-baixo de 33 Hz. Os estímulos padrão ocorreram 80% das vezes e os raros em 20%, em sequência aleatória, técnica conhecida como paradigma *oddball*⁽³⁶⁾

A avaliação do neurodesenvolvimento foi realizada por profissionais habilitados, membros da equipe multiprofissional do Estudo ZIP, através da escala *Bayley Scales of Infant Development- Screening* (BINS). A escala avaliou os domínios cognitivo, linguagem (expressiva e receptiva) e motor (grosso e fino). Os escores brutos de cada domínio classificaram a criança quanto ao risco para alteração do neurodesenvolvimento, nos diversos domínios em baixo, moderado e alto risco.

Resultados

Participaram do estudo 237 crianças com idade média de 15 meses, mínimo de 12 e máximo de 20 meses. A Tabela 1 apresenta as características da genitora e as sociodemográficas.

Tabela 1 - Características da genitora e sociodemográficas

Variáveis	N (237)	%
Idade materna (anos)		
até 21	18	7,6
22 até 30	120	50,6
Acima de 30	91	38,4
Nd	8	3,4
Escolaridade materna*		
Fundamental Incompleto/completo	24	10,1
Médio Incompleto/completo	158	66,7
Superior Incompleto/completo	55	23,2
Renda familiar (Salários-mínimos)		
Até 1	85	35,9
De 1 a 2	95	40,1
entre 2 e 3	45	19,0
Acima de 3	9	3,8
Nd	3	1,2
Primigesta		
Não	120	50,6
Sim	117	49,4
Consultas pré-natal		
5 a 8	47	19,8
Acima de 8	190	80,2
Aleitamento (dias)		
Até 30 dias	11	4,7
>30 < 180	38	16,0
> 180	183	77,2
Nd	5	2,1

Fonte: Dados da pesquisa.

Legenda: Nd – Não disponível, Escolaridade agrupada em graus completos e incompletos, Salário-mínimo vigente (R\$ 937,00)

Na amostra estudada, observou-se uma taxa de soroconversão materna para ZIKV durante a gestação de 19,4%, diagnosticada por teste qualificado pelo Centro de Controle e Prevenção de Doenças (MAC-ELISA) anti-ZIKV. Testes moleculares foram realizados em

amostras de sangue ou urina, coletadas no mês anterior e nas amostras onde foram detectados os anticorpos anti-ZIKV, todos com resultados negativos para o detecção do RNA viral.

A Tabela 2 apresenta informações gestacionais, perinatais e clínicas das crianças.

Tabela 2 - Características gestacionais e clínicas das crianças

Variáveis	N (237)	%
Idade Gestacional		
Pré-termo	7	3,0
Termo	228	96,2
Nd	2	0,8
Sexo do bebê		
Feminino	117	49,4
Masculino	120	50,6
Peso		
Baixo peso (< 2.500g)	10	4,2
Normal (>2.500 < 4.000g)	212	89,5
Macrossômico (>4.000)	15	6,3
Apgar 1º min		
Abaixo de 7	32	13,5
Acima de 7	197	83,1
Nd	8	3,4
Apgar 5º min		
Abaixo de 7	6	2,6
Acima de 7	223	94,0
Nd	8	3,4
STORCH		
Não	231	97,5
Sim	6	2,5
IRDA (JCIH)		
Não	215	90,7
Sim	22	9,3

Fonte: Dados da pesquisa.

Legenda: STORCH - Sífilis, Toxoplasmose, Rubéola, Citomegalovírus e Herpes Simplex. IRDA - Indicadores de Risco para perda auditiva, JCIH - *Joint Committee on Infant Hearing*

As infecções congênicas do grupo STORCH foram assim distribuídas: sífilis (2,5%), toxoplasmose (0,84%), herpes (0,4%), Vírus T-linfotrópico humano (HTLV) (0,4%) e hepatite B (0,4%).

A Tabela 3 apresenta as médias das latências e das amplitudes do complexo P1-N1-P2-N2 do potencial evocado auditivo cortical em função da classificação do risco para alteração do neurodesenvolvimento de acordo com escores brutos de cada domínio da escala

BINS. Crianças com escores abaixo do ponto de corte para risco moderado ou baixo risco foram agrupadas.

Tabela 3 - Latências e amplitudes do potencial cortical em função da condição de risco para atraso do neurodesenvolvimento

BINS		Latências				Amplitudes		
Domínios	Risco	PEAC	Média	Dp	p-valor	Média	Dp	p-valor
Cognitivo	Moderado/Alto	P1	135,7	11,6	0,047*	7,2	2,9	0,267
	Baixo Risco		118,3	22,8		5,7	3,7	
	Moderado/Alto	N1	167,0	12,4	0,030*	6,8	3,7	0,103
	Baixo Risco		146,2	25,1		4,8	3,1	
	Moderado/Alto	P2	216,9	28,1	0,029*	5,0	1,7	0,926
	Baixo Risco		192,0	29,3		5,1	2,9	
Moderado/Alto	N2	253,1	26,9	0,049*	5,3	2,2	0,675	
Baixo Risco		225,2	37,0		4,8	3,3		
Linguagem Receptiva	Moderado/Alto	P1	128,1	24,6	0,019*	6,4	3,7	0,273
	Baixo Risco		117,4	22,1		5,6	3,6	
	Moderado/Alto	N1	154,4	24,0	0,082	6,3	4,5	0,008*
	Baixo Risco		145,6	25,1		4,7	2,8	
	Moderado/Alto	P2	206,1	32,5	0,009*	5,8	2,9	0,140
	Baixo Risco		190,7	28,5		4,9	2,8	
Moderado/Alto	N2	236,0	39,3	0,119	5,4	4,1	0,287	
Baixo Risco		224,5	36,5		4,7	3,1		
Linguagem Expressiva	Moderado/Alto	P1	126,7	23,8	0,032*	6,98	4,3	0,028*
	Baixo Risco		117,4	22,2		5,46	3,4	
	Moderado/Alto	N1	159,7	26,4	0,001*	5,78	3,7	0,075
	Baixo Risco		144,3	24,0		4,73	2,9	
	Moderado/Alto	P2	205,5	29,1	0,007*	5,29	2,1	0,611
	Baixo Risco		190,4	29,0		5,01	2,9	
Moderado/Alto	N2	244,4	38,3	0,002*	6,10	3,8	0,013*	
Baixo Risco		222,5	35,7		4,54	3,1		
Motor Fino	Moderado/Alto	P1	131,6	34,2	0,004*	6,7	4,0	0,171
	Baixo Risco		117,3	20,4		5,6	3,6	
	Moderado/Alto	N1	154,0	33,0	0,148	5,2	3,5	0,654
	Baixo Risco		146,0	23,8		4,9	3,1	
	Moderado/Alto	P2	206,2	36,1	0,022*	6,2	3,5	0,037*
	Baixo Risco		191,2	28,3		4,9	2,7	
Moderado/Alto	N2	243,3	45,6	0,017*	5,1	4,6	0,775	
Baixo Risco		223,9	35,3		4,8	3,1		
Motor Grosso	Moderado/Alto	P1	127,1	34,0	0,133	5,5	2,9	0,791
	Baixo Risco		118,2	21,5		5,7	3,7	
	Moderado/Alto	N1	154,2	35,6	0,241	4,8	3,1	0,282
	Baixo Risco		146,3	24,1		5,5	2,0	
	Moderado/Alto	P2	205,7	35,6	0,081	5,5	2,0	0,385
	Baixo Risco		191,9	28,9		5,0	2,9	
Moderado/Alto	N2	240,4	51,8	0,121	4,4	2,2	0,471	
Baixo Risco		225,0	35,5		4,8	3,4		

Fonte: Dados da pesquisa.

Legenda: BINS - Bayley Infant Neurodevelopmental Screener, PEAC – Potencial Evocado Auditivo Cortical, Dp - Desvio padrão

A Tabela 4 mostra o resultado do modelo de regressão linear que testou o poder preditivo das covariáveis do estudo, tendo como variável dependente as latências dos componentes do potencial evocado auditivo cortical e variáveis independentes aquelas relacionadas às características clínicas, gestacionais e sociodemográficas e à classificação do risco.

Tabela 4 - Modelo de Regressão Linear das latências dos componentes do PEAC (P1-N1-P2-N2) em função das variáveis sociodemográficas e da classificação do risco para o neurodesenvolvimento.

Componentes	Variáveis	Beta	Valor p	IC 95%	
P1	IgM+ para ZIKV	12,43	0,001	5,12	19,74
	Desenvolvimento motor fino	-11,83	0,036	-22,90	-0,75
	Peso ao nascimento	-10,38	0,041	-20,34	-0,42
N1	IgM+ para ZIKV	11,18	0,008	2,91	19,44
	Peso ao nascimento	-14,77	0,010	-26,05	-3,50
	Linguagem Expressiva	-16,03	0,001	-25,44	-6,619
P2	Linguagem Expressiva	-15,27	0,006	-26,09	-4,45
	Peso ao nascimento	-15,42	0,015	-27,84	-3,00
N2	Apgar <7 1º minuto	-16,98	0,026	-31,94	-2,03
	Apgar <7 5º minuto	-45,77	0,002	-74,22	-17,32
	Peso ao nascimento	-21,00	0,006	-36,01	-5,98
	Linguagem Expressiva	-2,63	0,011	-4,66	-0,60

Fonte: Dados da pesquisa.

Legenda: PEAC – Potencial Evocado Auditivo Cortical, IgM – Imunoglobulina M, ZIKV – Zika Vírus, IC – Intervalo de Confiança.

Observou-se que 27,8% das crianças avaliadas tinham pelo menos um dos domínios com algum grau de risco. A análise bivariada não evidenciou relação entre os domínios do Bayley com a idade, escolaridade e atividade laboral da genitora. Entretanto, a renda familiar teve associação com os escores brutos da linguagem receptiva ($p= 0,02$) e com linguagem expressiva ($p= 0,05$).

Não houve associação entre indicadores de risco para perda auditiva e as médias das latências e amplitudes do PEAC. Também não foi observada associação com as médias dos escores da escala BINS.

Correlação estatisticamente significativa foi observada para o domínio de linguagem expressiva com todos os componentes do PEAC. Já a correlação entre os escores dos domínios do Bayley e as latências e amplitudes do PEAC para idade gestacional, peso ao nascimento e perímetro cefálico, quando presentes, foram desprezíveis, abaixo de 0,3.

Embora sem significância estatística, menores médias de latências do PEAC estão relacionadas a um maior o tempo de aleitamento materno. Quando comparado aos domínios do Bayley, a média dos escores brutos é mais elevada para crianças que estiveram em aleitamento por mais tempo, com significância estatística para os domínios de linguagem receptiva ($p=0,017$) e expressiva ($0,034$).

Foram observadas também associação entre a classificação de risco e sexo para os domínios cognitivo ($p=0,025$) e de linguagem ($p=0,050$), com vantagem de desempenho para o sexo feminino. A média dos escores brutos também foram maiores para o sexo feminino em todos os domínios do Bayley, com significância estatística para linguagem receptiva ($p=0,008$) e expressiva ($p=0,041$).

Apenas o domínio motor grosso não apresentou diferenças de média, correlação ou associação, quando comparado a quaisquer variáveis do estudo.

As diferenças entre as amplitudes apresentaram significância estatística para alguns componentes do PEAC, entretanto, foram maiores para os grupos classificados como risco moderado ou alto para o neurodesenvolvimento.

Discussão

Crianças identificadas com risco moderado ou alto para o neurodesenvolvimento apresentaram latências médias maiores em todos os domínios avaliados pela escala BINS. Nos domínios cognitivo e de linguagem expressiva observou-se significância estatística para todos os componentes do PEAC (P1-N1-P2-N2).

As variáveis que mais se correlacionaram com o aumento das latências médias do PEAC foram IgM+ para ZIKV, menor peso ao nascimento e escores menores para o domínio de linguagem expressiva. Estudos que avaliaram crianças expostas ou com exposição presumida ao ZIKV têm relatado alterações no neurodesenvolvimento à medida que as crianças ultrapassam o primeiro ano de vida, mais frequentemente nos domínios de linguagem expressiva e receptiva e cognitivo.^(12, 14, 118) Entretanto, Gerzson et al não encontraram diferenças significantes para o neurodesenvolvimento de crianças com exposição para ZIKV

confirmada por RT-PCR em comparação com crianças não expostas, possivelmente devido ao pequeno número da amostra (17 no grupo exposto e 20 no grupo controle), conforme reconhecido pelos autores.⁽¹⁴¹⁾

Potenciais corticais são correlatos neurofisiológicos da percepção sonora e de processos cognitivos que podem ser utilizados para descrever a neuroplasticidade do sistema auditivo.⁽⁴⁶⁾ Menores escores para o domínio da linguagem expressiva se associaram ao aumento das latência do complexo N1-P2-N2. Considerando a importância desse complexo para o desempenho das habilidades auditivas de atenção, decodificação e discriminação auditiva, é possível que as alterações no desenvolvimento da linguagem oral e de processos cognitivos nessas crianças sejam agravadas, sem uma intervenção reabilitadora.

Com o final da emergência do ZIKV em 2017 e a consequente diminuição dos casos de microcefalia⁽¹¹⁾, o interesse em estudar crianças que nasceram no mesmo período, sem manifestações neurológicas visíveis, com exposição comprovada ou não, aumentou. Os estudos levantam hipóteses de que a síndrome congênita do ZIKV pode ter apresentação, gravidade e prognóstico muito distintos e que a descrição desse amplo espectro de fenótipos clínicos será fundamental para a tomada de decisão no encaminhamento precoce para intervenções de reabilitação.^(14, 16, 124)

Corroboram essa premissa evidências de que a lesão neurológica, associada à exposição fetal ao ZIKV, possa progredir no período pós-natal e evoluir no primeiro ano de vida. Microcefalia, hidrocefalia, problemas oculares pós-natal exemplificam lesões passíveis de não serem detectadas no momento de uma ultrassonografia na gravidez, ou ao nascer, e de se apresentarem com o crescimento.^(13, 14, 142, 143)

O desenvolvimento infantil é um constructo multifatorial que pode ser influenciado por fatores biológicos, ambientais e socioeconômicos.^(59, 144) A cognição, bem como a linguagem e outros domínios do desenvolvimento, podem sofrer prejuízos por intercorrências pré, peri e pós-natais, como prematuridade, baixo peso, complicações no parto e na gravidez, que são apontados por alguns autores como riscos potenciais ao neurodesenvolvimento.^(49, 105, 144, 145)

No presente estudo, as correlações com dados do nascimento e maternos foram fracas ou inexistentes, a exceção da renda que apresentou diferença significativa entre os escores brutos da linguagem receptiva e expressiva. A literatura refere que o baixo nível socioeconômico, a escolaridade materna e a fragilidade nos vínculos familiares podem

interferir no desenvolvimento infantil.^(59, 144) No que diz respeito ao desenvolvimento da linguagem, há evidências de que a aprendizagem e o domínio precoce das unidades fonéticas da linguagem têm correlação com um contexto social favorável.⁽⁸⁹⁾

As características sociodemográficas e gestacionais da população do estudo foram muito homogêneas. Oriundas de uma coorte que teve assistência pré-natal qualificada, com uma média de oito consultas, controle vacinal, monitoramento para morbidades comuns ao período gestacional e orientações em grupos de gestantes, é provável que tanto as intercorrências pré, peri e pós-natais, bem como os desfechos relatados no presente estudo, estejam subestimados se considerarmos a população em geral.

De acordo a Organização Mundial de Saúde (OMS), os determinantes sociais da saúde estão relacionados às condições em que uma pessoa vive e trabalha.⁽¹⁴⁶⁾ Embora pareça reducionista, estão embutidos nesse contexto os fatores sociais, econômicos, culturais, étnicos/raciais, psicológicos e comportamentais, que podem ter uma grande influência em todas as dimensões do processo de saúde das populações.⁽¹⁴⁶⁾

Os resultados do presente estudo mostraram associação entre a renda familiar e os domínios de linguagem receptiva e expressiva. Resultados semelhantes foram encontrados em lactentes de condição socioeconômica mais precária que apresentaram, com maior frequência, atrasos no desenvolvimento global.⁽¹⁴⁷⁾

A associação entre a renda e o desenvolvimento infantil ainda não está bem estabelecida na literatura. Todavia, no que diz respeito à linguagem receptiva e expressiva, vários estudos relataram que famílias com maior nível socioeconômico tendem a interagir mais com seus filhos, promover discursos mais ricos, com estratégias verbais de maior complexidade.⁽¹⁴⁷⁾ Privadas desses estímulos, crianças de famílias de baixa renda e menor nível socioeconômico correm risco maior de atraso no desenvolvimento da linguagem oral.⁽¹⁴⁸⁾

Estudo de grande impacto, realizado nos Estados Unidos na década de 1990, avaliou como a comunicação verbal dos pais com crianças pequenas variava entre famílias com diferentes níveis de educação e *status* socioeconômico. Concluíram que crianças de famílias com menor renda tinham menos interação verbal no início da vida e eram mais propensas a apresentar atraso em habilidades cognitivas e de linguagem, no jardim de infância e no ensino fundamental. Além disso, verificaram que as crianças de famílias com menor nível

socioeconômico ouviam mais expressões desencorajadoras e menor quantidade e variabilidade de palavras.⁽⁸⁶⁾

Outro estudo mais recente comparou a proficiência da linguagem em relação ao aumento do vocabulário entre crianças de 18 a 24 meses, com diferentes níveis socioeconômicos. Os autores verificaram que, aos 18 meses, já é possível prever atrasos na eficiência do desenvolvimento da linguagem de crianças menos favorecidas, em relação aos seus pares mais favorecidos, em vocabulário e compreensão da linguagem.⁽¹⁴⁹⁾ Pesquisadores também verificaram que a quantidade de palavras e de interações que crianças de língua hispânica ouviram em casa, em 18 meses, previram seu vocabulário e as habilidades de compreensão da linguagem seis meses mais tarde.⁽⁸⁷⁾

Outro achado deste estudo foi a associação entre o risco para atraso no neurodesenvolvimento e o sexo, com vantagem para o sexo feminino que obteve escores médios maiores que os meninos em todos os domínios do Bayley, semelhante a outros autores que encontraram escores superiores para o sexo feminino, com idades entre 18 e 24 meses, assim como maior prevalência de distúrbios da fala e da linguagem no sexo masculino⁽¹⁵⁰⁻¹⁵²⁾

Há poucos anos, provavelmente, as deduções sobre diferenças entre gênero seriam interpretadas sob a ótica sociocultural. Atualmente, há evidências de que o cérebro das mulheres e dos homens funcionam e se conectam com determinadas habilidades de forma diferente e apresentam diferenças anatômicas, funcionais e bioquímicas ao longo da vida.^(153, 154) Estudos de percepção, cognição, memória e funções neurais encontraram diferenças aparentes de gênero, atribuídas a fatores genéticos, hormonais e ambientais e não refletindo superioridade para nenhum dos sexos.⁽¹⁵⁵⁾

A duração do aleitamento materno foi elevada na população estudada (71,5%), se comparada aos dados do Ministério da Saúde, os quais constataram um índice 53% de permanência do aleitamento após o primeiro ano de vida, entre crianças brasileiras, no período entre março de 2010 e fevereiro de 2019.⁽¹⁵⁶⁾ O leite materno é rico em nutrientes essenciais para o desenvolvimento e a proteção do recém-nascido nos primeiros meses de vida.^(157, 158) Diferenças no neurodesenvolvimento já foram observadas em estudos sobre a duração da amamentação e a cognição, desenvolvimento motor, fala, linguagem e inteligência.⁽¹⁵⁹⁻¹⁶¹⁾

Verificou-se que as crianças que mamaram por mais tempo tiveram escores brutos mais elevados para a linguagem expressiva e receptiva. O modelo de regressão multivariado,

tendo como variável dependente a duração do aleitamento materno, demonstra que maior idade materna é a variável que melhor explica o tempo no qual as crianças permaneceram em aleitamento. Outros autores, além da idade materna, encontraram relação com maior renda⁽¹⁶²⁾, não verificada no modelo de regressão do presente estudo

A linguagem é considerada o maior biomarcador do desenvolvimento da cognição e está fortemente atrelada ao desenvolvimento auditivo. Comumente, as habilidades envolvidas no processamento auditivo central se desenvolvem em paralelo ou reciprocamente com habilidades de linguagem. Ao nascer, a audição do bebê é reflexa, mas a partir do momento em que é exposta a estímulos auditivos variados há um grande aumento da sinaptogênese e iniciam-se as respostas comportamentais aos sons.⁽²²⁾

Uma evidência da contribuição das vias auditivas corticais para a cognição e para a linguagem oral é que crianças que nascem surdas apresentam ausência das respostas corticais ao nascimento, entretanto, quando estimuladas adequadamente com dispositivos reabilitadores, como os implantes cocleares, os componentes P1-N1 podem ser detectados entre três e nove meses de uso.^(30, 115, 163) Houve correlação também entre o tempo de privação sensorial e o aparecimento do componente P1. Crianças que iniciaram a reabilitação mais tardia tiveram respostas piores para o potencial cortical.⁽¹⁶³⁾

Um estudo com magnetoencefalografia e estimulação auditiva relacionada a eventos, em neonatos e bebês com seis e 12 meses, encontrou evidências de uma vinculação dependente entre o desenvolvimento perceptual e motor da fala. Nos primeiros meses de vida, a área de Broca não é ativada por estímulos de fala, mas com o aumento da idade há uma ativação recíproca e continuada entre as áreas de Broca e de Wernicke.⁽¹⁶⁴⁾

Complementarmente, as experiências auditivas nos primeiros anos de vida auxiliam a organização de processos neuropsicológicos, orgânicos, afetivos e simbólicos. O intervalo entre o nascimento e os dois primeiros anos de vida compreende o período de maior plasticidade neuronal.^(21, 77, 163)

A persistência de deficiências de linguagem em adultos é menos comum do que atrasos mais leves em pré-escolares, que podem ser minimizados com o passar do tempo.⁽¹⁶⁵⁾ Entretanto, é possível que essas crianças sejam futuros adolescentes ou adultos com capacidades linguísticas mais pobres, limitação na comunicação interpessoal ou baixo desempenho acadêmico e profissional.

Destaca-se a associação significativa do componente P1 para todos os domínios do neurodesenvolvimento. O componente P1 é descrito na literatura como um biomarcador de maturação das vias auditivas centrais; maiores latências refletem menor amadurecimento do sistema neural.^(30, 37, 41, 114) Melhores resultados em testes cognitivos e maiores idades gestacionais se correlacionaram com as latências de P1 mais curtas e amplitudes médias mais positivas.⁽⁴⁶⁾ Estes dados estão em acordo com os encontrados no presente estudo, acrescentando uma associação para os demais componentes do PEAC, em relação ao risco para o desenvolvimento cognitivo e da linguagem expressiva.

Há um período sensível de cerca de 3,5 anos, quando o sistema auditivo central humano permanece maximamente plástico. Em algumas crianças essa plasticidade pode ter uma duração até aproximadamente os 7 anos de idade, quando o declínio é mais evidente. Após os 7 anos, a plasticidade é bastante reduzida.^(42, 77, 163) Esses dados ratificam a importância da monitoração e detecção precoce da neuromaturação auditiva em crianças de risco.

Conclusão

Escore menores para a linguagem expressiva estão relacionados a maiores latências do complexo N1-P2-N2, sugerindo que este complexo pode ser utilizado como um biomarcador do risco para o desenvolvimento da linguagem oral, principalmente da linguagem expressiva. Além disso, a utilização dos potenciais corticais parece contribuir para sensibilizar a identificação de crianças em risco para atraso do neurodesenvolvimento, principalmente para os domínios cognitivo e de linguagem expressiva.

A exposição presumida ao zika vírus e baixo peso foram detectados como preditores de maiores latências para o complexo P1-N1. Apesar da exposição não ter sido confirmada por testes moleculares na população estudada, é necessário ampliar o olhar para esta população, especialmente aquelas que foram gestadas em áreas endêmicas e em um período em que havia grande circulação do vírus, como é o caso da população descrita neste estudo.

Limitações e recomendações

Dados sobre os riscos biológicos de saúde geral e ambientais durante o primeiro ano de vida não foram considerados, até a data da avaliação. É possível que os escores do Bayley tenham sido influenciados por outras variáveis não descritas neste estudo.

Em virtude da população do estudo ser originária de uma coorte, cujo objetivo foi estudar o desenvolvimento natural da infecção por zika vírus em gestantes, houve uma grande prevalência de soroconversão detectada para o zika vírus no período gestacional. Como os testes moleculares, considerados testes padrão ouro para identificação do RNA viral foram negativos, não foi possível dimensionar de forma definitiva a interferência do zika vírus nos resultados apresentados.

7 DISCUSSÃO

Os primeiros anos de vida são particularmente importantes, visto que processos vitais de desenvolvimento ocorrem em todos os domínios neurofuncionais, incluindo audição e linguagem.^(32, 48, 87, 96, 149, 163) Anormalidades no desenvolvimento da fala e da linguagem levam a déficits cognitivos que podem comprometer o desempenho psicológico-social e acadêmico da criança. Diversos estudos destacam a importância do uso de um modelo de habilidade de processamento perceptual que possibilite a avaliação de precursores do desenvolvimento da linguagem com base em dados eletrofisiológicos.^(49, 50, 94)

Neste estudo, avaliou-se os componentes exógenos do potencial evocado auditivo de longa latência, também chamado de potencial evocado cortical, os quais podem ser detectados em neonatos e lactentes e não dependem da atenção individual ao estímulo acústico. Esses potenciais representam a capacidade talâmica e cortical de detectar estímulos acústicos.^(30, 41)

Esses componentes formam um complexo sequencial de ondas que fornecem informações sobre a chegada de estímulos auditivos ao tálamo e ao córtex e o início do processamento cortical, indicando se o sinal acústico foi adequadamente recebido no córtex auditivo, tornando-os recursos importantes para avaliação funcional da via auditiva.^(12, 13)

O potencial evocado auditivo cortical se mostrou capaz de detectar alterações da condução nervosa auditiva cortical, em crianças com exposição presumida ao ZIKV, especialmente através dos componentes P1-N1 que são biomarcadores dos processos maturacionais da via auditiva cortical. Corroborando esses achados, observou-se no presente estudo que latências médias maiores estão associadas ao atraso no desenvolvimento da localização sonora. Crianças com o desenvolvimento auditivo abaixo do esperado para a idade apresentaram maiores latências dos componentes P1-N1-P2.

O desenvolvimento e a maturação do sistema auditivo em crianças típicas seguem uma agenda previsível de comportamentos que se iniciam ao nascimento e evoluem até os dois anos de idade, aproximadamente, compondo uma hierarquia de habilidades.^(21, 23, 34) Os componentes P1-N1 são considerados os potenciais mais predominantes em neonatos e em crianças até os três meses e estão associados à maturação da via auditiva e detecção da fala nas estruturas corticais.^(31, 114)

Estudos dedicados à compreensão da neurobiologia e a intersecção com as influências ambientais nos processos de desenvolvimento da linguagem e aprendizagem têm contribuído para a valorização do diagnóstico e da intervenção precoce e o despertar de outras linhas de pesquisa complementares.^(49, 87, 149, 150)

A aplicação de testes de neurodesenvolvimento em crianças pequenas tem ganhado força com a validação de alguns protocolos para o português, como é o caso da Escala Bayley considerada padrão ouro para avaliação e triagem de crianças pequenas.^(105, 111) Os processos da linguagem e da aprendizagem são bastante complexos, envolvem redes de neurônios distribuídas em diferentes regiões cerebrais e se relacionam à percepção da fala, sendo dependentes da integridade auditiva periférica e central.^(42, 82, 83)

A comparação entre as latências do potencial cortical e os escores dos domínios do neurodesenvolvimento mostrou que o uso combinado dos testes sensibiliza a detecção de crianças com algum grau de risco para atraso do neurodesenvolvimento, especialmente para o domínio da linguagem expressiva, função difícil de avaliar em crianças muito pequenas.

Pesquisas relatam uma relação sistemática entre o grau de atraso no desenvolvimento da linguagem e dificuldades acadêmicas e socioemocionais.^(87, 166) Diversas causas podem estar relacionadas a atrasos ou desvios no neurodesenvolvimento infantil. Sensibilizar os métodos de avaliação para triagem e monitoramento do neurodesenvolvimento em crianças de risco pode antecipar as abordagens terapêuticas e melhorar o prognóstico.

O diagnóstico de alterações em quaisquer domínios do desenvolvimento infantil continua sendo um desafio para os profissionais da saúde. Entretanto, o acompanhamento do desenvolvimento através de testes comportamentais, escalas de triagem e da avaliação do potencial cortical parece auxiliar na identificação de crianças que estão fora dos padrões de referência, permitindo aprofundar a investigação precocemente e, quando necessário, encaminhar para estimulação precoce.

8 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Neste estudo, foram encontradas diferenças significativas entre as médias das latências de crianças presumivelmente expostas ao ZIKV, quando comparadas a crianças não expostas, sugerindo um comprometimento das vias auditivas corticais e do neurodesenvolvimento. Estudos recentes ainda demonstram preocupação com a descrição do espectro de alterações pós-natais em crianças expostas e chamam a atenção para as manifestações tardias envolvendo o neurodesenvolvimento.^(16, 24, 120)

É necessário ampliar o olhar para os resultados encontrados neste e em outros estudos que, de forma consistente, descrevem alterações no desenvolvimento de crianças com exposição presumida ou confirmada para o ZIKV, nascidas normocefálicas e sem alterações neurológicas ou sensoriais identificáveis ao nascimento.^(13, 14, 24, 119) Uma importante decisão seria incluir estas crianças num programa de avaliação e acompanhamento do neurodesenvolvimento, assim como já é indicado para outras infecções congênicas.

Embora fartamente documentada a associação entre fatores de risco neonatais e as alterações cognitivas, motoras e sensoriais,^(8, 18, 54, 76, 91, 99) falta normatizar o uso do PEAC como uma ferramenta capaz de identificar precocemente indivíduos com risco aumentado para possíveis desfechos adversos nos diversos domínios do neurodesenvolvimento.

As análises obtidas nos dois estudos são complementares e promissoras. Os recursos utilizados em ambos os estudos podem ser incorporados à clínica diagnóstica e de seguimento, visando à detecção precoce de desvios neuromaturacionais.

Parece-nos que o cérebro do neonato e a via auditiva são impecavelmente preparados para decifrar estímulos acústicos e de fala desde o nascimento; descobrir o porquê esse papel, muitas vezes, não é desempenhado com sucesso é o grande desafio. A utilização de ferramentas padronizadas no seguimento de crianças em risco é fundamental para identificar alterações do neurodesenvolvimento, bem como para referenciá-las para programas de intervenção, minimizando agravos e prevenindo sequelas.

REFERÊNCIAS

1. BRASIL MDS. Protocolo de atenção à saúde e resposta à ocorrência de microcefalia relacionada à infecção pelo vírus Zika. Brasília: Ministério da Saúde; 2015. p. 49.
2. Campos GC, Sardi SI, Sarno M, Brites C. Zika virus infection, a new public health challenge. *Brazilian Journal of Infectious Diseases*. 2016;20:227-8.
3. Cardoso CW, Paploski IA, Kikuti M, Rodrigues MS, Silva MM, Campos GS, et al. Outbreak of Exanthematous Illness Associated with Zika, Chikungunya, and Dengue Viruses, Salvador, Brazil. *Emerging infectious diseases*. 2015;21(12):2274-6.
4. Campos GS, Bandeira AC, Sardi SI. Zika Virus Outbreak, Bahia, Brazil. *Emerging infectious diseases*. 2015;21(10):1885-6.
5. Costello A, Dua T, Duran P, Gülmezoglu M, Oladapo OT, Perea W, et al. Defining the syndrome associated with congenital Zika virus infection. *Bull World Health Organ*. 2016;94(6):406-A.
6. Baptista T, Quaghebeur G, Alarcon A. Neuroimaging findings of babies with microcephaly and presumed congenital Zika virus infection. *BMJ*. 2016;353:i2194.
7. Garcez PP, Loiola EC, Madeiro da Costa R, Higa LM, Trindade P, Delvecchio R, et al. Zika virus impairs growth in human neurospheres and brain organoids. *Science (New York, NY)*. 2016;352(6287):816-8.
8. Saad T, Penna e Costa AA, de Góes FV, de Freitas M, de Almeida JV, de Santa Ignêz LJ, et al. Neurological manifestations of congenital Zika virus infection. *Child's Nervous System*. 2018;34(1):73-8.
9. de Fatima Vasco Aragao M, van der Linden V, Brainer-Lima AM, Coeli RR, Rocha MA, Sobral da Silva P, et al. Clinical features and neuroimaging (CT and MRI) findings in presumed Zika virus related congenital infection and microcephaly: retrospective case series study. *BMJ*. 2016;353:i1901.
10. Boeuf P, Drummer HE, Richards JS, Scoullar MJL, Beeson JG. The global threat of Zika virus to pregnancy: epidemiology, clinical perspectives, mechanisms, and impact. *BMC Medicine*. 2016;14(1):112.
11. Bahia SdSdEd. Boletim Epidemiológico de Microcefalia/ Síndrome congênita associada à infecção pelo Zika vírus e outras etiologias infecciosas, Bahia, 2019. In: DIVEP DdVE-, editor. Salvador-Ba2019. p. 1-8.
12. Peçanha PM, Gomes Junior SC, Pone SM, Pone MVdS, Vasconcelos Z, Zin A, et al. Neurodevelopment of children exposed intra-uterus by Zika virus: A case series. *PLoS One*. 2020;15(2):e0229434-e.
13. Oliveira CSd, Matos HJd, Gomes LTS, Serra EMF, Fraiha MC, Nunes DS. Seguimento de crianças expostas intraútero ao vírus Zika na Região Metropolitana de Belém, Pará, Brasil. *Revista Pan-Amazônica de Saúde*. 2020;11.
14. Mulkey SB, Arroyave-Wessel M, Peyton C, Bulas DI, Fourzali Y, Jiang J, et al. Neurodevelopmental Abnormalities in Children With In Utero Zika Virus Exposure Without Congenital Zika Syndrome. *JAMA Pediatrics*. 2020;174(3):269-76.
15. Gerzson LR, de Almeida CS, Silva JHD, Feitosa MMA, de Oliveira LN, Schuler-Faccini L. Neurodevelopment of Nonmicrocephalic Children, After 18 Months of Life, Exposed Prenatally to Zika Virus. *Journal of child neurology*. 2020;35(4):278-82.
16. Walker CL, Little ME, Roby JA, Armistead B, Gale M, Jr., Rajagopal L, et al. Zika virus and the nonmicrocephalic fetus: why we should still worry. *American journal of obstetrics and gynecology*. 2019;220(1):45-56.

17. Einspieler C, Utsch F, Brasil P, Panvequio Aizawa CY, Peyton C, Hydee Hasue R, et al. Association of Infants Exposed to Prenatal Zika Virus Infection With Their Clinical, Neurologic, and Developmental Status Evaluated via the General Movement Assessment Tool. *JAMA network open*. 2019;2(1):e187235.
18. Barbosa MHDM, Magalhães-Barbosa MCD, Robaina JR, Prata-Barbosa A, Lima MADMTD, Cunha AJLAD. Auditory findings associated with Zika virus infection: an integrative review. *Brazilian Journal of Otorhinolaryngology*. 2019;85(5):642-63.
19. Leal MC, Muniz LF, Ferreira TS, Santos CM, Almeida LC, Van Der Linden V, et al. Hearing Loss in Infants with Microcephaly and Evidence of Congenital Zika Virus Infection - Brazil, November 2015-May 2016. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep*. 2016;65(34):917-9.
20. Borja AL. Alterações Auditivas nas Infecções Congênitas In: EDUFBA, editor. *Infecções Congênitas e Perinatais 1*. Salvador: Lícia Maria Oliveira Moreira 2020. p. 326.
21. Northern JD, M. *Audição na Infância*. 5 ed: Guanabara Koogan; 2005.
22. Zaeyen E. *A audição do bebê. Quando a vida começa diferente: o bebê e sua família na UTI neonatal*. 1. 1 ed. Rio de Janeiro: Editora Fiocruz; 2003. p. 196.
23. Godinho R ST, Ramos SR. *Avaliação Auditiva na Infância*. IV Manual de Otorrinolaringologia Pediátrica da IAPO. IV. Guarulhos/SP: Lis Gráfica & Editora; 2006. p. 254-63.
24. Cranston JS, Tiene SF, Nielsen-Saines K, Vasconcelos Z, Pone MV, Pone S, et al. Association Between Antenatal Exposure to Zika Virus and Anatomical and Neurodevelopmental Abnormalities in Children. *JAMA network open*. 2020;3(7):e209303-e.
25. Gatto CI, Tochetto TM. Deficiência auditiva infantil: implicações e soluções. *Revista CEFAC*. 2007;9:110-5.
26. American Academy of Pediatrics JCoIH. Year 2007 Position Statement: Principles and Guidelines for Early Hearing Detection and Intervention Programs. *Pediatrics*. 2007;120(4):24.
27. Korver AMH, Smith RJH, Van Camp G, Schleiss MR, Bitner-Glindzicz MAK, Lustig LR, et al. Congenital hearing loss. *Nature reviews Disease primers*. 2017;3:16094-.
28. Schuster Grasel S RHF, Beck R M O, Almeida E R. *Avaliação da Perda Auditiva na Infância*. São Paulo 2015. 19 p.
29. Yoshinaga-Itano C. From Screening to Early Identification and Intervention: Discovering Predictors to Successful Outcomes for Children With Significant Hearing Loss. *Journal of deaf studies and deaf education*. 2003;8(1):11-30.
30. Romero ACL, Frizzo ACF, Chagas EFB, Isaac MdL. Cortical auditory evoked potential in babies and children listeners. *Brazilian Journal of Otorhinolaryngology*. 2020;86:395-404.
31. Costa LD, Quinto SMS, Didoné DD, Rechia IC, Garcia MV, Biaggio EPV. *Audição e linguagem em crianças nascidas a termo e pré-termo*. *Audiology - Communication Research*. 2016;21.
32. Lent R. *A Linguagem e os Hemisférios Especialistas. Cem Bilhões de Neurônios*. 1. Rio de Janeiro: Atheneu; 2002. p. 698.
33. Hippolito MA. *Avaliação dos Potenciais Auditivos Corticais. Tratado de Eletrofisiologia para a Audiologia*. 1. São Paulo: Book Toy; 2018. p. 92-6.
34. Azevedo M. *Desenvolvimento auditivo de crianças normais e de alto-risco: estudo comparativo das respostas comportamentais a estímulos sonoros*. São Paulo: Tese de Doutorado-Escola Paulista de Medicina-EPM][Links]; 1993.
35. Jacques Oppitz S, Domeneghini Didoné D, Durigon da Silva Db, Gois M, Folgareini J, Corrêa Ferreira G, et al. Potenciais evocados auditivos de longa latência com verbais e não verbais. *Brazilian Journal of Otorhinolaryngology*. 2015;81(6):647-52.

36. Reis AC, Frizzo, A C. Potencial Evocado Auditivo Cognitivo. In: Koogan G, editor. *Tratado de Audiologia*. 1. Rio de Janeiro 2015. p. 140-59.
37. Melo A, Biaggio, E P, Rechia, I C, Sleifer, P. Cortical auditory evoked potentials in full-term and preterm neonates. *Codas*. 2016;28(5):491-6.
38. Romero ACL, Oliveira ACSd, Regaçone SF, Frizzo ACF. Uso do potencial evocado auditivo de média latência em populações infantis: uma revisão integrativa. *Revista CEFAC*. 2016;18:226-31.
39. Silva LAF, Magliaro FCL, Carvalho ACM, Matas CG. Cortical maturation of long latency auditory evoked potentials in hearing children: the complex P1-N1-P2-N2. *Codas*. 2017;29(4):e20160216.
40. Oliveira LS, Didoné DD, Durante AS. Automated cortical auditory evoked potentials threshold estimation in neonates. *Brazilian Journal of Otorhinolaryngology*. 2019;85:206-12.
41. Frizzo ACFA, K. P. Potenciais evocados auditivos de longa latência: conceitos e aplicações clínicas. In: Fernandes A, editor. *Tratado de Eletrofisiologia para a Audiologia* 1. São Paulo: Book Toy; 2018. p. 139-50.
42. Dale PS, Patterson, J L Identificação precoce de atrasos de linguagem. *Desenvolvimento da Linguagem e Alfabetização*. 2017:7.
43. Lipkin PH, Macias MM. Promoting Optimal Development: Identifying Infants and Young Children With Developmental Disorders Through Developmental Surveillance and Screening. *Pediatrics*. 2020;145(1):e20193449.
44. Angueyra C, Abou Hatab H, Pathak A. Congenital Cytomegalovirus and Zika Infections. *The Indian Journal of Pediatrics*. 2020.
45. Voordouw Baa. Performance of Zika Assays in the Context of Toxoplasma gondii, Parvovirus B19, Rubella Virus, and Cytomegalovirus (TORCH) Diagnostic Assays. *Clinical Microbiology Reviews*. 2019;33(1):130-18.
46. Hövel H, Partanen E, Tideman E, Stjernqvist K, Hellström-Westas L, Huotilainen M, et al. Auditory event-related potentials are related to cognition at preschool age after very preterm birth. *Pediatric research*. 2015;77(4):570-8.
47. Regaçone SF, Gução ACB, Giacheti CM, Romero ACL, Frizzo ACF. Potenciais evocados auditivos de longa latência em escolares com transtornos específicos de aprendizagem. *Audiology - Communication Research*. 2014;19:13-8.
48. Fellman V, Kushnerenko E, Mikkola K, Ceponiene R, Leipala J, Naatanen R. Atypical auditory event-related potentials in preterm infants during the first year of life: a possible sign of cognitive dysfunction? *Pediatric research*. 2004;56(2):291-7.
49. Gouveia ASd, Oliveira MMdF, Goulart AL, Azevedo MFd, Perissinoto J. Desenvolvimento de linguagem e das habilidades auditivas em prematuros adequados e pequenos para a idade gestacional: idade cronológica entre 18 e 36 meses. *CoDAS*. 2020;32.
50. Silva LAF, Magliaro FCL, Carvalho ACMd, Matas CG. Maturação dos potenciais evocados auditivos de longa latência em crianças ouvintes: análise do complexo P1-N1-P2-N2. *CoDAS*. 2017;29.
51. Saúde B-Md. Atenção ao pré-natal de baixo risco In: Secretaria de Atenção à Saúde DdAB, editor. Brasília: Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Departamento de Atenção Básica; 2012.
52. Araujo EdC, Costa KdSG, Silva RdSe, Azevedo VNdg, Lima FAS. Importância do pré-natal na prevenção da Sífilis Congênita. *Revista Paraense de Medicina*. 2006;20:47-51.
53. Brasil. Orientações integradas de vigilância e atenção à saúde no âmbito da Emergência de Saúde Pública de Importância Nacional. In: Saúde SdVe, editor. Brasília: Ministério da Saúde; 2017. p. 158.
54. Fernandes CE, Sá, M F de Guia Prático: Infecções no Ciclo Grávido-Puerperal. Orientações e Recomendações FEBRASGO [Internet]. 2016; 2:[92 p.]. Available from:

https://www.febrasgo.org.br/media/k2/attachments/02-INFECOyES_NO_CICLO_GRAVIDO_PUERPERAL.pdf.

55. Mussi-Pinhata MM, Yamamoto, A Y. Infecções congênitas e perinatais. *Jornal de Pediatria* 1999;75:15.
56. Perinatologia OP-AdSeCL-Ad. Prevenção de infecções relacionadas à assistência à saúde em neonatologia. In: Saúde OP-Ad, editor. Saúde da Mulher e Reprodutiva. Montevideu: OPS/OMS; 2017. p. 78.
57. Khan NA, Kazzi SN. Yield and costs of screening growth-retarded infants for torch infections. *American journal of perinatology*. 2000;17(3):131-5.
58. Miranda MMS, Souza LMGd, Aguiar RALPd, Corrêa JR MD, Maia MMM, Borges RdS, et al. Rastreamento das infecções perinatais na gravidez: realizar ou não? *Femina*. 2012.
59. Garcia ÉM, Martinelli KG, Gama SGNd, Oliveira AE, Esposti CDD, Santos Neto ETd. Risco gestacional e desigualdades sociais: uma relação possível? *Ciência & Saúde Coletiva*. 2019;24:4633-42.
60. Leite Filho CA, Lagreca LCC, Jesus NOd, Corvaro CP, Ferrarini MAG, Monteiro AIMP, et al. Alterações auditivas em crianças expostas à toxoplasmose durante a gestação. *Revista CEFAC*. 2017;19:330-9.
61. Ford-Jones EL. An approach to the diagnosis of congenital infections. *Paediatrics & Child Health*. 1999;4(2):109-12.
62. Brasil P, Pereira JP, Moreira ME, Ribeiro Nogueira RM, Damasceno L, Wakimoto M, et al. Zika Virus Infection in Pregnant Women in Rio de Janeiro. *New England Journal of Medicine*. 2016;375(24):2321-34.
63. Mlakar J, Korva M, Tul N, Popovic M, Poljsak-Prijatelj M, Mraz J, et al. Zika Virus Associated with Microcephaly. *N Engl J Med*. 2016;374(10):951-8.
64. Oliveira CS, Santiago DB, de S.P. Valente J, de F. Borja ALV, de A. Bernardi AP. Prevalence of risk indices for hearing loss in 'failure' results of newborn hearing screening/Prevalencia dos indicadores de risco para perda auditiva nos resultados 'falha' da triagem auditiva neonatal. *Revista CEFAC: Atualizacao Cientifica em Fonoaudiologia e Educacao*. 2015;17:827+.
65. Foulon I, Naessens A, Foulon W, Casteels A, Gordts F. A 10-Year Prospective Study of Sensorineural Hearing Loss in Children with Congenital Cytomegalovirus Infection. *The Journal of Pediatrics*. 2008;153(1):84-8.
66. Goderis J, De Leenheer E, Smets K, Van Hoecke H, Keymeulen A, Dhooge I. Hearing Loss and Congenital CMV Infection: A Systematic Review. *Pediatrics*. 2014;134(5):972-82.
67. Lanzieri TM, Chung W, Flores M, Blum P, Caviness AC, Bialek SR, et al. Hearing Loss in Children With Asymptomatic Congenital Cytomegalovirus Infection. *Pediatrics*. 2017;139(3):e20162610.
68. Villa Nova APGA. Infecções na Gestante Infecções Congênitas e Perinatais 1. 1 ed. Salvador-Ba: EDUFBA; 2020. p. 13.
69. Borja AL, A. G.; Correia de Araújo, R. P. Triagem auditiva em crianças expostas ao zika vírus durante a gestação. *Revista de Ciências Médicas e Biológicas*. 2017;16(3):271-6.
70. Leal MC, Muniz LF, Caldas Neto SD, van der Linden V, Ramos RC. Sensorineural hearing loss in a case of congenital Zika virus. *Braz J Otorhinolaryngol*. 2016.
71. Lewis DR, Marone, S A M, Mendes, B C A, Cruz, O L M, Nóbrega, M Comitê multiprofissional em saúde auditiva: COMUSA. *Braz J Otorhinolaryngol*. 2010;71(1):121-8.
72. JCIH JCoIH. Year 2007 Position Statement: Principles and Guidelines for Early Hearing Detection and Intervention Programs. *American Academy of Pediatrics*; 2007.
73. Hearing TJCoI. Year 2019 Position Statement: Principles and Guidelines for Early Hearing Detection and Intervention Programs. *Journal of Early Hearing Detection and Intervention*. 2019;4(2):1-44.

74. Brasil. Diretrizes de Atenção da Triagem Auditiva Neonatal. In: Estratégias SdAàSDdAP, editor. Brasília: Ministério da Saúde; 2012. p. 32.
75. Beswick R, Driscoll C, Kei J, Khan A, Glennon S. Which risk factors predict postnatal hearing loss in children? *Journal of the American Academy of Audiology*. 2013;24(3):205-13.
76. Lichtig I, Monteiro SRG, Couto MIV, Haro FMBd, Campos MSCd, Vaz FAC, et al. Avaliação do comportamento auditivo e neuropsicomotor em lactentes de baixo peso ao nascimento. *Revista da Associação Médica Brasileira*. 2001;47:52-8.
77. Moura-Ribeiro GL, M. V. Bases estruturais do neurodesenvolvimento. *Neurologia do Desenvolvimento da criança*. 2 ed: Revinter; 2009. p. 564.
78. Pelitero TM, Manfredi AKdS, Schneck APC. Avaliação das habilidades auditivas em crianças com alterações de aprendizagem. *Revista CEFAC*. 2010;12:662-70.
79. Souza LBCdS, V. M. Avaliação comportamental das Habilidades Auditivas Centrais. In: LOVISE, editor. *Processamento Auditivo Eletrofisiologia e Psicoacústica*. 1. São Paulo-SP: Marra de Aquino, A. M. C.; 2002. p. 129.
80. Leite RA, Wertzner HF, Matas CG. Potenciais evocados auditivos de longa latência em crianças com transtorno fonológico. *Pró-Fono Revista de Atualização Científica*. 2010;22:561-6.
81. Al-Saif SS, Abdeltawwab MM, Khamis M. Auditory middle latency responses in children with specific language impairment. *Eur Arch Otorhinolaryngol*. 2012;269(6):1697-702.
82. Amorim R. Avaliação da criança com alteração da linguagem. *Nascer e Crescer*. 2011;20:174-6.
83. Schirmer CR, Fontoura DR, Nunes ML. Distúrbios da aquisição da linguagem e da aprendizagem. *Jornal de Pediatria*. 2004;80:95-103.
84. Chomsky NB, R. C. . *Why Only Us: Language and Evolution*. New York MIT Press; 2016.
85. Madarasz NR, Santos DP. The concept of human nature in Noam Chomsky. *Veritas (Porto Alegre)*. 2018;63(3):1092-126.
86. Hart B, Risley TR. *Meaningful differences in the everyday experience of young American children*. Baltimore, MD, US: Paul H Brookes Publishing; 1995. xxiii, 268-xxiii, p.
87. Fernald A, Weisleder A. Twenty Years after “Meaningful Differences,” It's Time to Reframe the “Deficit” Debate about the Importance of Children's Early Language Experience. *Human Development*. 2015;58(1):1-4.
88. Baltes PB, Staudinger UM, Lindenberger U. Lifespan psychology: theory and application to intellectual functioning. *Annual review of psychology*. 1999;50:471-507.
89. Kuhl PK. Brain mechanisms in early language acquisition. *Neuron*. 2010;67(5):713-27.
90. Erenberg A LJ, Sia C, Trunkel D, Ziring P. . *Newborn and Infant Hearing Loss: Detection and Intervention*. *Pediatrics*. 1999;103(2):527.
91. Melo Âd, Sleifer P, Rechia IC, Biaggio EPV. Potencial evocado auditivo cortical em neonatos a termo e pré-termo: gênero e indicadores de risco para deficiência auditiva. *Audiology - Communication Research*. 2016;21.
92. Edgar JC, Murray R, Kushner ES, Pratt K, Paulson DN, Dell J, et al. The maturation of auditory responses in infants and young children: a cross-sectional study from 6 to 59 months. *Front Neuroanat*. 2015;9:131-.
93. Franco GM. O potencial evocado cognitivo em adultos normais. *Arquivos de Neuro-Psiquiatria*. 2001;59:198-200.
94. King KA, Campbell J, Sharma A, Martin K, Dorman M, Langran J. The representation of voice onset time in the cortical auditory evoked potentials of young children. *Clin Neurophysiol*. 2008;119(12):2855-61.

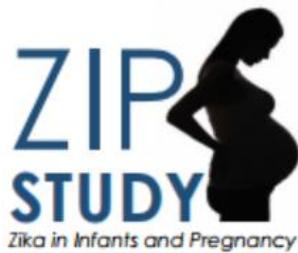
95. de Fatima Vasco Aragao M, van der Linden V, Brainer-Lima AM, Coeli RR, Rocha MA, Sobral da Silva P, et al. Clinical features and neuroimaging (CT and MRI) findings in presumed Zika virus related congenital infection and microcephaly: retrospective case series study. *Bmj*. 2016;353:i3182.
96. Vilanova LCP. Aspectos Neurológicos do Desenvolvimento do Comportamento da Criança. *Rev Neurociências* 1998;6(3):106-10.
97. Saúde Md. Saúde da Criança: Crescimento e Desenvolvimento. In: Básica DdA, editor. 1 ed. Brasília - DF2012. p. 272.
98. Bayley N. Bayley scales of infant and toddler development. ed r, editor. San Antonio, TX: Pearson.; 2006.
99. Silva NDSH, Lamy Filho F, Gama MEA, Lamy ZdC, Pinheiro AdL, Silva DdN. Instrumentos de avaliação do desenvolvimento infantil de recém-nascidos prematuros. *Journal of Human Growth and Development*. 2011;21:85-98.
100. Madaschi V, Mecca TP, Macedo EC, Paula CS. Bayley-III Scales of Infant and Toddler Development: Transcultural Adaptation and Psychometric Properties. *Paidéia (Ribeirão Preto)*. 2016;26:189-97.
101. Rodrigues OMPR. Escalas de desenvolvimento infantil e o uso com bebês. *Educar em Revista*. 2012:81-100.
102. Neves KdR, Morais RLdS, Teixeira RA, Pinto PAF. Growth and development and their environmental and biological determinants. *Jornal de Pediatria (Versão em Português)*. 2016;92(3):241-50.
103. Aylward GP. CHAPTER 7 - The Bayley Infant Neurodevelopmental Screener (BINS): Different Test and Different Purpose. In: Weiss LG, Oakland T, Aylward GP, editors. *Bayley-III Clinical Use and Interpretation*. San Diego: Academic Press; 2010. p. 201-33.
104. Brasil. Diretrizes de Estimulação Pecoce de Crianças de zero a 3 anos com Atraso no Desenvolvimento Neuropsicomotor Decorrente de Microcefalia. In: *Estratégias DdAPe*, editor. Brasília- DF Ministério da Saúde; 2016. p. 123.
105. Guedes DZ, Primi R, Kopelman BI. BINS validation – Bayley neurodevelopmental screener in Brazilian preterm children under risk conditions. *Infant Behavior and Development*. 2011;34(1):126-35.
106. Hess CR, Papas MA, Black MM. Use of the Bayley Infant Neurodevelopmental Screener with an environmental risk group. *Journal of pediatric psychology*. 2004;29(5):321-30.
107. Gorga Michael P, Kaminski Jan R, Beauchaine Kathryn L, Jesteadt W, Neely Stephen T. Auditory Brainstem Responses from Children Three Months to Three Years of Age. *Journal of Speech, Language, and Hearing Research*. 1989;32(2):281-8.
108. Simoneck C. Surdez na infância - Diagnostico e terapia. Rio de Janeiro: Soluções Gráficas Design Studio; 1996. 107 p.
109. AccuScree O-M. MADSEN AccuScreen Dispositivo de triagem EOA e ABR Manual do usuário. In: ApS NMD, editor. São Paulo2018.
110. Interacoustics. Instructions for Use – EN Eclipse
In: Interacoustic, editor. Polônia2009.
111. Bayley N. Bayley Scales of Infant and Toddler Development In: Pearson, editor. *Aministration Manual* San Antônio, TX: Pearson 2006.
112. Silva LSd, Regaçone SF, Oliveira ACSd, Oliveira LSd, Fernandes FT, Frizzo ACF. Potenciais corticais auditivos: uso de diferentes estímulos de fala em populações infantis. *Audiology - Communication Research*. 2017;22.
113. Kushnerenko E, Ceponiene R, Balan P, Fellman V, Huotilaine M, Näätäne R. Maturation of the auditory event-related potentials during the first year of life. *Neuroreport*. 2002;13(1):47-51.

114. Wunderlich JL, Cone-Wesson BK, Shepherd R. Maturation of the cortical auditory evoked potential in infants and young children. *Hearing research*. 2006;212(1-2):185-202.
115. Alvarenga KdF, Vicente LC, Lopes RCF, Ventura LMP, Bevilacqua MC, Moret ALM. Development of P1 cortical auditory evoked potential in children presented with sensorineural hearing loss following cochlear implantation: a longitudinal study. *CoDAS*. 2013;25:521-6.
116. Moore JK, Linthicum FH, Jr. The human auditory system: a timeline of development. *International journal of audiology*. 2007;46(9):460-78.
117. Hille ETM, Ouden ALD, Bauer L, Oudenrijn Cvd, Brand R, Verloove-Vanhorick SP. School performance at nine years of age in very premature and very low birth weight infants: Perinatal risk factors and predictors at five years of age. *The Journal of Pediatrics*. 1994;125(3):426-34.
118. Wheeler AC, Toth D, Ridenour T, Lima Nóbrega L, Borba Firmino R, Marques da Silva C, et al. Developmental Outcomes Among Young Children With Congenital Zika Syndrome in Brazil. *JAMA network open*. 2020;3(5):e204096-e.
119. Honein MA, Woodworth KR, Gregory CJ. Neurodevelopmental Abnormalities Associated With In Utero Zika Virus Infection in Infants and Children-The Unfolding Story. *JAMA Pediatr*. 2020;174(3):237-8.
120. Cabral J, Faíçal A, Almeida B, Oliveira JV, Embiruçu E, Ferreira N, et al. Neurodevelopmental delays arising from in utero exposure to Zika virus in Salvador, Brazil. *International Journal of Infectious Diseases*. 2018;73:48-9.
121. Villar J IL, Victora CG, Ohuma EO, Bertino E, Altman DG, et al. International standards for fetal growth based on serial ultrasound measurements: the Fetal Growth Longitudinal Study of the INTERGROWTH-21st Project. *Lancet*. 2014;384:869-79.
122. Ponton CW, Eggermont JJ, Kwong B, Don M. Maturation of human central auditory system activity: evidence from multi-channel evoked potentials. *Clin Neurophysiol*. 2000;111(2):220-36.
123. Lima MCN, H. Desenvolvimento da linguagem e da função auditiva em lactentes. *Neurologia do Desenvolvimento da criança*. 2 ed: Revinter; 2009. p. 564.
124. Souza MAd, Passaglio NdJS, Souza VdC, Scopel RR, Lemos SMA. Ordenação temporal simples e localização sonora: associação com fatores ambientais e desenvolvimento de linguagem. *Audiology - Communication Research*. 2015;20:24-31.
125. Tremblay KL, Ross B, Inoue K, McClannahan K, Collet G. Is the auditory evoked P2 response a biomarker of learning? *Frontiers in systems neuroscience*. 2014;8:28.
126. Valente M. Mielinização do Sistema Nervoso. *Neurologia do Desenvolvimento da Criança*. 1. Rio de Janeiro: Revinter; 2010. p. 113-34.
127. Adhikari S, Rao KS. Neurodevelopmental outcome of term infants with perinatal asphyxia with hypoxic ischemic encephalopathy stage II. *Brain & development*. 2017;39(2):107-11.
128. Wright HT. Congenital Anomalies and Viral Infections in Infants—The Etiologic Role of Maternal Viral Infections. *California Medicine*. 1966;105(5):345-51.
129. Saúde SdVeSmd. Monitoramento dos casos de dengue, febre de chikungunya e febre pelo vírus Zika até a Semana Epidemiológica 45, 2017. In: Secretaria de Vigilância em Saúde SdAàs, editor. Brasília-DF: Ministério da Saúde. ; 2017. p. 1-13.
130. Xavier AR, Kanaan S, Bozzi RP, Amaral LV. Clinical and laboratory diagnosis of Zika fever: an update. *Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial*. 2017;53:252-7.
131. Barr KL, Schwarz ER, Prakoso D, Imtiaz K, Pu R, Morris Jr JG, Jr., et al. Strain-Dependent Activity of Zika Virus and Exposure History in Serological Diagnostics. *Trop Med Infect Dis*. 2020;5(1):38.

132. Nunes ML, Carlini CR, Marinowic D, Kalil Neto F, Fiori HH, Scotta MC, et al. Microcephaly and Zika virus: a clinical and epidemiological analysis of the current outbreak in Brazil. *Jornal de Pediatria*. 2016;92:230-40.
133. Rodriguez-Barraquer I, Costa F, Nascimento EJM, Nery N, Castanha PMS, Sacramento GA, et al. Impact of preexisting dengue immunity on Zika virus emergence in a dengue endemic region. *Science (New York, NY)*. 2019;363(6427):607.
134. Balm MN, Lee CK, Lee HK, Chiu L, Koay ES, Tang JW. A diagnostic polymerase chain reaction assay for Zika virus. *Journal of medical virology*. 2012;84(9):1501-5.
135. Faye O, Faye O, Diallo D, Diallo M, Weidmann M, Sall AA. Quantitative real-time PCR detection of Zika virus and evaluation with field-caught mosquitoes. *Virology journal*. 2013;10:311.
136. Campos Rde M, Cirne-Santos C, Meira GL, Santos LL, de Meneses MD, Friedrich J, et al. Prolonged detection of Zika virus RNA in urine samples during the ongoing Zika virus epidemic in Brazil. *Journal of clinical virology : the official publication of the Pan American Society for Clinical Virology*. 2016;77:69-70.
137. Dejnirattisai W, Supasa P, Wongwiwat W, Rouvinski A, Barba-Spaeth G, Duangchinda T, et al. Dengue virus sero-cross-reactivity drives antibody-dependent enhancement of infection with zika virus. *Nature Immunology*. 2016;17(9):1102-8.
138. WHO. Protecting, promoting and supporting breastfeeding in facilities providing maternity and newborn services. World Health Organization; 2017. p. 120.
139. Sankar MJ, Sinha B, Chowdhury R, Bhandari N, Taneja S, Martines J, et al. Optimal breastfeeding practices and infant and child mortality: a systematic review and meta-analysis. *Acta paediatrica (Oslo, Norway : 1992)*. 2015;104(467):3-13.
140. Bisiacchi PS, Mento G, Suppiej A. Cortical auditory processing in preterm newborns: an ERP study. *Biological psychology*. 2009;82(2):176-85.
141. Gerzson LR, de Almeida CS, Silva JHd, Feitosa MMA, de Oliveira LN, Schuler-Faccini L. Neurodevelopment of Nonmicrocephalic Children, After 18 Months of Life, Exposed Prenatally to Zika Virus. *Journal of Child Neurology*. 2019;35(4):278-82.
142. van der Linden V, Pessoa A, Dobyns W, Barkovich AJ, Júnior HV, Filho EL, et al. Description of 13 Infants Born During October 2015-January 2016 With Congenital Zika Virus Infection Without Microcephaly at Birth - Brazil. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep*. 2016;65(47):1343-8.
143. Jucá E, Pessoa A, Ribeiro E, Menezes R, Kerbage S, Lopes T, et al. Hydrocephalus associated to congenital Zika syndrome: does shunting improve clinical features? *Child's nervous system : ChNS : official journal of the International Society for Pediatric Neurosurgery*. 2018;34(1):101-6.
144. Neves KdR, Morais RLdS, Teixeira RA, Pinto PAF. Growth and development and their environmental and biological determinants. *Jornal de Pediatria*. 2016;92:241-50.
145. Ribeiro DG, Perosa GB, Padovani FHP. Fatores de risco para o desenvolvimento de crianças atendidas em Unidades de Saúde da Família, ao final do primeiro ano de vida. *Ciência & Saúde Coletiva*. 2014;19:215-26.
146. Buss PM, Pellegrini Filho A. A saúde e seus determinantes sociais. *Physis: Revista de Saúde Coletiva*. 2007;17:77-93.
147. Paiva GSd, Lima ACVMdS, Lima MdC, Eickmann SH. The effect of poverty on developmental screening scores among infants. *Sao Paulo Medical Journal*. 2010;128:276-83.
148. Bradley RH, Corwyn RF. Socioeconomic status and child development. *Annual review of psychology*. 2002;53:371-99.
149. Fernald A, Marchman VA, Weisleder A. SES differences in language processing skill and vocabulary are evident at 18 months. *Dev Sci*. 2013;16(2):234-48.

150. Caldeira HJM, Antunes SLNO, Rossi-Barbosa LAR, Freitas DA, Barbosa MR, Caldeira AP. Prevalência de alterações de fala em crianças por meio de teste de rastreamento. *Revista CEFAC*. 2013;15:144-52.
151. Cavalheiro LG. A prevalência do desvio fonológico em crianças de 4 a 6 anos de escolas públicas municipais de Salvador-BA. *Revista da Sociedade Brasileira de Fonoaudiologia*. 2008;13:415-.
152. Shriberg LD, Tomblin JB, McSweeney JL. Prevalence of Speech Delay in 6-Year-Old Children and Comorbidity With Language Impairment. *Journal of Speech, Language, and Hearing Research*. 1999;42(6):1461-81.
153. Upadhayay N, Guragain S. Comparison of cognitive functions between male and female medical students: a pilot study. *J Clin Diagn Res*. 2014;8(6):BC12-BC5.
154. Xin J, Zhang Y, Tang Y, Yang Y. Brain Differences Between Men and Women: Evidence From Deep Learning. *Frontiers in Neuroscience*. 2019;13(185).
155. Zaidi ZF. Gender Differences in Human Brain: A Review. *The Open Anatomy Journal*. 2010;3:3-55.
156. Brasil. Leite materno: índices de amamentação crescem no Brasil Brasília-DF: Ministério da Saúde 2020 [updated 08/08/2020. Available from: <https://www.gov.br/casacivil/pt-br/assuntos/noticias/2020/agosto/leite-materno-indices-de-amamentacao-crescem-no-brasil>.
157. WHO. Global strategy for infant and young child feeding. In: Organization WH, editor. Geneva: World Health Organization; 2003.
158. Ballard O, Morrow AL. Human milk composition: nutrients and bioactive factors. *Pediatr Clin North Am*. 2013;60(1):49-74.
159. Quigley MA, Hockley C, Carson C, Kelly Y, Renfrew MJ, Sacker A. Breastfeeding is associated with improved child cognitive development: a population-based cohort study. *J Pediatr*. 2012;160(1):25-32.
160. Bernard JY, De Agostini M, Forhan A, Alfaiate T, Bonet M, Champion V, et al. Breastfeeding duration and cognitive development at 2 and 3 years of age in the EDEN mother-child cohort. *J Pediatr*. 2013;163(1):36-42.e1.
161. Grummer-Strawn LM, Rollins N. Summarising the health effects of breastfeeding. *Acta paediatrica (Oslo, Norway : 1992)*. 2015;104(467):1-2.
162. Stephan AMS, Cavada MN, Vilela CZ. Prevalência de aleitamento materno exclusivo até a idade de seis meses e características maternas associadas, em área de abrangência de unidade de Saúde da Família no município de Pelotas, estado do Rio Grande do Sul, Brasil, 2010. *Epidemiologia e Serviços de Saúde*. 2012;21:431-8.
163. Sharma A, Dorman MF, Spahr AJ. A sensitive period for the development of the central auditory system in children with cochlear implants: implications for age of implantation. *Ear and hearing*. 2002;23(6):532-9.
164. Imada T, Zhang Y, Cheour M, Taulu S, Ahonen A, Kuhl PK. Infant speech perception activates Broca's area: a developmental magnetoencephalography study. *Neuroreport*. 2006;17(10):957-62.
165. Tomblin JB, Records NL, Buckwalter P, Zhang X, Smith E, O'Brien M. Prevalence of specific language impairment in kindergarten children. *Journal of speech, language, and hearing research : JSLHR*. 1997;40(6):1245-60.
166. Nelson KE, Welsh JA, Trup EMV, Greenberg MT. Language delays of impoverished preschool children in relation to early academic and emotion recognition skills. *First Language*. 2011;31(2):164-94.

ANEXO A – Carta de aprovação do estudo pelo Consórcio ZIP



May 8, 2018

Dear Dr. Scalabrin,

Congratulations!

The Zika in Infants and Pregnancy (ZIP) Study Governance Committee has approved your sub-study proposal titled, *Hearing and Language in Infants with Congenital Infections (HALICI)*.

You are now approved to request and consent ZIP study subjects to participate in this additional testing as applicable.

Please provide a copy of your completed final protocol and a description of the role of each participating research site for our records. Also, please provide us with an update on the status of your ability to obtain funding, i.e. a copy of the Notice of Award when funding is received, and annual updates on the progress.

We look forward to regular updates on the progress of the sub-study.

Best regards,

ZIP Consortium

John H.
Moye Jr -S

Digitally signed by
John H. Moye Jr -S
Date: 2019.07.04
15:49:52 -0400'

ANEXO B – Parecer consubstanciado do Estudo ZIP

INSTITUTO FERNANDES
FIGUEIRA - IFF/ FIOCRUZ - RJ/
MS



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DA EMENDA

Título da Pesquisa: Estudo Internacional de Coorte Prospectivo Observacional do Zika em Crianças e Gestantes (estudo ZIP)

Pesquisador: maria elisabeth lopes moreira

Área Temática:

Versão: 6

CAAE: 56673616.3.1001.5269

Instituição Proponente: Instituto Fernandes Figueira - IFF/ FIOCRUZ - RJ/ MS

Patrocinador Principal: National Institute of Health
Fundação Oswaldo Cruz

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 1.943.399

Apresentação do Projeto:

Emenda

Objetivo da Pesquisa:

Modificar os seguintes pontos no protocolo do recém-nascidos:

- 1- As avaliações auditivas e oftalmológicas do lactente associadas à visita ao parto podem ser realizadas no prazo de 4 semanas após o nascimento.
- 2 - As avaliações auditivas e oftalmológicas de lactentes associadas às visitas de 3, 6 e 12 meses serão realizadas "em todos os bebês expostos ou infectados com ZIKV, e todos ou alguns dos bebês não expostos a ZIKV".
- 3- Especifica que a visita de 3 meses a um lactente pode ocorrer dentro de 3 meses - 6 meses após o nascimento e a visita ao lactente de 6 meses pode ocorrer dentro de 6 meses - 12 meses de nascimento.
- 4- Referência removida para armazenar a urina em casa a 4 graus Celsius Foi inserida na plataforma o projeto modificado em PDF e o projeto em word apontando as modificações Idioma mudou de "will" para "may" em vários lugares: duas vezes na página 11, uma vez na página 12.

Endereço: RUI BARBOSA, 716

Bairro: FLAMENGO

CEP: 22.250-020

UF: RJ

Município: RIO DE JANEIRO

Telefone: (21)2554-1730

Fax: (21)2552-8491

E-mail: cepiff@iff.fiocruz.br

**INSTITUTO FERNANDES
FIGUEIRA - IFF/ FIOCRUZ - RJ/
MS**



Continuação do Parecer: 1.943.399

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Não são objetos desta emenda

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Foi observada a mudança no protocolo anexado.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Não são objeto da emenda.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Sem pendências

Considerações Finais a critério do CEP:

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_872164_E4.pdf	23/02/2017 07:35:21		Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	protocolozipcomemendasfevereiro.docx	23/02/2017 07:30:32	maria elisabeth lopes moreira	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	protocolozipcomemendasfevereiro.pdf	23/02/2017 07:29:44	maria elisabeth lopes moreira	Aceito
Outros	resumo_mudancas_protocolo.pdf	01/02/2017 11:43:54	tatiana camilo ribeiro de senna	Aceito
Outros	emenda2_ZIP.pdf	01/02/2017 11:43:26	tatiana camilo ribeiro de senna	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	ZIP_Protocol_Jan_2017.pdf	01/02/2017 11:42:46	tatiana camilo ribeiro de senna	Aceito
Cronograma	appendix.pdf	01/02/2017 11:42:16	tatiana camilo ribeiro de senna	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TERMO_CONSENTIMENTO_PAIS.pdf	01/02/2017 11:42:00	tatiana camilo ribeiro de senna	Aceito
Outros	materialinformativo.pdf	27/09/2016 13:41:59	tatiana camilo ribeiro de senna	Aceito
Outros	emenda_1.pdf	27/09/2016 13:40:48	tatiana camilo ribeiro de senna	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento /	TermodeconsentimentoparabebesIFFver saocorrigida.docx	08/06/2016 18:19:41	maria elisabeth lopes moreira	Aceito

Endereço: RUI BARBOSA, 716

Bairro: FLAMENGO

CEP: 22.250-020

UF: RJ

Município: RIO DE JANEIRO

Telefone: (21)2554-1730

Fax: (21)2552-8491

E-mail: cepiff@iff.fiocruz.br

**INSTITUTO FERNANDES
FIGUEIRA - IFF/ FIOCRUZ - RJ/
MS**



Continuação do Parecer: 1.943.399

Justificativa de Ausência	TermodeconsentimentoparabebesIFFversaocorrigida.docx	08/06/2016 18:19:41	maria elisabeth lopes moreira	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TERMODEASSENTIMENTOparamaese studoZIPversaocorrigida.docx	08/06/2016 18:19:15	maria elisabeth lopes moreira	Aceito
Outros	SMSRiodeJaneiro.docx	08/06/2016 18:05:15	maria elisabeth lopes moreira	Aceito
Outros	infrarobertosantos.pdf	08/06/2016 18:02:07	maria elisabeth lopes moreira	Aceito
Outros	declaracaodirecaoIFF.pdf	08/06/2016 18:00:44	maria elisabeth lopes moreira	Aceito
Outros	listadecentrosbrasileiros.docx	02/06/2016 18:11:00	maria elisabeth lopes moreira	Aceito
Outros	ZIPestudoForm1.docx	02/06/2016 18:10:36	maria elisabeth lopes moreira	Aceito
Outros	Formdeentradanoestudo.doc	02/06/2016 18:09:36	maria elisabeth lopes moreira	Aceito
Outros	declaracaoSCTIEcoparticipacao.pdf	02/06/2016 18:08:51	maria elisabeth lopes moreira	Aceito
Outros	declaracaopesquisadornaopatententean mento.pdf	02/06/2016 18:07:33	maria elisabeth lopes moreira	Aceito
Outros	IRBYale.pdf	02/06/2016 18:05:55	maria elisabeth lopes moreira	Aceito
Outros	declaracaoperinatal.pdf	02/06/2016 18:05:04	maria elisabeth lopes moreira	Aceito
Outros	cartadapesquisa.pdf	02/06/2016 18:04:24	maria elisabeth lopes moreira	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TermodeconsentimentoparabebesIFF.do cx	02/06/2016 18:03:31	maria elisabeth lopes moreira	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TERMODEASSENTIMENTOparamaese studoZIP.docx	02/06/2016 18:03:18	maria elisabeth lopes moreira	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLEparamaeseestudoZIP.docx	02/06/2016 18:03:00	maria elisabeth lopes moreira	Aceito
Orçamento	OrcamentoZIPpara1000gravidas.docx	02/06/2016 18:02:36	maria elisabeth lopes moreira	Aceito
Declaração do Patrocinador	ACORDOTRANSFERENCIAZIKA.pdf	02/06/2016 18:01:44	maria elisabeth lopes moreira	Aceito
Declaração do Patrocinador	cartacompromissoNIH.pdf	02/06/2016 18:00:51	maria elisabeth lopes moreira	Aceito
Declaração de	Declaracaorecife.pdf	02/06/2016	maria elisabeth	Aceito

Endereço: RUI BARBOSA, 716

Bairro: FLAMENGO

CEP: 22.250-020

UF: RJ

Município: RIO DE JANEIRO

Telefone: (21)2554-1730

Fax: (21)2552-8491

E-mail: cepiff@iff.fiocruz.br

**INSTITUTO FERNANDES
FIGUEIRA - IFF/ FIOCRUZ - RJ/
MS**



Continuação do Parecer: 1.943.399

Pesquisadores	Declaracaorecife.pdf	18:00:31	lopes moreira	Aceito
Declaração de Pesquisadores	declaracaodeparticipacaoRP.pdf	02/06/2016 18:00:09	maria elisabeth lopes moreira	Aceito
Declaração de Pesquisadores	declaracaodeparticipacaobahia.pdf	02/06/2016 17:59:50	maria elisabeth lopes moreira	Aceito
Declaração de Manuseio Material Biológico / Biorepositório / Biobanco	criacaobiorepositorioestudoZIP.pdf	02/06/2016 17:59:33	maria elisabeth lopes moreira	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	declaracaoinfraestrutura.pdf	02/06/2016 17:56:57	maria elisabeth lopes moreira	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	ProtocoloZIP.docx	02/06/2016 17:55:07	maria elisabeth lopes moreira	Aceito
Folha de Rosto	folhaderostofinal.pdf	02/06/2016 17:54:38	maria elisabeth lopes moreira	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

RIO DE JANEIRO, 26 de Fevereiro de 2017

Assinado por:
Ana Maria Aranha Magalhães Costa
(Coordenador)

Endereço: RUI BARBOSA, 716
Bairro: FLAMENGO **CEP:** 22.250-020
UF: RJ **Município:** RIO DE JANEIRO
Telefone: (21)2554-1730 **Fax:** (21)2552-8491 **E-mail:** cepiff@iff.fiocruz.br