



**UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA**  
**FACULDADE DE MEDICINA DA BAHIA**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO**  
**EM CIÊNCIAS DA SAÚDE**



**ACHADOS CLÍNICOS, NEUROFISIOLÓGICOS E DE NEUROIMAGEM EM**  
**CRIANÇAS COM MICROCEFALIA ASSOCIADA À INFECÇÃO CONGÊNITA PELO**  
**VÍRUS ZIKA**

Maria-Lúcia Costa Lage

Dissertação de Mestrado

Salvador (Bahia), 2019



**UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA**  
**FACULDADE DE MEDICINA DA BAHIA**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO**  
**EM CIÊNCIAS DA SAÚDE**



**ACHADOS CLÍNICOS, NEUROFISIOLÓGICOS E DE NEUROIMAGEM EM**  
**CRIANÇAS COM MICROCEFALIA ASSOCIADA À INFECÇÃO CONGÊNITA PELO**  
**VÍRUS ZIKA**

Maria-Lúcia Costa Lage

Orientador: Cristiana M. Nascimento-Carvalho

Dissertação apresentada ao Colegiado do PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE, da Faculdade de Medicina da Bahia da Universidade Federal da Bahia, como pré-requisito obrigatório para obtenção do grau de Mestre em Ciências da Saúde.

SALVADOR (BAHIA), 2019

## Ficha Catalográfica

L174a Lage, Maria-Lúcia Costa

Achados clínicos, neurofisiológicos e de neuroimagem em crianças com microcefalia associada a infecção pelo vírus Zika / Maria-Lúcia Lage – Salvador, 2019.

vii, 77 p. il.

Dissertação (Mestrado em Ciências da Saúde) – Faculdade de Medicina da Bahia da Universidade Federal da Bahia.

Orientador: Profa PhD Nascimento-Carvalho, Cristiana

1. ZIKV; 2. Microcefalia; 3. Neuroimagem; 4. Manifestações neurológicas; 5. Infecção Congênita

CDU: 616.98-053.2

## COMISSÃO EXAMINADORA

### Membros titulares:

. Cristiana M. Nascimento-Carvalho, MD, PhD (Professora Orientada e Presidente) - Livre Docente em Infectologia Pediátrica (UNIFESP), Professora Titular Departamento de Pediatria, Programa de Pós-graduação em Ciências da Saúde Faculdade de Medicina da Bahia Universidade Federal da Bahia, Pesquisadora 1D do CNPq, European Society for Paediatric Infectious Diseases (Tutor)

<http://lattes.cnpq.br/8882444793123454>

. Nayara Silva Argollo Vieira, MD, PhD - Professora Adjunta do Departamento de Pediatria da Faculdade de Medicina da Bahia - Universidade Federal da Bahia, Coordenadora do Serviço de Neurologia e Neuropsicologia Pediátrica do Complexo Hospitalar Universitário Prof. Edgard Santos (UFBA),

<http://lattes.cnpq.br/4262873057545116>

. Guilherme de Sousa Ribeiro, MD, PhD - Pesquisador em Saúde Pública Instituto Gonçalo Moniz, Fundação Oswaldo Cruz, Ministério da Saúde, Laboratório de Patologia e Biologia Molecular; Professor Associado de Epidemiologia da Faculdade de Medicina, Universidade Federal da Bahia, Departamento de Medicina Preventiva e Social.

<http://lattes.cnpq.br/9005813884698823>

### Membro suplente:

. Antônio Ricardo Khouri Cunha, MD, PhD - Pesquisador em Saúde Pública da FIOCRUZ, Professor adjunto da Faculdade de Medicina da UFBA, Professor permanente do Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde (UFBA) e do Programa de Pós-Graduação em Patologia Humana (UFBA/FIOCRUZ), Bolsista de Atração de Jovens Talentos do CNPq - Nível B.

CV:<http://lattes.cnpq.br/9908602398727888>

Dedico a minha filha, Marianne, fonte constante de aprendizado e inspiração na minha busca por novas oportunidades; ao meu esposo, Victor, exemplo de dedicação na aquisição de conhecimento; aos meus pais e irmãos, onde sempre encontro apoio e carinho nos momentos mais difíceis; a todas as mulheres da família Costa e Silva, exemplo de determinação e ousadia, e a todos os amigos que torcem pelo sucesso de minhas escolhas.

## AGRADECIMENTOS

Às famílias das crianças que participaram do estudo pela sua solicitude em aceitar o convite para que os resultados de suas avaliações fossem usados para essa pesquisa possibilitando a obtenção desses resultados.

À minha orientadora, Dra. Cristiana M. Nascimento Carvalho, pelo seu empenho e dedicação em desenvolver meu gosto pela pesquisa científica e, a quem, serei eternamente grata por me apresentar a este vasto campo do desenvolvimento científico.

Aos colegas do Centro de Reabilitação Infantil do Hospital SARA, que integraram a equipe de pesquisa: Alessandra Lemos de Carvalho - pediatra e mestre em medicina e saúde, Paloma Ventura – fisioterapeuta e mestranda em ciências da saúde, Tânia Barreto Taguchi – psicóloga do desenvolvimento, Adriana Silva Fernandes - enfermeira de reabilitação, Suely Fernandes Pinho – pediatra, e Onildo Tavares Santos-Junior – médico radiologista; pelo seu companherismo e colaboração nessa árdua tarefa de reportar nossos achados, embasados no conhecimento adquirido em nossa prática diária no cuidado de crianças portadoras de desordens do neurodesenvolvimento.

À equipe da Rede SARA, que tive a honra de fazer parte durante 26 anos, em especial à equipe do Centro de Reabilitação Infantil SARA-Salvador, que foram parceiros incansáveis na busca de conhecimento para desenvolver as melhores estratégias para atender as demandas das crianças e suas famílias; em particular ao estatístico Alfredo Carlos Silva pelo suporte na confecção do banco de dados e tratamento dos dados, e à bibliotecária Marilene Félix Silva,

pela disponibilidade para buscar as referências bibliográficas mais atualizadas sobre o tema; e não menos importante, mas que foram essenciais em minha formação profissional, minha eterna gratidão à Dr. Lelé (*in memorian*) e Dr. Campos da Paz (*in memorian*), que me ensinaram pelo exemplo e compromisso ético o verdadeiro sentido do trabalho em equipe, e da importância da fundamentação científica e da criatividade no cuidado das pessoas, transformando-as em agentes de sua própria saúde e restituindo-as, com serviços qualificados de saúde, os impostos que por elas foram pagos.

À estudante de medicina, Clara Ramos, tão jovem, mas com extrema responsabilidade e ética compartilhando seu conhecimento na metodologia de pesquisa.

## ÍNDICE

ÍNDICE DE FIGURAS, GRÁFICOS E TABELAS .....	3
I. RESUMO .....	4
II. OBJETIVOS .....	6
III. INTRODUÇÃO .....	7
IV. REVISÃO DA LITERATURA	
IV.1. O ZIKV .....	10
IV.2. A infecção ZIKV em humanos .....	10
IV.3. Transmissão do ZIKV em humanos .....	13
IV.4. Sintomatologia da Infecção pelo ZIKV .....	15
IV.5. Diagnóstico Laboratorial da Infecção pelo ZIKV.....	16
IV.6. A infecção congênita pelo ZIKV .....	17
V. CASUÍSTICA, MATERIAL E MÉTODO	
V.1. Desenho do estudo .....	28
V.2. População de referência .....	28
V.3. Características da População do estudo .....	28
V.4. Critérios de inclusão e exclusão .....	28
V.5. Protocolo de avaliação .....	29
VI. ARTIGOS	
VI.1. Clinical, neuroimagem and neurophysiological findings in children with microcephaly related congenital Zika infection.....	32
VII. RESULTADOS .....	41

VIII. DISCUSSÃO .....	45
IX. PERSPECTIVA DE ESTUDOS .....	53
X. CONCLUSÕES .....	54
XI. SUMMARY .....	55
XII. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	56
XIII. ANEXOS .....	72

## ÍNDICE DE FIGURAS, TABELAS E GRÁFICOS

### TABELAS

**Tabela 1.** Dados antropométricos das crianças com provável síndrome infecção congênita pelo ZIKV

**Tabela 2.** Características clínicas das crianças com provável síndrome infecção congênita pelo ZIKV

**Tabela 3.** Achados da avaliação das crianças com provável síndrome infecção congênita pelo ZIKV

### FIGURAS

**Figura 1.** Achados de neuroimagem das crianças com provável síndrome infecção congênita pelo ZIKV

## RESUMO

### ACHADOS CLÍNICOS, NEUROFISIOLÓGICOS E DE NEUROIMAGEM EM CRIANÇAS COM MICROCEFALIA ASSOCIADA À INFECÇÃO CONGÊNITA PELO VÍRUS ZIKA

A infecção pelo vírus Zika (ZIKV) em humanos foi documentada pela primeira vez no Brasil em 2015, causando uma epidemia e sendo associada a graves desordens neurológicas no feto. Objetivo: Descrever os achados clínicos, neurofisiológicos e de neuroimagem das crianças com microcefalia associada à infecção congênita pelo ZIKV. Desenho do estudo: Estudo retrospectivo, descritivo e de corte transversal. Métodos: Revisão de prontuários eletrônicos de crianças com microcefalia congênita, cujas mães foram expostas à ZIKV na gravidez e acolhidas num centro de reabilitação infantil em Salvador - Brasil, avaliadas por uma equipe interdisciplinar seguindo procedimentos padronizados e com investigação de outras infecções congênicas correlatas. Resultados: Das 102 crianças avaliadas, 81% das mães relataram sintomas da ZIKV no 1º trimestre da gravidez; 54% das crianças apresentaram microcefalia grave; e todas as crianças na idade média de 4,6 meses (2,6 SD) apresentaram anomalias cerebrais nos achados de neuroimagem, sendo as mais frequentes: atrofia cerebral (92,1%), ventriculomegalia (92,1%), malformação do desenvolvimento cortical (85,1%) e calcificações córtico-subcorticais (80,2%). Encontraram-se, também, anomalias nos exames neurológicos (97,0%), sendo as mais comuns a hipertonia/espasticidade (97,0%), o atraso do neurodesenvolvimento (92,8%) e a hiperreflexia (73,3%); os resultados anormais dos exames neurofisiológicos evidenciaram atividade epileptogênica em 56,3% dos casos, déficit auditivo em 17,3% e a deficiência visual em 14,1%; a artrogripose foi detectada em 10,8% das crianças. Conclusão: Este grupo de crianças apresentou critérios clínicos e neuroimagem para síndrome da infecção congênita pelo ZIKV (SCZ), com alta frequência de anormalidades cerebrais e manifestações neurológicas de início precoce;

sugerindo, assim, que a microcefalia pode estar associada a um espectro mais grave de manifestações neurológicas relacionadas SCZ.

Palavras chaves: 1. ZIKV; 2. Microcefalia; 3. Neuroimagem; 4. Manifestações neurológicas; Infecção congênita

## **II. OBJETIVO**

Descrever as características clínicas, neurofisiológicas e de neuroimagem de crianças com microcefalia associada à infecção congênita pelo ZIKV em centro de reabilitação infantil na cidade de Salvador–Bahia-Brasil.

### III. INTRODUÇÃO

O vírus Zika (ZIKV) foi identificado no Brasil em 2015 (Campos,2016), sete décadas após ter surgido no Continente Africano (Dick,1952). Seu primeiro grande surto em humanos foi notificado na Micronésia em 2007 e 2013 na Polinésia Francesa onde foi documentado complicações neurológicas em adultos (Duffy,2006). No Brasil, em 2015, essa infecção surge como uma emergência em saúde pública.

A infecção ZIKV em humanos, sempre foi associada a uma doença febril comum, com complicações autolimitadas, e sintomas facilmente confundidos com outras arboviroses, também endêmicas no Brasil, tais como dengue e chikungunya (Woggner & Pinski,2016); no entanto, na epidemia brasileira, essa infecção passou a ser associada também com malformações congênitas. O aumento da prevalência de microcefalia congênita, principalmente na região nordeste do Brasil, durante o surto da infecção pelo ZIKV (Teixeira et al, 2016; Schuller-Faccini, 2016) desafiou a comunidade científica para compreender possíveis mudanças no potencial epidêmico do ZIKV, seu mecanismo neurotrófico e os diferentes espectros de suas manifestações em humanos.

Fortes evidências da associação entre a infecção pelo ZIKV durante a gravidez e ocorrência de microcefalia rapidamente foram sendo reportadas. Paploski et al, (2016) demonstraram relação temporal entre o surto da infecção pelo ZIKV em Salvador-Bahia e sua associação com distúrbios neurológicos e malformações congênitas, evidenciando uma forte correlação entre o momento da infecção arboviral de gestantes durante o primeiro trimestre e a ocorrência de microcefalia como desfecho do nascimento. Brasil et al (2016) demonstraram que mães com infecção ZIKV durante o primeiro trimestre da gravidez os conceptos apresentaram microcefalia desproporcionada, além de casos de morte ou restrição do crescimento fetal; Noronha et al (2016) detectaram o RNA do ZIKV no tecido placentário de gestantes infectadas nos diferentes

estágios da gravidez, evidenciando uma possível transmissão transplacentária do ZIKV; Araújo et al (2016), num estudo caso-controle demonstraram a associação dessa infecção intrauterina com a microcefalia, recomendando a inclusão do ZIKV na lista dos agentes causadores de infecções congênicas, habitualmente referidas como TORCH (Toxoplasmose, Rubéola, Citomegalovírus e Herpes).

A partir de então, estabeleceu-se uma nova entidade nosológica, cognominada de síndrome da infecção congênita pelo ZIKV (SCZ), descrita por Moore et al (2016) com as seguintes características: microcefalia grave, diminuição do tecido cerebral com calcificações córtico-subcorticais, lesão da parte posterior do olho, pé torto ou artrogripose e hipertonia. Foram identificadas também, além da microcefalia, outras manifestações neurológicas: epilepsia (Moura Silva,2016; Culjat,2016; Vand der ling, 2018; Pessoa, 2018; Oliveira-Almeida, 2018), déficit auditivo (Leal,2016; Marquez-abramov,2018; Peloggia,2018); alterações visuais (Ventura, 2016; Verçosa,2017; Ventura,2018); síndrome piramidal /extrapiramidal (Moura-Silva, 2016; Caljat, 2016; Pessoa,2018); disfagia (Leal,2017), atraso motor e cognitivo (Satterfield-Nash, 2017; Alves,2017, França,2018). Assim, o espectro de anormalidades cerebrais foi ampliado, podendo ocorrer com ou sem microcefalia (Aragão, 2016; Honein,2017; Hoen,2018; Sant-Cortez,2018), além do relato de atraso motor e cognitivo em crianças expostas a ZIKV durante a gravidez, que ao nascimento não apresentaram microcefalia ou alterações de neuroimagem, conforme foi demonstrado por Lopes-Moreira et al. (2018).

Apesar de, nos últimos 03 anos, muito conhecimento tenha sido acumulado a respeito da infecção do ZIKV em humanos, ainda existem muitas lacunas a serem preenchidas, principalmente em relação aos diferentes espectros das manifestações clínicas e o impacto dessa infecção ao longo do desenvolvimento das criança e seu efeito nas famílias. Segundo Kapogiannis (2017) os profissionais de saúde foram desafiados à compreender esses eventos

ao logo prazo, utilizando lições aprendidas no manejo de outras infecções congênitas para guiar a avaliação, cuidado e ao tratamento longo do desenvolvimento das crianças acometidas por essa infecção. Ampliar o conhecimento na caracterização dos diferentes aspectos dessas manifestações na infecção congênita pelo ZIKV poderá fornecer dados para equipe interdisciplinar direcionar seus objetivos na reabilitação estimulando as crianças afetadas para desenvolver, ao máximo, seu potencial de neurodesenvolvimento.

## IV. REVISÃO DA LITERATURA

### IV.1. O ZIKV

O ZIKV foi descrito pela primeira vez em 1947, em primatas – macacos *Rhesus*, durante um surto de febre amarela silvestre na Floresta Zika em Uganda-África (Dick,1952). Trata-se de um vírus de RNA, do gênero *Flavivirus*, pertencente à família *Flaviviridae*. Possui um genoma de 11 kb, sete não estruturais (NS1, NS2A, NS2B, NS3, NS4A, NS4B, NS5) e três proteínas estruturais (C, prM e E) (White, 2016). Pode ser destruído quando exposto ao permanganato de potássio a 0,5%, temperaturas acima de 60°C, ou submerso em éter por pelo menos 24h (Dick,1952).

A análise filogenética do ZIKV indica que ele pode ter experimentado vários eventos de recombinação, resultando em mudanças significativas nas sequências de suas proteínas e nucleotídeos, explicando assim, as diferenças intrínsecas na patogenicidade/virulência de suas diferentes cepas (Pettersen,2016; Anfasa,2017; Simonin,2017).

As principais linhagens descritas são a africana e asiática (Anfasa,2017). A linhagem asiática foi originada da migração do vírus da África para o Sudeste Asiático chegando a Malásia, espalhando-se pelas ilhas do Pacífico e chegou às Américas em 2015 (Figura I) (Waggoner & Pinski, 2016). A cepa asiática tem sido identificada como responsável pelos surtos dessa infecção no Brasil (Pettersen-2016, Simonin,2017).

### IV.2. A infecção pelo ZIKV em Humanos

A primeira infecção pelo ZIKV em humanos foi documentada na Nigéria em 1954 (Macnamara,1954). O primeiro grande surto da infecção pelo ZIKV, foi registrado em 2007 na ilha de Yap, na Micronésia (Duffy,2006), e em 2013, durante um surto na Polinésia Francesa, foi

reportada complicações neurológicas, a Síndrome de Guillan Barré, que é uma polineuropatia mediada pelo sistema imune (Oehler, 2014). Outras sequelas neurológicas associadas a essa infecção também foram descritas em outros surtos anteriores, como a meningite e meningoencefalite (Blazquez, 2016).

Em maio de 2015, o primeiro caso de transmissão autóctone do ZIKV foi documentado na Bahia-Brasil (Campos, 2015), marcando, assim a identificação desse vírus nas Américas (Figure 1). No entanto, estudos filogenéticos apontam que ZIKV estaria circulando no Brasil

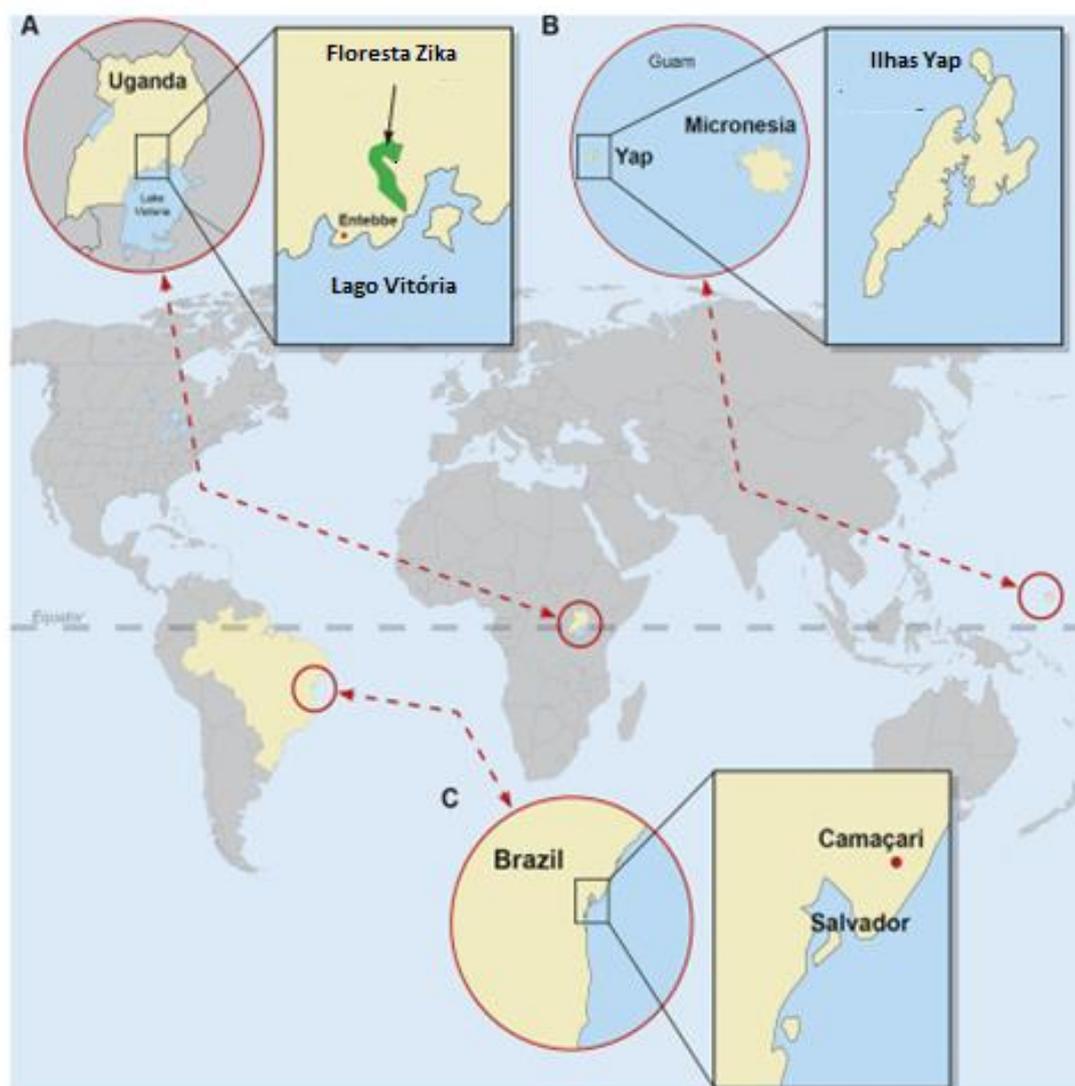


Figura I – Fluxo da entrada do ZIKV nos continentes Africano, Asiático e Americano.  
Fonte: Woggoner & Pinski, 2016.

há pelo menos 02 anos antes (Metskey,2017; Zanluca,2015). Coelho et al (2018) descreveram o fenótipo da SCZ em uma criança nascida no interior da Bahia-Brasil em 2011, sugerindo assim, uma possível circulação do ZIKV, no Brasil, há pelo menos 04 anos, antes do surto de 2015.

O surto da infecção pelo ZIKV ocorrido no Brasil foi associado a uma manifestação ainda não observada, a microcefalia e graves anormalidades no cérebro de fetos, levando a Organização Mundial de Saúde (OMS) a declarar, em fevereiro de 2016, o estado de emergência de saúde pública de preocupação internacional (OPAS,2016). O Centro de Controle de Doenças (CDC) também teve seu nível de alerta de emergência elevado para o nível 1 (CDC, 2016). A diminuição significativa de novos casos de microcefalia levou, em maio de 2017, ao fim do estado de Emergência de Saúde Pública de Interesse Internacional, mas foi mantida a recomendação do status de vigilância. Após a entrada do ZIKV no Brasil, ele disseminou-se por mais de 30 países das Américas e do Caribe, sendo que nos Estados Unidos, Canadá e Europa ZIKV restringiu-se a viajantes oriundos de áreas afetadas (Plourde, 2016; Musso, 2016).

Através da análise filogenética das cepas africanas e asiáticas do ZIKV foi possível traçar a trajetória do surto e detectar mutações que podem estar associados a novos fenótipos de doenças ou afetar o diagnóstico molecular (Metsky,2017). Ambas diferem em suas habilidades para infectar células do sistema nervoso central, causando problemas no neurodesenvolvimento. Um estudo *in vitro* comparou o potencial de uma cepa africana (MR766) com uma asiática (FSS13025) para atravessar a barreira placentária, no início e no final da gravidez, e foi observado que a placenta no início da gravidez é mais facilmente violada pelo ZIKV, do que as células relativamente mais resistentes da placenta madura, sugerindo que o feto em desenvolvimento está mais vulnerável ao vírus no início do primeiro trimestre; mostrou, ainda, que as células-tronco embrionárias foram lisadas mais rapidamente pela cepa africana, indicando que

ela pode ameaçar uma gravidez mais fortemente que se acreditava; porém a cepa asiática foi ligada a anormalidades cerebrais fetais, apresentando menor taxa de infecção, menor produção viral e baixa indução de morte celular precoce (Sheridan, 2017). Outro estudo revelou que a cepa asiática é capaz de infectar e induzir a morte de células progenitoras neurais humanas, que são células-alvo importantes no desenvolvimento da microcefalia congênita (Anfasana-2017). Esses resultados de estudos *in vitro*, podem explicar, pelo menos em parte, à capacidade de a cepa asiática causar infecções menos destrutivas e mais crônicas no sistema nervoso de fetos, permitindo a gravidez continuar e levando ao desenvolvimento de malformações congênicas; já as cepas de linhagem africana, quando entram no feto, provocam maior replicação viral e lise celular, resultando em uma interrupção precoce da gravidez (Sheridan,2017). A análise das sequências dos vírus encontrados no Brasil, evidenciam que cepa brasileira é originada da cepa asiática (Zanluca, 2015; Metskey,2017)

#### **IV. 3. Transmissão do ZIKV em humanos**

O ZIKV em humanos é adquirido primordialmente por transmissão vetorial, quando um artrópode, durante uma refeição de sangue virêmico, passa o vírus pela saliva infectada para um novo hospedeiro. Esse modo natural de transmissão inclui um ciclo silvestre, envolvendo mosquitos hematófagos do gênero *Aedes* e primatas não humanos, e um ciclo urbano entre humanos e o mosquito. O principal vetor é o *Aedes aegypti*; o *Aedes albopictus* também tem sido identificado como um hospedeiro, pois ambas as espécies são invasoras de muitas regiões tropicais do mundo e partilham de habitat semelhantes (recipientes naturais e artificiais) encontrados em ambiente humano peridoméstico (Lower,2018). Eles também estão intimamente associados com outras arboviroses endêmicas no Brasil (Musso,2018; Lower, 2018). Altas

concentrações de mosquito *Aedes aegypti*, aglomeração urbana e pobreza foram identificadas como fatores determinantes para rápida disseminação da ZIKV entre humanos (Hotz, 2017)

Figura II.

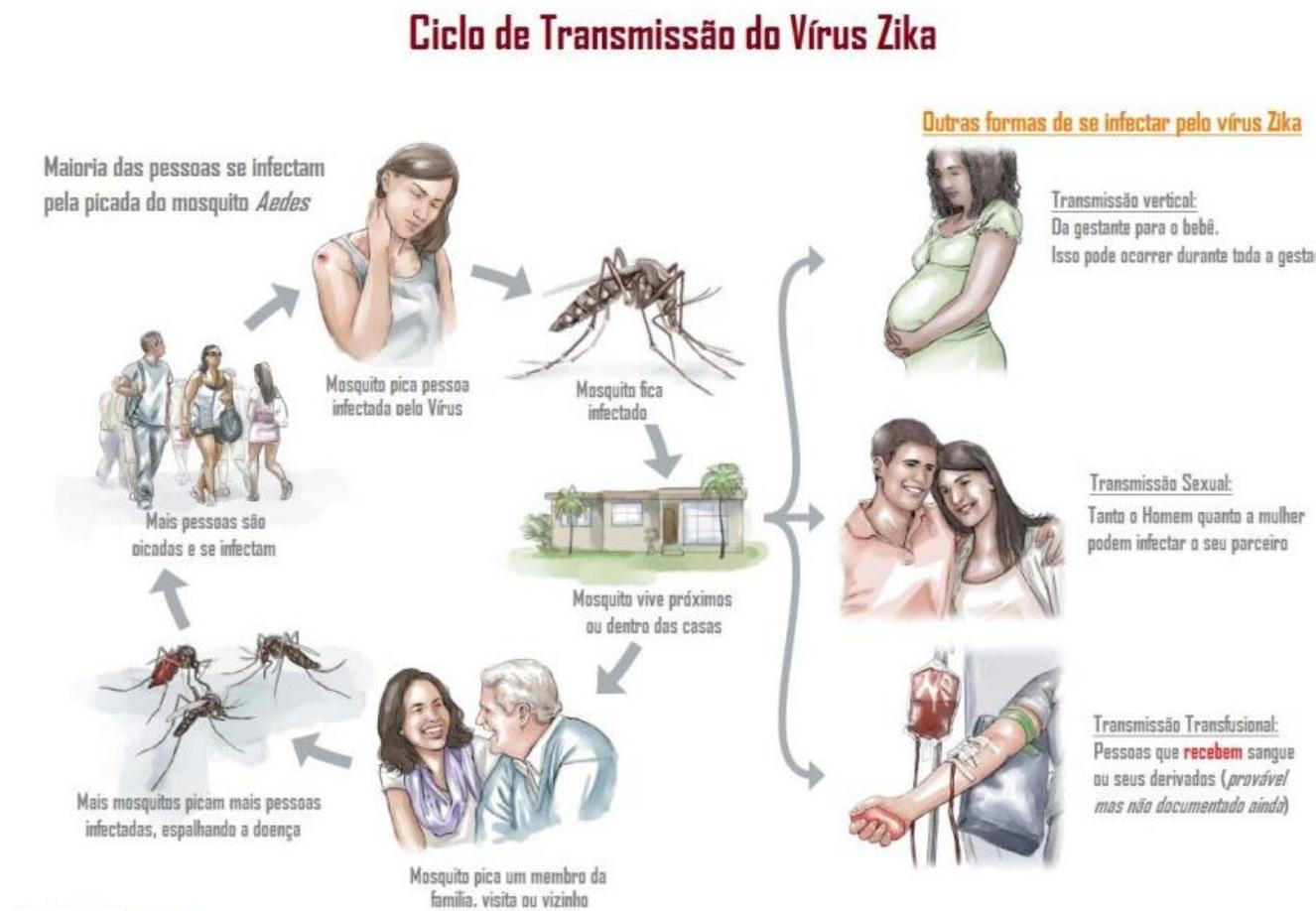


Figura III. Formas de transmissão do ZIKV

Fonte: <https://www.cdc.gov/zika/pdfs/zika-transmission-infographic.pdf>

A transmissão sexual tem sido apontada como um importante papel na sua disseminação em áreas não endêmicas do Zika (Sanchez-Montalva, 2018), havendo relatos de detecção prolongada de RNA do ZIKV no sêmen humano, com o maior tempo de detecção, até 188 dias após o início dos sintomas da ZIKV (Mansy, 2016). A transmissão do ZIKV também já está bem documentada por componentes sanguíneos contaminados (Galel-2017) e após o surto no

nordeste do Brasil, também pela transmissão materno-fetal (Besnard, 2014; Oliveira Melo, 2016, Noronha, 2016). O ZIKV também foi encontrado no leite materno, porém há necessidade de mais evidências para identificar a transmissão pela amamentação (Blohm et al, 2017; Dupont-Rouzeyrol 2016).

#### **IV. 4. Sintomatologia da Infecção pelo ZIKV**

Geralmente o ZIKV causa uma infecção assintomática e seu período de incubação varia de 03 a 12 dias, com duração média da doença de 05 a 07 dias. Os sintomas, quando ocorrem, são leves, inespecíficos e autolimitados; sendo a mais frequente *rash* cutâneo, podendo estar acompanhada de febre inespecífica. Outras manifestações clínicas comuns de outras doenças exantemáticas, como a dengue e chikungunya, também podem estar presentes: conjuntivite não purulenta, poliartralgia, edema periarticular, cansaço, dor de cabeça, dor retro orbital, vômitos e linfadenopatia podem também estar presentes (Duffy,2009; Brasil 2016). Devido essa sobreposição clínica de sintomas com outras doenças exantemática, faz-se necessário testes laboratoriais para confirmação diagnóstica da infecção pelo ZIKV.

#### **IV. 5. Diagnóstico Laboratorial da infecção pelo ZIKV**

Os testes de laboratório para diagnóstico da infecção pelo ZIKV têm várias limitações, levando-se em consideração as dificuldades de interpretação dos seus resultados, os tipos de ensaios, amostras e tempo ideal para realizá-los (Figura III).

No bebê, a coleta deve ocorrer logo após o nascimento, se possível aos 02 dias de vida, sendo recomendados o teste molecular de reação em cadeia da polimerase por transcrição reversa em tempo real (rRT-PCR), considerado o “padrão ouro; também tem sido usado o teste de ácido nucleico para ZIKV (NAT), técnica altamente sensível e específica para ácidos

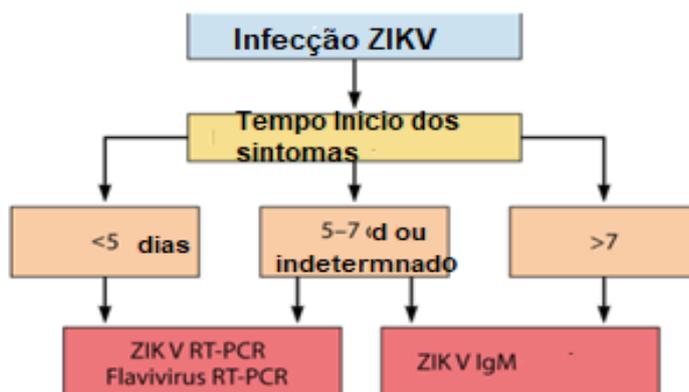


Figura III – Diagnóstico laboratorial da Infecção pelo ZIKV

Fonte: Musso, D & Guble, D.J., 2016

nucleicos virais, e detecta-os mais cedo do que os outros métodos de rastreio; o RNA do ZIKV está presente nos fluidos corporais de forma transitória, portanto, NAT negativo não exclui a infecção (Figura IV) O teste sorológico recomendado é a imunoglobulina M (IgM). Esse é afetado pelo tempo de coleta da amostra, resultado negativo de IgM não exclui a infecção porque a amostra pode ter sido coletada antes do desenvolvimento de anticorpos IgM, ou após esses anticorpos terem diminuído. Por outro lado, os anticorpos IgM pode ser detectável por meses após a infecção inicial; o que permite diferenciar se a infecção ocorreu antes ou durante a gravidez quando realizado em mulheres grávidas (Adebanjo et al,2017). O PRNT é um auxiliar na diferenciação de anticorpos anti-*Flavivirus*, pois é relativamente específico em infecções primárias por *Flavivirus*, ou seja, quando não há infecção prévia por outro *Flavivirus* (Herrada,2018).Ele não consegue distinguir anticorpos maternos e infantis em amostras coletadas de bebês no momento ou próximo ao nascimento; mas na idade  $\geq 18$  meses, é possível confirmar ou descartar a infecção congênita pelo ZIKV. Caso a coleta da amostra seja realizada mais tarde, haverá dificuldade na distinção entre infecção congênita, perinatal e pós-natal (Russel, 2016).

As amostras devem ser coletadas do soro ou urina, também no líquido (se forem coletadas para algum outro estudo); e não se recomenda o sangue do cordão umbilical, porque pode produzir resultados falso-positivos devido ao risco de contaminação com sangue materno. Contudo, a maioria dos testes ainda estão centralizados em laboratórios de referências, para uso restrito em emergência, sendo selecionados conforme as informações clínicas fornecidas pelo solicitante da assistência médica (Plourde, 2016). No Brasil, os testes moleculares só foram disponibilizados na rede pública de saúde a partir de outubro de 2016 (MS,2016).

#### **IV. 6. A infecção Congênita pelo ZIKV**

O aumento de cerca de 40 vezes (20 casos por 10.000 nascidos vivos) dos casos de crianças nascidas com microcefalia durante o surto de ZIKV no Brasil, em 2015, especialmente no Nordeste (Schuller-Faccini, 2016) despertou interesse na comunidade científica para investigar a possível transmissão vertical desse e sua capacidade para causar defeitos congênitos no feto, até então não reportadas.

Vários estudos demonstraram fortes evidências do neurotropismo do ZIKV e suas interferências na neurogênese do cérebro humano. Destacamos os seguintes:

- Garcez et al. (2016) demonstraram que o Zika tem como alvo as células cerebrais humanas, reduzindo sua viabilidade e o crescimento de neuroesferas e organóides cerebrais, sugerindo que pode revogar a neurogênese durante o desenvolvimento do cérebro.
- Tang et al. (2017) demonstraram que o ZIKV infecta seletivamente células progenitoras neurais corticais, que dão origem ao cérebro fetal (hNPCs), provocando um aumento da morte celular e desregulação da progressão do ciclo celular.

- Li et al (2018) em estudo experimental em animais mostraram a capacidade de replicação do ZIKV em várias áreas do sistema nervoso central (massa cinzenta, hipocampo, córtex cerebral), e medula espinhal, chamando atenção para a ausência de replicação no bulbo olfatório. O alto nível de infecção nos tecidos cerebrais causou significativa redução no tamanho e o peso dos cérebros, provavelmente causada pela morte celular induzida pelo vírus; observaram, ainda, que a letalidade do ZIKV é dose dependente.

Outros estudos buscam estabelecer a frequência de risco da infecção congênita pelo ZIKV e o desenvolvimento de anormalidades cerebrais, principalmente a microcefalia.

- Brasil et al. (2016) observaram que apesar dos sintomas clínicos leves nas mães com ZIKV durante a gravidez, essa infecção foi deletéria para o feto, levando-o à morte ou à restrição do crescimento fetal; houve também ocorrência de microcefalia desproporcionada apenas em lactentes infectados no primeiro trimestre de gravidez, associada a calcificações cerebrais, atrofia cerebral, aumento ventricular, e hipoplasia das estruturas cerebrais estimando-se o risco de até 40% de ocorrência de microcefalia em crianças nascidas de mulheres com sintomas de ZIKV durante a gravidez.
- Shapiro-Mendonza et al. (2017) em uma coorte de mulheres grávidas com evidências laboratoriais de provável infecção recente pelo ZIKV, nos EUA, reportaram uma estimativa global de 5% de fetos ou crianças nascidas com anormalidades cerebrais e/ou microcefalia associados à ZIKV, sendo o risco de infecção associado ao primeiro trimestre de gravidez em 8%, no segundo trimestre em 5%, e terceiro trimestre em 4% dos casos.

- Honein et al. (2018) no estudo realizado com grávidas dos USA e Havaí estimaram em cerca de 6% o risco de anormalidades cerebrais, principalmente a microcefalia; porém quando a infecção ocorreu durante o primeiro trimestre de gravidez, a frequência aumentou para 11%. As anormalidades cerebrais estavam associadas ou não a microcefalia, defeitos do tubo neural e outras anomalias cerebrais precoces, além de anormalidades oculares; confirmando, assim, a importância de triagem de mulheres grávidas para a exposição ao ZIKV, independentemente de apresentarem sintomatologia da infecção.
- Hoen et al. (2018) em uma coorte com 546 gestações, em territórios franceses e americanos, com infecção sintomática aguda pelo ZIKV confirmada por PCR, encontraram uma frequência de risco geral para microcefalia e defeitos neurológicos graves estimadas em 7,0% sendo que 1,6% apresentavam microcefalia grave (mais de 3 DP abaixo da média), característica da CZS; os defeitos neurológicos e oculares foram mais comuns quando a ZIKV ocorreu no primeiro trimestre da gravidez.
- Pomar et al (2018) demonstraram que 26% dos fetos e recém-nascidos são infectados congenitamente quando ocorre infecção materna por ZIKV durante a gravidez, e destes, aproximadamente 13% terão resultados adversos graves, ou seja, haverá anormalidades cerebrais ou perda fetal; tais resultados são semelhantes com a casuística da transmissão materno-fetal do citomegalovírus congênito encontrada por Liptiz et al. (Liptiz, 2013), que estimou em torno 13,8% de anormalidades cerebrais detectadas em estudo neuroimagem em lactentes com infecção congênita pelo citomegalovírus, sendo que o risco de seqüela é maior quando a infecção ocorre no primeiro trimestre de gravidez.

A confirmação laboratorial da infecção congênita pelo ZIKV é feita com um resultado positivo do NAT. Se o NAT for negativo, mas anticorpos IgM forem detectados na criança, considera-se provável infecção congênita pelo ZIKV. Quando o IgM for negativo em amostras no soro ou urina logo após o nascimento a infecção congênita é improvável.

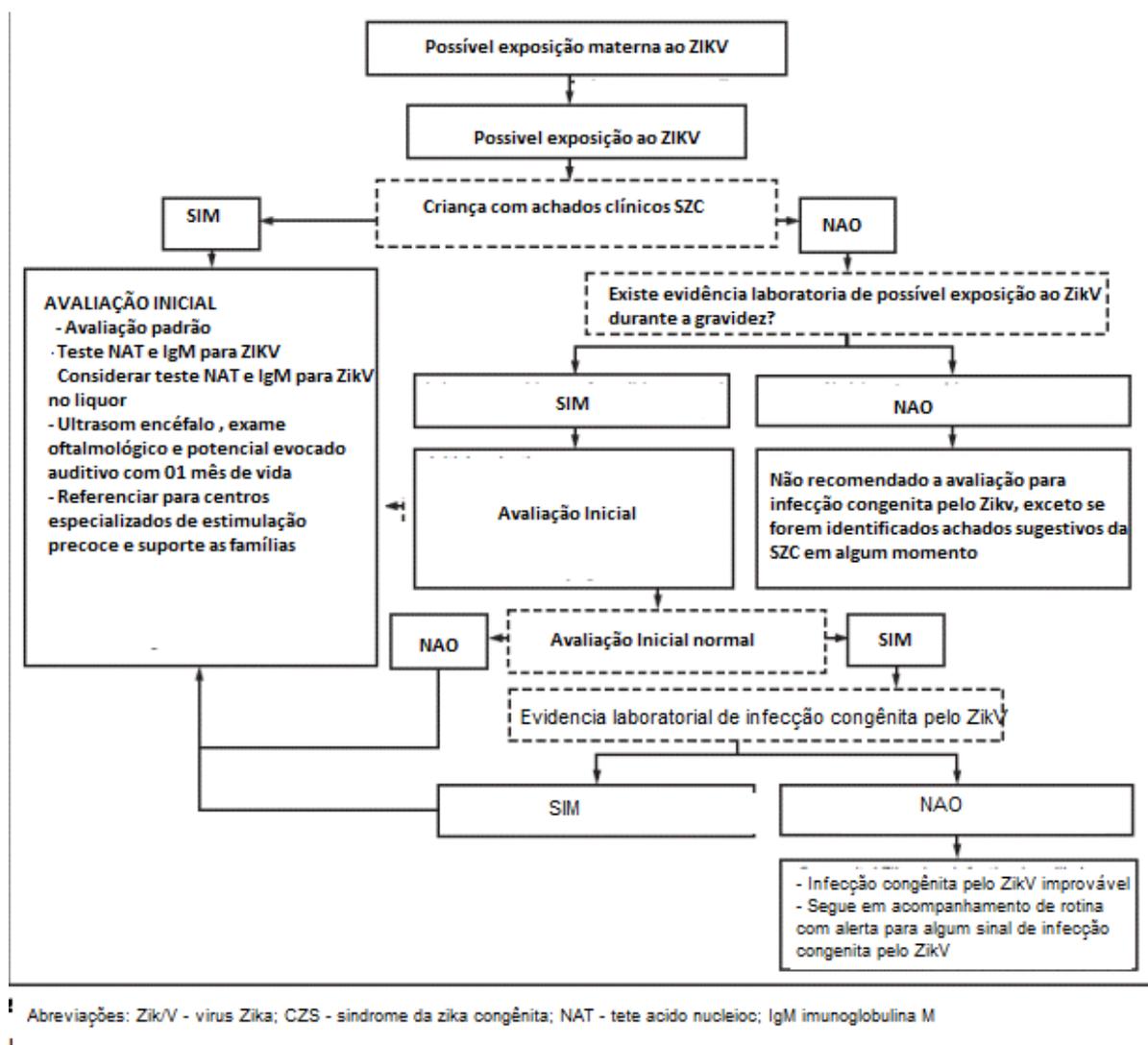


Figura IV – Fluxograma para diagnóstico da infecção congênita pelo ZIKV

Fonte: Adebajo et al, 2017

Em crianças que vivem em áreas onde o ZIKV é endêmico que não realizam testes logo após o nascimento é muito difícil distinguir a infecção pós-natal e congênita. A criança deve ser avaliada como se tivesse infecção congênita pelo ZIKV mesmo quando não for possível determinar o momento em que ocorreu a infecção (Adebajo, 2017) (Figura V).

RESULTADOS DOS TESTES NA CRIANÇAS *		
NAT	IgM	Interpretação
Positivo	Qualquer resultado	Infecção congênita ZikV confirmada †
Negativo	Não negativo	Provável infecção congênita ZikV §,¶
Negativo	Negativo	Infecção congênita ZikV improvável §,**

**Abreviações:** ZikV - vírus Zika; NAT- teste ácido nucleico; IgM- imunoglobulina M

\* Amostra do soro, urina o líquor da criança

† Distinguir a infecção congênita e a pós-natal é difícil em crianças que vivem em áreas onde a transmissão do ZikV está em curso e eles não fazem exames logo após o nascimento. Se o tempo de infecção não pode ser determinado, as crianças devem ser avaliadas como se tivessem infecção congênita pelo ZikV

§ Resultados laboratoriais devem ser interpretados no contexto do tempo da infecção durante a gravidez, resultados sorológicos maternos, achados clínicos consistentes com a CZS e qualquer teste confirmatório com teste de neutralização e redução de placa.

¶ Se o teste de neutralização por redução de placa para ZikV é negativo, sugere que o teste de ZikV na criança é falso-positivo

\*\* Infecção congênita pelo ZikV é improvável se a espécime é coletada nos primeiros dias após nascimento e avaliação clínica inicial é normal; contudo os profissionais que acompanham a criança devem ficar alertas para identificar algum novo achado da infecção congênita pelo ZikV

Figura V –Diagnóstico laboratorial para infecção congênita pelo ZIKV

Fonte: Adebanjo et al, 2017

França et al (2016) estabeleceram critérios para definição do diagnóstico de infecção congênita pelo ZIKV com base nos resultados de exames de neuroimagem e testes laboratoriais para o ZIKV e outras infecções relevantes, a fim de classificar os 1501 casos de crianças com microcefalia congênita notificados no MS, no período de novembro de 2015 a julho de 2016 e, deste total, apenas 602 casos foram relacionados a ZIKV no território brasileiro. A partir daí foram classificados nas cinco categorias seguintes: casos confirmados (76) com evidências laboratoriais de ZIKV; casos altamente prováveis (54) com achados de neuroimagem específicos e resultados laboratoriais negativos para outras infecções congênitas; casos moderadamente prováveis (181) apresentavam achados de neuroimagem específicos, sem descartar a outras infecções congênitas; casos um pouco prováveis (291) tiveram achados de neuroimagem, embora com perímetro cefálico (PC) com valores normais, e suas mães não relataram erupção cutânea durante a gravidez; casos excluídos (899) não apresentavam critérios para as classificações já

mencionadas acima. Curiosamente, foram encontrados entre os casos confirmados ou provável de ZIKV crianças que apresentavam valores normais de PC, cujas mães não reportaram sintomas da ZIKV durante a gravidez, alertando-nos para necessidade de ampliar critérios de rastreamento de população mais vulnerável.

Estudos descrevem as anormalidades encefálicas evidenciadas por estudo de imagem associadas a a infecção congênita pelo ZIKV:

- De Fátima et al. (2016) avaliaram 23 crianças e em seis (06) delas houve confirmação laboratorial para infecção congênita pelo ZIKV (77% com sintomas maternos da infecção no primeiro trimestre de gravidez) e todas as crianças avaliadas apresentaram achados de neuroimagem com anormalidades do desenvolvimento cortical e padrões dos sulcos e giros cerebrais, além de ventriculomegalia; houve também outros achados como cisterna magna aumentada, anormalidades do corpo caloso (hipoplasia ou hipogênese), hipoplasia cerebelar e do tronco encefálico, aumento do espaço subaracnoídeo supratentorial. Quanto às calcificações, estavam localizadas predominantemente na junção cortical e subcortical da substância branca em todas as crianças avaliadas; havendo, também, várias características encontradas no grupo de crianças com infecção congênita pelo ZIKV semelhantes a achados em outras infecções congênicas, porém a localização das calcificações cortico-subcorticais parecem ser uma característica específica da ZIKV.
- Hazin et al. (2016) no seu estudo com 23 casos com critérios clínicos e epidemiológicos para infecção congênita pelo ZIKV (07 com IgM positivo para ZIKV no liquor) encontraram microcefalia associada com anomalias cerebrais graves, incluindo calcificações - localizadas principalmente na junção cortical-,

diminuição dos giros corticais, ventriculomegalia e anormalidades da substância branca, ventriculomegalia, simplificação dos giros global do córtex cerebral, densidade anormal da substância branca, hipoplasia cerebelar e de tronco cerebral.

- Soares de Oliveira-Szejnfeld et al (2016), no grupo de 17 casos com confirmação laboratorial de infecção congênita pelo ZIKV e 23 com infecção presumida, encontraram achados de anormalidades cerebrais semelhantes nos dois grupos, as mais frequentes foram: ventriculomegalia, anormalidades do corpo caloso, anormalidades migratórias corticais e calcificações na junção cortical e subcortical da substância branca; essa última, uma topografia incomum para as calcificações em outras infecções congênicas.

O espectro completo de anomalias relacionadas a infecção congênita pelo ZIKV foi caracterizado por Moore et al. (2016) que descreveram o fenótipo da SCZ que definida como um padrão reconhecível de anomalias estruturais e incapacidades funcionais secundárias a danos no sistema nervoso central e, talvez, periférico, com 05 características específicas: (1) microcefalia grave com crânio parcialmente colapsado; (2) córtex cerebral fino com calcificações subcorticais; (3) cicatrização macular e manchamento retiniano pigmentar focal; (4) contraturas congênicas e (5) hipertonia acentuada e sintomas de envolvimento extrapiramidal. A microcefalia grave nesses casos é definida como como uma circunferência occipitofrontal menor que o terceiro percentil, considerando o sexo, idade e idade gestacional ao nascimento (CDC,2018). Sendo resultante de uma sequência na ruptura do crescimento do cérebro em desenvolvimento, que foi descrita por Russel et al (1984). Cujas apresentações clínicas: expressiva redução do tamanho do crânio, proeminência occipital, suturas sobrepostas, couro cabeludo rugoso com distribuição de cabelo normal- decorre da interrupção do crescimento normal do cérebro, que

se desenvolvia normalmente aproximadamente até as primeiras 18 semanas, e um insulto provocou uma destruição parcial do tecido cerebral, com conseqüente redução da pressão hidrostática intracraniana e colapso parcial do crânio ( Figura VI).

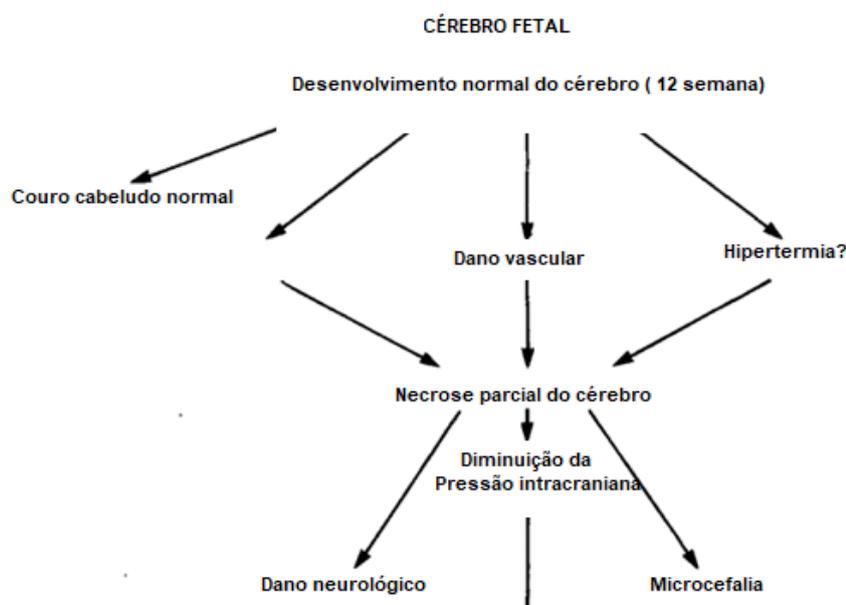


Figura VI– Esquema demonstrando os eventos envolvidos na seqüência de interrupção do desenvolvimento do cérebro fetal.

Fonte: Russel et al., 1984

Os critérios para definição do diagnóstico de microcefalia foram revisados e amplamente divulgados na tentativa de maior rastreamento dos casos relacionados à infecção congênita pelo ZIKV. A definição atual está baseada no Padrão de Crescimento Fetal para Circunferência da Cabeça no Nascimento - INTERGROWTH-21st (Villar, 2014) que define microcefalia congênita como uma malformação em que o cérebro não se desenvolve de maneira adequada, onde os recém-nascidos apresentam um perímetro cefálico inferior a dois desvios-padrão abaixo da medida para idade gestacional e sexo (CDC,2016). As sequelas neurológicas decorrentes da microcefalia não estão diretamente correlacionadas com o tamanho da cabeça,

embora isso traduza diretamente o tamanho do cérebro subjacente; mas, sobretudo pela extensão do dano cerebral.

As anormalidades neurológicas resultantes da infecção congênita pelo ZIKV incluem além da microcefalia, convulsões, problemas visuais, deficit auditivos, reflexos primitivos exagerados, postura anormal, atraso no desenvolvimento motor e cognitivo, disfagia e complicações respiratórias (Kapogiannis,2017). Estudos mais recentes apontam que essas manifestações neurológicas podem ocorrer com ou sem a microcefalia, e até mesmo com microcefalia pós-natal. Aragão et al. (2017) avaliaram 77 paciente com provável infecção congênita pelo ZIKV e 24,6% deles apresentaram a SCZ ( 11,7% apresentaram microcefalia ao nascimento, 9,1% microcefalia pós-natal e 3,9% não apresentavam microcefalia), sendo que a frequência de anormalidades cerebrais foram estatisticamente semelhantes nos dois últimos grupos, contudo as crianças com microcefalia apresentaram múltiplas e mais graves anormalidades cerebrais. Lemos de Carvalho et al. (2018) reportou o caso de uma criança de 23 meses com provável infecção congênita pelo ZIKV, microcefalia e leves anormalidades cerebrais (leves calcificações no núcleo lenticular à direita e braço posterior da cápsula interna esquerda) que cursa com desenvolvimento esperado para idade, contudo enfatiza a necessidade de manter seguimento longitudinal, considerando que o desenvolvimento na primeira infância é dinâmico e sofre muitas influências ambientais. Considerando que ainda existem muitas lacunas no conhecimento da infecção congênita pelo ZIKV, principalmente nas crianças que tiveram exposição intraútero ao ZIKV, e ao nascimento, não apresentaram nenhuma evidências clínicas ou radiológicas da infecção congênita pelo ZIKV. Lopes Moreira et al. (2018) demonstraram em um grupo de 94 crianças com exposição intraútero à ZIKV, 14% delas apresentavam grave atraso no desenvolvimento (2 desvio padrão abaixo do escore médio na Escala Bayle III), sendo que aquelas que não apresentaram alterações de neuroimagem ao

nascimento, foram menos propensas ao atraso no desenvolvimento, sugerindo que , embora uma grande proporção de crianças expostas ao ZIKV sem microcefalia desenvolva-se normalmente, muitas não o fazem.

Os diferentes espectros das manifestações clínicas decorrentes da infecção congênita pelo ZIKV definiu uma nova entidade nosológica que é a SCZ, caracterizada como um padrão distinto do defeito congênito exclusivo de fetos e bebês com infecção pelo ZIKV antes do nascimento, conforme caracterizado por Moore et al (2017); podendo esta associado com: outras anormalidades estruturais no cérebro (atrofia e assimetria cerebral, anormalidades ou ausência de estruturas cerebrais, hidrocefalia e distúrbios da migração neuronal, pele excessiva e redundante do couro cabeludo);outras apresentações neurológicas (hiperreflexia, irritabilidade, tremores, convulsões, disfunção do tronco cerebral, disfagia); além de anormalidades de olho (manchas pigmentares focais e atrofia coriorretiniana na mácula, hipoplasia do nervo óptico, escavação, atrofia, lesões da retina, colobomas da íris, glaucoma congênito, microftalmia, subluxação do cristalino, catarata e calcificações intraoculares) (CDC,2018).

Esse espectro de manifestações neurológicas SCZ coincide com o diagnóstico de Paralisia Cerebral; que é definida por Rosembaur et al. (2007) como um grupo de desordens permanentes do movimento e da postura que causam limitação de atividade, sendo frequentemente acompanhados por distúrbios da sensação, percepção, cognição, comunicação e comportamento. Marques et al. (2018) demonstrou que crianças com provável infecção congênita pelo ZIKV, aos 18 meses, apresentaram critérios clínicos (grave atraso no desenvolvimento motor grosso) para diagnóstico de paralisia cerebral (01 diplégica e 73 quadriplégicas). França et al. (2018) mostraram que crianças com SCZ apresentaram desempenho extremamente baixo no domínio motor e no desenvolvimento cognitivo, enquanto crianças típicas apresentaram

desempenho médio nos domínios cognitivo e de desenvolvimento motor. Alves et al. (2017), em sua série de 24 casos com SCZ avaliadas pela escala DENVER, observaram que todas as crianças apresentaram atraso no neurodesenvolvimento com uma idade média de 19.9 meses, com grande defasagem esperado para idade cronológica. Ferreira et al. (2018) avaliaram 37 crianças com microcefalia associada a infecção congênita pelo ZIKV utilizando a ICF (International Classification of Functioning Disability and Health), observaram que aos 21 meses, elas apresentaram um perfil funcional de incapacidade completa na maioria as categorias de função do corpo, sendo que as áreas de atividade e participação foram altamente impactadas, particularmente nas categorias relacionadas com a mobilidade.

## **V. CASUÍSTICA, MATERIAL E MÉTODOS**

### **V.1. Desenho do estudo**

Trata-se de um estudo retrospectivo, descritivo, de corte transversal.

### **V.2. População de referência**

Crianças com microcefalia congênita que foram admitidas em um centro de reabilitação infantil na cidade de Salvador – Bahia - Brasil. Esse é um centro de referência para avaliação e estimulação de crianças com desordens neurológicas e ortopédicas.

### **V.3. Características da população de estudo**

Crianças com microcefalia congênita cujas mães reportaram sintoma de ZIKV, principalmente *rash* cutâneo, em algum trimestre da gravidez e foram admitidas no referido centro de reabilitação, no período de novembro 2015 a setembro de 2016. Nesse centro de reabilitação infantil houve um aumento na demanda de admissões de crianças com microcefalia nesse período, para facilitar o acesso a admissão ocorreu através de um cadastro *online* preenchido com dados do relatório médico de alta da maternidade, após o agendamento, as crianças foram avaliadas por médicos pediatras especializados em reabilitação infantil para definição da hipótese diagnóstica, seguindo o acompanhamento com equipe interdisciplinar, também especializada em neuroestimulação (pediatras, fisioterapeutas, terapeutas funcionais, enfermeiros, psicólogos, fonoaudiólogos, professores hospitalares, educadores físicos e nutricionista).

### **V.4. Critérios de inclusão e exclusão**

Crianças admitidas com diagnóstico de microcefalia congênita (Q.02, CID 10), que foi considerada quando as medidas do perímetro cefálico (PC) tiveram pelos menos dois (02) desvios

padrão (DP) abaixo da média de idade, sexo e idade gestacional, conforme curva de Intergrowth-21-st (Villar, 2014), foram classificados como microcefalia grave os casos que apresentaram PC pelo menos três (03) DP abaixo da média de idade, sexo e idade gestacional (Ashwal, 2009); provável infecção pelo ZIKV durante a gravidez (UO6.9) foi definida por presença de sintomas ZIKV reportados pelas mães que residiam em área endêmica, principalmente *rash* cutâneo, em qualquer trimestre gestacional, independente de teste laboratorial para ZIKV (CDC,2016).

Foram excluídas do estudo as crianças que apresentaram complicações neonatais graves relacionadas à prematuridade, distorções característica de outras síndromes genéticas, e aqueles com dados incompletos no prontuário eletrônico; as crianças que as mães apresentaram resultados de sorologia positivos ou inconclusivos para outras infecções congênicas correlacionadas (sífilis, toxoplasmose, rubéola, citomegalovírus, HIV) e reportaram uso de drogas ilícitas, álcool ou infecção por dengue durante a gravidez foram também excluídas.

## **V.5. Protocolo de Avaliação**

A avaliação de todas as crianças foi realizada com protocolos padronizados e os dados foram registradas no prontuário eletrônico, assim como os resultados de exames.

Para a pesquisa foram coletados diretamente do prontuário dos pacientes os dados da anamnese (história pré-natal e perinatal, rotina de puericultura, antropometria, articulações), exame físico e neurológico (reflexos e reações posturais, tônus muscular, desenvolvimento motor e cognitivo com base nos marcos esperados para idade segundo a OMS (WHO,2006), testes laboratoriais, testes de neuroimagem e neurofisiológicos. Esses últimos seguiram os procedimentos descritos abaixo:

- Testes laboratoriais tiveram a finalidade de afastar outras infecções congênicas (sífilis, toxoplasmose, citomegalovírus, rubéola, HIV e dengue) feitos em amostra de soro do sangue periférico; ensaio enzimático ligado a imunofluorescência (ELFA) foi usado para

descartar infecção por citomegalovírus, rubéola e toxoplasmose; teste rápido imunocromatográfico foi utilizado para descartar a infecção por dengue; teste para doença venérea (VDRL) para rastrear a sífilis; método de imunoabsorção enzimática (ELISA) para pesquisa do IgM do HIV, que também foi o mesmo método usado para ZIKVa; nesse último, foi usado o kit comercial da Euroimmun, Lubeck, Alemanha.

- Exames de neuroimagem foram realizados em todas as crianças, a tomografia computadorizada (CT) do cérebro foi realizada com aquisição volumétrica por técnica multislice, sem contraste, usando o tomógrafo multislice (canal CT 64, Phillips Brilliance, Cleveland, OH, EUA); para ressonância nuclear magnética (RNM) usou-se as técnicas de spin-eco (SE), fast-spin-eco (FSE) e eco-gradiente, com imagens ponderadas em T1, T2, FLAIR e SWI em aquisições multiplanares, sem contraste, utilizando o equipamento Scanner de Ressonância Magnética Signa HDxt 1.5T, GEHealthcare, Wauskesha, WI, EUA. Os exames foram revisados por 01 radiologista experientes que descreveram os resultados seguindo uma padronização.
- Avaliação neurofisiológica consistiu na realização de videoeletroencefalograma (VEEG) utilizando o equipamento Neuroworkbench versão 07-01, Nihon Kodan Coporation, Tóquio, Japão com monitoramento simultâneo de vídeo e durante o sono espontâneo; o traçado foi obtido com um capacete com montagem para crianças com microcefalia, contendo dez eletrodos de acordo com o sistema internacional 10-20, duração de 20 minutos e monitorização cardíaca com dois canais de ECG. O potencial evocado auditivo (PEA) foi realizado pelo equipamento Viking EDX Versão 20.1, Natus Neurology Incorporated, Middleton, WI, EUA, foram aplicados estímulos monoaurais (clique de rarefação), com mascaramento contralateral, intensidade de 90dB, frequência de 10,1Hz, captação em A1 e A2, referência em Cz; ondas I, III e V foram avaliadas absolutas e entre as latências de

picos; para a audiometria em "V" foi usado um estímulo monaural (clique de rarefação), mascaramento contralateral, intensidade de 70, 50 e 30dB, frequência de 10,3Hz, captação em A1 e A2, referência em Cz. O potencial evocado visual (PEV) foi realizado no mesmo equipamento, através de estímulos monoculares, padrão FLASH, captação de Oz e avaliação da resposta P100.

Os dados coletados foram lançados no banco de dados elaborado no Programa Access (Microsoft Access 2010 Versão 14.0.6029.1000, Microsoft Corporation, Redmond, W A, EUA) e a análise descritiva das variáveis utilizando o pacote estatístico SPSS 21.0™ (Versão 21.0, IBM SPSS Statistics, Armonk, NY, EUA). As variáveis foram agrupadas em categoria, utilizando frequências absolutas e relativas; para as variáveis contínuas e ordinais foram utilizadas medidas de tendência central e de dispersão.

Esse estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética da Rede SARA H de Hospitais de Reabilitação - Associação das Pioneiras Sociais, protocolo de número 1.633.570.

**VI. ARTIGO****Clinical, Neuroimaging, and Neurophysiological Findings in Children with Microcephaly Related to Congenital Zika Virus Infection**

Int J Environ Res Public Health 16: pii: E309, 2019

















## VII. RESULTADOS GERAIS

No período do estudo foram identificados 181 casos de microcefalia, 102 (56,3%) preencheram os critérios de inclusão no estudo; 36 (19,9%) com outras causas de microcefalia e 43 (23,8%) com dados incompletos foram excluídas. O diagnóstico da microcefalia foi realizado durante a gravidez por ultrassonografia obstétrica em 67 (65,7%). O PC ao nascimento foi de  $28,6 \pm 1,7$  cm (Tabela 1) e 56 (54,9%) dos casos foram classificados como microcefalia grave ( $\leq 3$  DP *Intergrowth*). A média de idade na admissão foi  $4,05 \pm 2,3$  meses e PC foi de  $33,1 \pm 4,4$  cm ( $- 2$ DP *Intergrowth*) representando um crescimento médio de 1,2 cm/mês, não houve complicações neonatais graves, exceto a microcefalia (Tabela 2).

**Tabela 1.** Dados antropométricos das crianças com provável síndrome infecção congênita pelo ZIKV

Achados	Média	Desvio Padrão
Idade Gestacional, semanas	38,4	1,7
Ao nascimento		
Peso, Kg	2,6	0,5
Altura, cm	45,0	3,4
Perímetro Cefálico, cm	28,6	1,7
Admissão		
Idade, meses	4,1	2,3
Peso, Kg	5,4	1,7
Perímetro cefálico, cm	33,1	4,4
Idade na avaliação, meses	4,6	2,4

**Tabela 2.** Características clínicas das crianças com provável síndrome infecção congênita pelo ZIKV

Achados	Número de crianças avaliadas	Frequência (%)
Sexo feminino	102	56 (54,9)
Microcefalia Grave *	102	56 (54,9)
Parto cesáreo	100	58 (58,0)
Prematuridade † (34,2 ± 0,8 semanas)	102	09 (08,8)
Apgar 5min 7 a 10	84	82 (97,6)
Apgar 5min 5 a 6	84	02 (02,4)
Complicações neonatais‡	100	38 (38,0)

\*PC <-3 DP; † Idade Gestacional ao nascimento menos de 37 semanas; ‡Icterícia(19,0%) e convulsões precoces (8,0%).

A média de idade das mães no parto foi 28,3 ± 5,9 anos, sendo que 59 (57,9%) residiam na região metropolitana de Salvador, 39 (39,2%) no interior do estado e 03 (2,9%) em outros estados vizinhos da Bahia; 01 gravidez foi gemelar dizigótica com apenas 01 dos pares afetado; os sintomas de ZIKV foram erupção cutânea (100,0%), artralgia (49,0%), febre (41,2%), cefaléia (15,7%), destes 83 (81,4%) ocorreram no primeiro trimestre – 01 a 13 semanas – e 19 (18,6%) no segundo trimestre de gestação – 14 a 26 semanas; problemas durante a gravidez que foram reportados por 39,2% das mães, como infecção do trato urinário (50,0%), sangramento vaginal (35,0%), hipertensão arterial (32,5%) e diabetes gestacional (5,0%), todas tiveram resolução sem maiores complicações.

Nenhuma criança, ou mãe, apresentou anticorpos IgM contra citomegalovírus, dengue, rubéola, toxoplasmose ou VDRL positivo. Sorologia para ZIKV foi realizada em 99 crianças, sendo IgM encontrado em 04 (4,1%) e inconclusivo em 01 (1,0%).

Todos os bebês tiveram anormalidades cerebrais detectadas na neuroimagem que são mostradas na Tabela 3 e Figura 1. As principais anormalidades encontradas na avaliação

neurofisiológica foram: atividades epileptiforme no VEEG em 56,4% dos casos, potencial evocado auditivo foi alterado em 17,3% e alterações no potencial evocado visual em 14,1% casos. Na idade  $4,6 \pm 2,4$  meses as mais frequentes manifestações neurológicas observadas na criança são mostradas na Tabela 3. A artrogripose foi encontrada em 10,8% dos casos.

Outro achado relevante foram queixas trazidas espontaneamente pelos cuidadores, frequentemente mães, de problemas na rotina de cuidados da criança. Cerca de 39,0% dos cuidadores reportaram esses problemas, sendo os principais: dificuldades para alimentar a criança (36,3%), comportamento de irritabilidade /choro impaciente (27,5%) e dificuldades para criança dormir (9,8%).

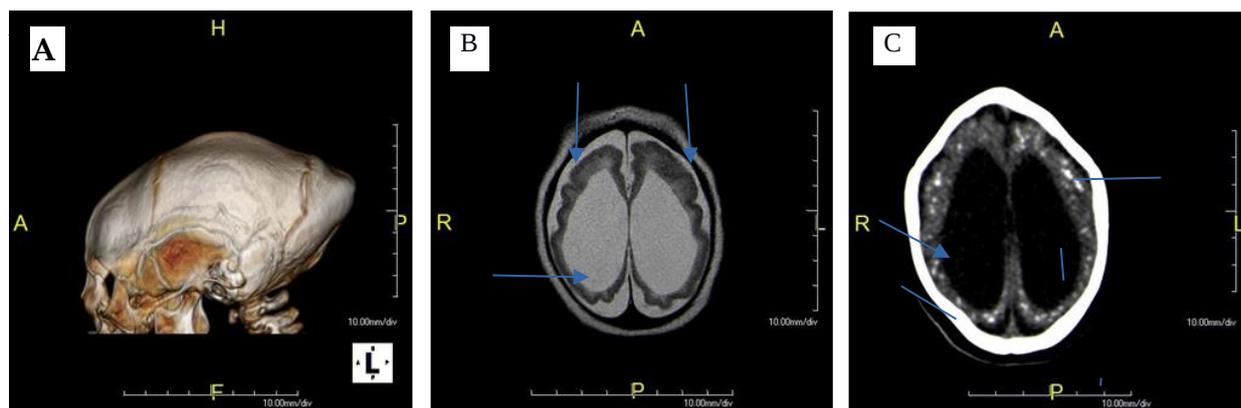
**Tabela 3.** Dados dos achados na avaliação das crianças com provável síndrome da infecção congênita pelo ZIKV

Achados	Nº crianças avaliadas	Frequencia (%)
Exame de Neuroimagem *		
Atrofia cerebral	102	94 (92,1)
Ventriculomegalia	101	93 (92,1)
Malformação no desenvolvimento cortical	101	86 (85,1)
Calcificações cortico-subcortical	101	81 (80,2)
Calcificações nos gânglios da base	101	62 (61,4)
Calcificações periventriculares	101	30 (29,7)
Calcificações no tronco cerebral	101	10 (9,9)
Calcificações no cerebelo	101	03 (2,9)
Anormalidades do corpo caloso	102	76 (74,6)
Alargamento do espaço subaracnoide	101	51 (50,5)
Hipoplasia do cerebelo	101	24 (23,7)
Hipoplasia do tronco encefálico	101	20 (19,8)
Alargamento de cisterna magna	101	19 (18,8)
Atraso de mielinização	97	05 (5,1)

Cistos intraparenquimatosos	101	02 (1,9)
Exame Neurofisiológico		
Potencial Auditivo alterado	81	14 (17,3)
Potencial Visual Alterado	85	12 (14,1)
Videoeletroencefalograma		
- Atividade epileptiforme	96	54 (56,3)
- Atividade lenta	96	08 (8,5)
- Atividade normal	96	34 (35,4)
Exames Neurológico		
• Hipertonia/espasticidade	101	98 (97,0)
• Atraso nos marcos desenvolvimento infantil †	101	91 (92,8)
• Hipereflexia	101	74 (73,3)

\* Os achados foram calculados com base na qualidade da neuroimagem para os achados específicos nos exames (72 crianças realizaram CT; 25 RNM e 05 realizaram CT e RNM). † Marcos esperado pela idade cronológica estabelecidos pela OMS.

**Figure 1.** Achados de neuroimagem em crianças com provável síndrome da infecção congênita pelo ZIKV



**Figura 3** Imagem de CT em 3D de crianças com 03 meses de idade e provável SCZ evidenciando microcefalia com proeminência occipital e suturas sobrepostas (A). Imagem de RM axial T2 / FSE de uma criança de 04 meses de idade com provável SCZ demonstrando ventriculomegalia, atrofia cerebral difusa e malformações do desenvolvimento cortical com padrão girial simplificado (B). Imagem axial de CT sem contraste de uma criança de 04 meses de idade com provável SCZ, evidenciando microcefalia, ventriculomegalia e calcificações corticais e subcorticais bilaterais (C).

## VIII. DISCUSSÃO

Nesse estudo observamos que todas as crianças com microcefalia diagnosticada ao nascimento e as mães apresentaram provável infecção pelo ZIKV durante a gravidez apresentaram alta frequência de anormalidades cerebrais evidenciadas no estudo de neuroimagem. As crianças que apresentaram microcefalia grave (54,9%) possuíam o fenótipo da sequência disruptiva do cérebro em desenvolvimento. A grande maioria dos casos (81,4%) teve provável exposição intraútero ao ZIKV no primeiro trimestre gestacional. Nesse início da gravidez, o sistema nervoso do feto está em formação, e com o sistema imunológico ainda imaturo; portanto, mais susceptível à interrupção no desenvolvimento de estruturas cerebrais conforme foi demonstrado por Nickerson et al (2012). Modelos experimentais mostraram que o ZIKV atua em células cerebrais humanas, reduzindo sua viabilidade e crescimento, sugerindo que ele pode anular a neurogênese durante o desenvolvimento do cérebro humano (Garcez, 2016). Tang et al (2017) demonstraram que o ZIKV infecta seletivamente células progenitoras neurais corticais que dão origem ao cérebro fetal, provocando um aumento da morte celular e desregulação da progressão do seu ciclo celular. Li et al (2018) desenvolveram um modelo animal para investigar a patogênese do ZIKV e revelou que esse vírus infectou diferentes áreas do sistema nervoso central, incluindo a massa cinzenta, hipocampo, córtex cerebral e a medula espinal, exceto o bulbo olfatório, induzindo morte celular e afetando significativamente o tamanho e o peso do cérebro; houve também replicação viral em múltiplos órgãos, o que resultou em patogênese no fígado e nos testículos, sugerindo que a infecção pós-natal em neonatos pode gerar um alto risco à saúde.

Os achados de neuroimagem encontrados em nossa população corroboram com a gravidade dos danos que essa infecção pode causar no cérebro em desenvolvimento. As anormalidades mais frequentes foram: atrofia cerebral (92,1%), ventriculomegalia (92,1%), malformações do desenvolvimento cortical (85,1%) e calcificações corticais e subcorticais (80,2%).

Esses achados estão de acordo com outras publicações (De Fátima, 2016; Hazin, 2016; Hoen, 2017; Araújo, 2016; Satterfield-Nash, 2017). O estudo de Soares de Oliveira-Szejnfeld et al. (2016) demonstrou que casos de infecção congênita pelo ZIKV confirmada com resultado laboratorial e casos prováveis tiveram achados de anormalidade na neuroimagem semelhantes. Um aspecto peculiar dessas anormalidades cerebrais foram a presença de múltiplas calcificações e a sua topografia, encontramos a maior frequência de calcificações na região cortico-subcortical (80,2%). Aragão et al. (2017) relataram esse achado em crianças com infecção congênita pelo ZIKV associada ou não a microcefalia. As calcificações cerebrais podem ser vistas em outras infecções congênicas, por exemplo, na infecção por citomegalovírus e toxoplasmose; porém, nesses casos, elas são predominantemente periventriculares, como foi demonstrado por De Fátima et al. (2017) e Wood et al. (2018). Portanto, essa topografia das calcificações na região cortico-subcortical da substância branca sugerem uma característica típica da SCZ

Alta frequência de manifestações neurológicas graves (97,0%) em idade precoce (4,6  $\pm$  2,4 meses) observadas em nosso estudo - hipertonia/espasticidade (97,0%), atraso no neurodesenvolvimento (92,8%), hipereflexia (73,3%), atividade epileptogênica (56,3%), perda auditiva (17,3%) e deficiência visual (14,1%) - evidenciam a gravidade do dano neurológico provocado por essa infecção durante a gravidez, indicando um mau prognóstico para a função neurológica das crianças acometidas. Achados semelhantes já foram descritos por Pessoa et al. (2016), Alves et al. (2017) e Cadja et al. (2017). A magnitude e gravidade dessas desordens neurológicas provocadas pela SCZ, principalmente quando a infecção ocorre na fase mais precoce da gravidez provocando maiores danos no desenvolvimento cerebral, são consistentes com um diagnóstico clínico de Paralisia Cerebral (PC). Rosembouen et al. (1984) descreveu essa entidade nosológica como um grupo de desordens que afetam o desenvolvimento, causando alterações permanentes no movimento e na postura, e consequente, limitação funcional; que são

frequentemente acompanhados de distúrbios da sensibilidade, percepção, cognição, comunicação e comportamento. Marques et al. (2018) demonstraram num grupo de 39 crianças com provável SCZ 89,7% delas apresentaram grave atraso no desenvolvimento motor grosso aos 18 meses (desenvolvimento equivalente ao esperado para idade de 04 a 05 meses conforme Escala Bayle III), evidenciando que o desenvolvimento motor grosso avança marginalmente entre os 06 aos 18 meses. França et al. (2018) mostraram que crianças com SCZ apresentaram desempenho extremamente baixo no domínio motor e no desenvolvimento cognitivo. Alves et al. (2017), em sua série de 24 casos com SCZ avaliadas pela escala DENVER, observaram que todas as crianças apresentaram atraso no neurodesenvolvimento com uma idade média de 19.9 meses; apresentando, pois, grande defasagem esperado para idade cronológica. Ferreira et al. (2018) avaliaram 37 crianças com microcefalia associada a infecção congênita pelo ZIKV utilizando a ICF (International Classification of Functioning Disability and Health), e na idade de 21 meses, observaram um perfil funcional de incapacidade completa na maioria as categorias de função do corpo, e as áreas de atividade e participação foram altamente impactadas, particularmente nas categorias relacionadas com a mobilidade. Carvalho et al (2019) demonstrou que a SCZ pode estar associado a uma forma grave de paralisia cerebral, principalmente espástica bilateral, com grave comprometimento do neurodesenvolvimento global e sinais precoces de mau prognóstico para marcha independente, sugerindo que a circunferência da cabeça pode ser um marcador prognóstico para essas crianças. Portanto, a infecção congênita pelo ZIKV é um fator de risco importante para PC, o que permite estabelecer essa hipótese diagnóstica de forma mais precoce.

Outro achado importante no nosso estudo, foi a alta frequência de anormalidades no videoeletroencefalograma (atividade epileptogênica em 56,3% e atividade lenta em 8,3%) que sugerem acometimento da função cortical. Pessoa et al. (2017) estimaram que

aproximadamente 54% das crianças com achados clínicos consistentes com SCZ apresentarão epilepsia, com um aumento da prevalência de convulsões, à medida que a idade da criança avança, podendo ou não, estar associada a achados clínicos. Oliveira-Filho et al. (2018) encontraram como principal desfecho, num grupo de 29 crianças com SCZ, a epilepsia de início precoce (04 primeiros meses de vida), sendo essa, uma causa frequente de hospitalização e de visitas aos serviços de urgências. Carvalho et al. (2016) descreveram as características das crises convulsivas na SCZ como descargas difusa com ondas lentas, padrão modificado e assimétrico de hipsarritimia, picos de ondas agudas frontais - occipitais, picos multifocais e atividades epileptogênicas mesmo sem achados clínicos.

As alterações no potencial evocado auditivo (17,3%) e potencial evocado visual (14,1%) são achados sugestivos de perda neurossensorial. A prevalência de perda auditiva foi estimada em 5,8% em crianças com SCZ por Leal et al. (2016). Marques-Abromov et al. (2017) relacionaram a deficiência auditiva na SCZ ao processo de dano progressivo nas estruturas nervosas auditivas ou sensorineurais periféricas, sem comprometimento direto do tronco cerebral, mesmo quando a infecção ocorre no primeiro trimestre da gestação. Grave deficiência visual tem sido relatada em todos os casos com SCZ, como consequência de danos no segmento posterior do olho, retina e nervo óptico (Ventura,2017). Os estudos mais recentes mostram que as manifestações oculares estruturais são um importante pilar para caracterização da SCZ, sendo as cicatrizes coriorretinianas e alterações pigmentares focais observadas na região macular são os achados oftálmicos mais característicos (Ventura,2018). Os dados de avaliação oftalmológica não foram apresentados nesse estudo, porém os dados do potencial evocado visual alterado sugerem que déficit visual pode ser consequência do dano neurológico nas vias de processamento visual da região cortical e subcortical. Independentemente do resultado da triagem

auditiva ou visual, essas crianças necessitarão de acompanhamento regular, pois a perda auditiva, a exemplo de outras infecções virais congênitas, pode ser retardada e progressiva.

A artrogripose também foi um achado importante apresentado em 10,2% das crianças avaliadas. Possivelmente de origem neurogênica, sendo que a avaliação com eletroneuromiografia foi recomendada para as crianças após 12 meses. A artrogripose foi estabelecida como uma característica típica da SCZ com um resultado do envolvimento dos neurônios motores superiores e inferiores, levando à restrição do movimento e posturas fixas do feto no útero, e consequente, desenvolvimento de contraturas articulares (Vand der lin,2016). Outros estudos mostram evidências desse comprometimento: Aragão et al. (2017) através da RNM do neuroeixo de neonatos com SCZ, demonstraram redução do calibre da medula espinhal, com maior afinamento nas raízes anteriores do cone medular, além de hipoplasia do tronco encefálico; Rajapakse et al (2019) descreveram 4 casos de bebês com SCZ (artrogripose múltipla envolvendo os quadris, joelhos, tornozelos e cotovelos e equinovaro) que apresentaram paralisia diafragmática unilateral e morreram por complicações relacionadas à falha respiratória progressiva, sugerindo envolvimento do sistema nervoso periférico.

A maioria das crianças desse estudo nasceu a termo, com baixo peso ao nascer para a idade gestacional e sem graves complicações neonatais, exceto a microcefalia. A causa do baixo peso ao nascer ainda não está totalmente compreendida. A principal hipótese é que seja consequência do retardo de crescimento intrauterino, ou insuficiência placentária causada pela infecção do ZIKV (Brasil, 2016). Caljat et al. (2016) sugerem que o tamanho minúsculo da cabeça pode estar interferindo no peso total baixo, pois a massa muscular de órgãos ou do tecido subcutâneo não está alterada.

Além disso, outro achado bastante relevante no estudo foram as queixas de diferentes problemas na rotina diária de cuidados com a criança reportadas pelos cuidadores - dificuldades

com a alimentação (36,3%), comportamento de irritabilidade/choro impaciente (27,5%), e dificuldade para dormir (9,8%)-; elas podem indicar os desafios diários enfrentados pelas mães no cuidado dessas crianças, considerando a gravidade das manifestações neurológicas apresentadas, reiterando a necessidade de suporte ao longo de suas vidas. Dificuldades para alimentar a criança com SCZ foram reportadas por Leal et al (2015) como um sinal precoce de disfagia, que nesses casos, decorrem da desorganização na fase voluntária da deglutição. Até os 02 primeiros meses de vida, a alimentação na criança é uma atividade reflexa realizada basicamente por sucção; na sequência, surge a fase oral que é uma atividade voluntária e requer uma função cortical intacta. O comportamento de irritabilidade/choro impaciente podem ser um sinal clínico de crise convulsiva (Satterfiel-Nash et al, 2017), ou também, um preditor precoce de grave distúrbio neurológico, como foi demonstrado por Weisman et al. (2011).

As características sociodemográficas das mães – mulheres jovens (idade  $28,3 \pm 5,9$ ), residentes em centros urbanos onde ocorre endemia do ZIKV (57,9% região metropolitana de Salvador), primeira gestação (62,0%) e escolaridade de nível médio (70,0%) – revelam a susceptibilidade dessa população a ZIKV. As aglomerações urbanas, condições climáticas favoráveis e falta de infraestrutura sanitária são fatores que quando combinados, tem sido apontado com ambientes propícios para maior concentração do vetor e, conseqüentemente, maior disseminação do ZIKV (Hotez, 2016); acrescentamos a esse cenário, uma população maciça suscetível, transmissão alternativa não-vetorial, e uma população altamente móvel (Lowe, 2017).

Nosso achado de uma gravidez gemelar dizigótica, com 01 dos pares afetados e outro não, chama atenção para as lacunas ainda existentes sobre a capacidade de uma reação imune robusta, em resposta à infecção pelo ZIKV, ser desenvolvida durante a gravidez. Cayres et al (2018) analisaram as células progenitoras neurais de gêmeos dizigóticos discordantes e observaram que as células dos bebês afetados pela SCZ apresentavam uma assinatura diferenciada

de genes, com replicação do ZIKV significativamente maior e um crescimento celular reduzido, em comparação com os bebês não afetados.

A dificuldade de obter resultados laboratoriais confirmatórios para ZIKV (04/99 com IgM positiva para ZIKV) demonstra o desafio para estabelecer o diagnóstico da infecção congênita pelo ZIKV após o nascimento da criança, principalmente em áreas endêmicas, onde também circulam outros *Flavivirus*, como o da dengue. Nossos resultados positivos foram de amostras de soro colhidas até o terceiro mês de vida, evidenciando que ainda existe uma janela imunológica a ser melhor definida nas crianças com infecção congênita pelo ZIKV. Segundo Russel et al. (2016) a detecção do RNA do ZIKV nos fluídos corporais é transitória, portanto no bebê a coleta deve ocorrer logo após o nascimento, se possível aos 02 dias de vida, preferencialmente em amostras colhidas no soro ou urina. O tipo de exame a ser utilizado, dependerá da disponibilidade, viabilidade e tempo de coleta da amostra. Um resultado positivo de um teste de rRT-PCR confirma infecção congênita pelo ZIKV, porém um resultado negativo não exclui a infecção. Para facilitar a investigação com exames laboratoriais foram estabelecidos pelo CDC protocolos e algoritmos direcionados a mulheres grávidas e crianças (Adebanjo, 2016).

### **VIII. 1. Limitações do Estudo**

É importante destacar nossas limitações: primeiro, reconhecemos a ausência de teste laboratorial para diagnóstico da infecção pelo ZIKV nas mães e crianças, porém esses testes só foram disponibilizados para rede pública de saúde no Brasil em outubro de 2016 (MS,2016); portanto, o diagnóstico de infecção congênita pelo ZIKV foi baseado nos critérios estabelecidos pelo Ministério da Saúde no Protocolo de vigilância em resposta a ocorrência de microcefalia

(MS,2016) e *guidilines* do CDC (CDC, 2016). A segunda limitação, trata-se de um estudo retrospectivo, em um único centro; no entanto, todas as crianças foram avaliadas por profissionais de saúde bem treinados, seguindo procedimentos padronizados e os dados foram registrados em formulários pré-definidos. Por último, o estudo foi realizado em um centro de referência, onde possivelmente, as crianças com sintomas neurológicos mais graves são mais propensas a serem encaminhadas, o que pode representar um viés de seleção.

## **IX. PERSPECTIVAS DO ESTUDO**

Descrever as características neurofisiológicas das crianças com artrogripose associada a provável SCZ.

Conhecer a prevalência de complicações gastrointestinais das crianças com provável SCZ e correlacionar com o padrão alimentar nos primeiros anos de vida.

## **X. CONCLUSÃO**

Este grupo de crianças com microcefalia congênita, cujas mães foram expostas a ZIKV durante a gravidez, apresentou critérios clínicos e neuroimagem para o diagnóstico SCZ. Todas apresentaram anormalidades cerebrais e alta frequência de distúrbios neurológicos de início precoce; atividade epileptogênica e alterações neurossensoriais foram comuns, além da ocorrência de casos com artrogripose. Isto sugere que a microcefalia pode estar associada a um espectro mais grave de manifestações neurológicas decorrentes da SCZ.

## **XI. SUMMARY**

The Zika virus infection (ZIKV) appeared at the Basil in 2015, causing an unprecedented epidemic outbreak with severe brain disorders in fetuses. Objective: to describe the clinical, neuroimaging and neurophysiological findings of children with microcephaly associated with congenital ZIKV infection (CZS) Study design: retrospective, descriptive, cross-sectional study. Methods: review of electronic records of children diagnosed with microcephaly at birth, and probable CZS, admitted to a child rehabilitation center in the city of Salvador, Brazil. The children were evaluated following standardized procedures and were submitted to neuroimaging and neurophysiological studies during follow-up with an interdisciplinary team. Results: In the 102 children in this study the most mothers (81%) reported symptoms of ZIKV during the first trimester of pregnancy. Microcephaly was severe in 54.9% of the cases. Cerebral atrophy (92.1%), ventriculomegaly (92.1%), malformation of cortical development (85.1%) and cortico-subcortical calcifications (80.2%) were observed in all children. Abnormalities in neurological examinations were found in 97.0% of the cases, and neurophysiological findings evidenced epileptogenic activity in 56.3% of auditory deficit in 17.3% and visual impairment in 14.1% related to this infection during pregnancy. Arthrogyrosis was found in 10.8% of children. Conclusion: This group of children presented clinical and radiological criteria for CZS. High frequency of brain abnormalities and signs of early neurological disorders were found, epileptogenic activity and signs of sensorineural changes were common. This suggests that microcephaly may be associated with a worse spectrum of neurological manifestations related to this infection during pregnancy.

Keywords: 1.Zika virus; 2.microcephaly; 3.neuroimaging; 4.neurologic examination;

## XI. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Adebajo T, Godfred-Cato S, Viens L, Fischer M, Staples JE, Kuhnert-Tallman MA, Walke H, Oduyebo T, Polen K, Peacock G, Meaney-Delman D, Honein MA, Rasmussen AS, Moore CA. Update: Interim Guidance for the diagnosis, evaluation, and management of infants with possible congenital Zika virus infection- United States, October 2017. *MMWR Morbidity Mortality Weekly Report*. 2017; 66:1089-99
2. Alves L V, Paredes CE, Silva GC, Mello JG, Alves JG. Neurodevelopment of 24 children born in Brazil with congenital Zika syndrome in 2015: a case series study. *British Medical Journal Open*. 2018; 8:e021304.
3. Anfasa F, Siegers JY, van der Kroeg M, Mumtaz N, Stalin Raj V, de Vrij FMS, Widagdo W, Gabriel G, Salinas S, Simonin Y, Reusken C, Kushner SA, Koopmans MPG, Haagmans B, Martina BEE, van Riel. Phenotypic Differences between Asian and African Lineage Zika Viruses in Human Neural Progenitor Cells. *mSphere An Open Access Journal published by the American Society for Microbiology*. 2017; 2: pii: e00292-17
4. Araújo TVB, Rodrigues LC, de Alencar Ximenes RA, de Barros Miranda-Filho D, Montarroyos UR, de Melo APL, Valongueiro S, de Albuquerque MFPM, Henriques CMP, Braga C, Filho SPB, Cordeiro MT, Vazquez E, Di Cavalcanti Souza Cruz D, , Bezerra LCA, da Silva Castanha PM, Dhalia R, Marques-Júnior ETA, Martelli CMT . Association between Zika virus infection and microcephaly in Brazil, January to May. 2016: preliminary report of a case-control study. *Lancet*. 2016; 16: 1356-63.
5. Aragao MFVV, Brainer-Lima AM, Holanda AC, van der Linden V, Vasco Aragão L, Silva Júnior MLM, Sarteschi C, Petribu NCL, Valença MM. Spectrum of Spinal Cord,

- Spinal Root, and Brain MRI Abnormalities in Congenital Zika Syndrome with and without Arthrogyriposis. *AJNR American Journal Neuroradiology*. 2017; 38: 1045-53.
6. Aragao MFVV, Holanda AC, Brainer-Lima AM et al. Nonmicrocephalic Infants with Congenital Zika syndrome suspected only after neuroimaging evaluation compared with those with microcephaly at birth and postnally: How large is the Zika Virus “iceberg”? *AJNR American Journal Neuroradiology*. 2017; 38: 1427-34.
  7. Ashwal, S.; Michelson, D.; Plawner, L.; Dobyns, W.B. Practice parameter: Evaluation of the child with microcephaly (an evidence-based review): Report of the Quality Standards Subcommittee of the American Academy of Neurology and the Practice Committee of the Child Neurology Society. *Neurology*. 2009, 73, 887–97.
  8. Besnard M, Lastere S, Teissier A, Cao-Lormeau V, Musso D. Evidence of perinatal transmission of Zika virus, French Polynesia, December 2013 and February 2014. *Europe's journal on infectious disease surveillance*. 2014; 19: pii: 20751.
  9. Blázquez AB, Saiz JC. Neurological manifestations of Zika virus infection. *World Journal Virology*. 2016; 5: 135-43.
  10. Blohm GM, Lednicky JA, Márquez M, White SK, Loeb JC, Pacheco CA, Nolan DJ, Paisie T, Salemi M, Rodríguez-Morales AJ, Glenn Morris J Jr, Pulliam JRC, Paniz-Mondolfi AE. Evidence for mother-to-child transmission of Zika virus through breast milk. *Clinical Infect Diseases*. 2018; 66: 1120-22.
  11. Brasil P, Pereira JP Jr, Moreira ME, Ribeiro Nogueira RM, Damasceno L, Wakimoto M, Rabello RS, Valderramos SG, Halai UA, Salles TS, Zin AA, Horovitz D, Daltro P, Boechat M, Raja Gabaglia C, Carvalho de Sequeira P, Pilotto JH, Medialdea-Carrera R, Coitrim da Cunha D, Abreu de Carvalho LM, Pone M, Machado Siqueira A, Calvet GA, Rodrigues Baião AE, Neves ES, Nassar de Carvalho PR, Hasue RH, Marschik PB,

- Einspieler C, Janzen C, Cherry JD, Bispo de Filippis AM, Nielsen-Saines K . Zika virus infection in pregnant women in Rio de Janeiro. *New England Journal Medicine*. 2016; 375: 2321-34.
12. Caires-Júnior LC, Goulart E, Melo US, Araujo BHS, Alvizi L, Soares-Schanoski A, de Oliveira DF, Kobayashi GS, Griesi-Oliveira K, Musso CM, Amaral MS, daSilva LF, Astray RM, Suárez-Patiño SF, Ventini DC, Gomes da Silva S, Yamamoto GL, Ezquina S, Naslavsky MS, Telles-Silva KA, Weinmann K, van der Linden V, van der Linden H, de Oliveira JRM, Arrais NMR, Melo A, Figueiredo T, Santos S, Meira JGC, Passos SD, de Almeida RP, Bispo AJB, Cavalheiro EA, Kalil J, Cunha-Neto E, Nakaya H, Andreatta-Santos R, de Souza Ferreira LC, Verjovski-Almeida S, Ho PL, Passos-Bueno MR, Zatz M. Discordant congenital Zika syndrome twins show differential in vitro viral susceptibility of neural progenitor cells. *Nat Commun*. 2018; 9:475. doi: 10.1038/s41467-017-02790-9.
13. Campos GS, Bandeira AC, Sardi SI. Zika virus outbreak, Bahia, Brazil. *Emergence Infect Disease*. 2015; 21: 1885-6.
14. Carvalho A, Brites C, Mochida G, Ventura P, Fernandes A, Lage ML, Taguchi T, Brandi I, Silva A, Franceschi G, Lucena P, Lucena R. Clinical and neurodevelopmental features in children with cerebral palsy and probable congenital Zika. *Brain Development*. 2019. pii: S0387-7604(18)30433-9.
15. Carvalho MDCG, Miranda-Filho DB, van der Linden V, Sobral PF, Ramos RCF, Rocha MÂW, Cordeiro MT, de Alencar SP, Nunes ML. Sleep EEG patterns in infants with congenital Zika vírus syndrome. *Clinical Neurophysiol*. 2017 ;128:204-14

16. Centers for Disease Control and Prevention. Congenital Zika syndrome & other birth defects Available from: <https://www.cdc.gov/pregnancy/zika/testing-follow-up/zika-syndrome-birth-effects.html>. 2016. Acessado em agosto 2017.
17. CDC Zika and Pregnancy. Congenital Zika Syndrome & Other Birth Defects. Available online:<https://www.cdc.gov/pregnancy/zika/testing-follow-up/zika-syndrome-birth-defects.html>, 2018.Acessado em novembro 2018
18. CDC Zika. Available online: <https://www.cdc.gov/zika/pdfs/zika-transmission-informational.pdf>. Acessado em janeiro 2019.
19. Coelho KEFA1, Silva GLCC2, Pinho SF2, de Carvalho AL2, Petter CM1, Brandi IV Congenital Zika syndrome phenotype in child born in Brazil in December 2011. *Clinical Case Report*. 2018; 6: 2053-56.
20. Culjat M, Darling SE, Nerurkar VR, Ching N, Kumar M, Min SK, Wong R, Grant L, Melish ME.Clinical and Imaging Findings in an Infant With Zika Embryopathy. *Clinical Infect Disease*. 2016; 63: 805-11.
21. de Fatima Vasco Aragao M, van der Linden V, Brainer-Lima AM, Coeli RR, Rocha MA, Sobral da Silva P, Durce Costa Gomes de Carvalho M, van der Linden A, Cesario de Holanda A, Valenca MM. Clinical features and neuroimaging (CT and MRI) findings in presumed Zika virus related congenital infection and microcephaly: retrospective case series study. *British Medical Journal*. 2016; 353: 1-10.
22. Dick GW, Kitchen SF, Haddow AJ. Zika virus. I. Isolations and serological specificity. *Transactions of the Royal Society of Medicine and Hygiene*. 1952; 46:509–20.
23. Duffy MR, Chen TH, Hancock WT, Powers AM, Kool JL, Lanciotti RS, Pretrick M, Marfel M, Holzbauer S, Dubray C, Guillaumot L, Griggs A, Bel M, Lambert AJ, Laven J, Kosoy O, Panella A, Biggerstaff BJ, Fischer M, Hayes EB. Zika virus outbreak on

- Yap Island, Federated States of Micronesia. *New England Journal Medicine*. 2009; 360: 2536–43.
24. Dupont-Rouzeyrol M, Biron A, O'Connor O, Huguon E, Descloux E. Infectious Zika viral particles in breastmilk. *Lancet*. 2016; 387:1051.
25. Ferreira HNC, Schiariti V, Regalado ICR, Sousa KG, Pereira SA, Fechine CPNDS, et al. Functioning and Disability Profile of Children with Microcephaly Associated with Congenital Zika Virus Infection. *Internationa Journal Environment Research Public Health*. 2018; 15: 1107.
26. França GV, Schuler-Faccini L, Oliveira WK, Henriques CM, Carmo EH, Pedi VD, Nunes ML, Castro MC, Serruya S, Silveira MF, Barros FC, Victora CG. Congenital zika virus syndrome in Brazil: a case series of the first 1501 livebirths with complete investigation. *Lancet*. 2016; 388: 891-7.
27. França TLB, Medeiros WR, Souza NL, Longo E, Pereira SA, França TBO, Sousa KG. Growth and Development of Children with Microcephaly Associated with Congenital Zika Virus Syndrome in Brazil. *Internacional Journal Environment Research Public Health*. 2018; 15. pii: E1990.
28. Galel SA, Williamson PC, Busch MP, Stanek D, Bakkour S, Stone M, Lu K, Jones S, Rossmann SN, Pate LL; cobas Zika IND Study Group. First Zika-positive donations in the continental United States. *Transfusion*. 2017;57: 762-69.
29. Garcez PP, Loiola EC, Madero da Costa R, et al. Zika virus impairs growth in human neurospheres and brain organoids. *Science*. 2016; 352: 816-18.
30. Hazin AN, Poretti A, Di Cavalcanti Souza Cruz D, Tenorio M, van der Linden A, Pena LJ, Brito C, Gil LH, de Barros Miranda-Filho D, Marques ET, Turchi Martelli CM, Alves JG, Huisman TA; Microcephaly Epidemic Research Group. Computed Tomographic

- Findings in Microcephaly Associated with Zika virus. *New England Journal Medicine*. 2016; 374: 2193-95.
31. Herrada CA, Kabir MA<sup>1</sup>, Altamirano R<sup>1</sup>, Asghar W<sup>1</sup>J Advances in Diagnostic Methods for Zika Virus Infection. *Medicine Device*. 2018; 12: 8021-11.
  32. Hoen B, Schaub B, Funk AL, Ardillon V, Bo61ullard M, Cabié A, Callier C, Carles G, Cassadou S, Césaire R, Douine M, Herrmann-Storck C, Kadhel P, Laouéan C, Madec Y, Monthieux A, Nacher M, Najioullah F, Rousset D, Ryan C, Schepers K, Stegmann-Planchard S, Tressières B, Voluménie JL, Yassinguezo S, Janky E, Fontanet A. Pregnancy Outcomes after ZIKV infection in French Territories in the Americas. *New England Journal Medicine*. 2018; 378: 985-94.
  33. Honein MA, Dawson AL, Petersen EE, Jones AM, Lee EH, Yazdy MM, Ahmad N, Macdonald J, Evert N, Bingham A, Ellington SR, Shapiro-Mendoza CK, Oduyebo T, Fine AD, Brown CM, Sommer JN, Gupta J, Cavicchia P, Slavinski S, White JL, Owen SM, Petersen LR, Boyle C, Meaney-Delman D, Jamieson DJ; US Zika Pregnancy Registry Collaboration. Birth Defects Among Fetuses and Infants of US Women with Evidence of Possible Zika Virus Infection During Pregnancy. *Journal of the American Medical Association*. 2017; 317: 59-68.
  34. Hotez PJ. What Does Zika virus mean for the children of the Americas. *JAMA Pediatric*. 2016; 170: 787-9.
  35. Kapogiannis BG, Chakhtoura N, Hazra R, Spong CY. Bridging Knowledge Gaps to Understand How Zika virus Exposure and Infection Affect Child Development. *JAMA Pediatric*. 2017; 171: 478–85.
  36. Leal MC, Muniz LF, Ferreira TS, Santod CM, Almeida LC, Van Der Linder V, Ramos RC, Roidrigues LC, Neto SS. Hearing Loss in Infants with microcephaly and evidence

- of congenital Zika virus infection-Brazil, November 2015-May 2016. *MMWR Morbidity Mortality Weekly Report*. 2015; 65: 917-19.
37. Leal MC, van der Linden V, Bezerra TP, de Valois L, Borges ACG, Antunes MMC, Brandt KG, Moura CX, Rodrigues LC, Ximenes CR. Characteristics of Dysphagia in Infants with Microcephaly Caused by Congenital Zika Virus Infection, Brazil, 2016. *Emergence Infect Diseases*. 2017; 23: 1253-59.
38. Lemos de Carvalho A, Brites C, Taguchi TB, Pinho SF, Campos G, Lucena R. Congenital Zika Virus Infection with Normal Neurodevelopmental Outcome, Brazil. *Emergence Infect Diseases*. 2018; 24: 2128-30.
39. Li S, Armstrong N, Zhao H, Hou W, Liu J, Chen C, Wan J, Wang W, Zhong C, Liu C, Zhu H, Xia N, Cheng T, Tang Q Zika virus fatally infects wild type neonatal mice and replicates in central nervous system. *Viruses*. 2018; 10: 49 doi: 10.3390/v10010049.
40. Lipitz S, Yinon Y, Malinger G, Yagel S, Levit L, Hoffman C, Rantzer R, Weisz B. Risk of cytomegalovirus-associated sequelae in relation to time of infection and findings on prenatal imaging. *Ultrasound Obstetric Gynecology*. 2013; 41: 508-14.
41. Lopes Moreira ME, Nielsen-Saines K, Brasil P, Kerin T, Damasceno L, Pone M, Carvalho LMA, Pone SM, Vasconcelos Z, Ribeiro IP, Zin AA, Tsui I, Adachi K, Gaw SL, Halai UA, Salles TS, da Cunha DC, Bonaldo MC, Raja Gabaglia C, Guida L, Malacarne J, Costa RP, Gomes SC Jr, Reis AB, Soares FVM, Hasue RH, Aizawa CYP, Genovesi FF, Aibe M, Einspieler C, Marschik PB, Pereira JP Jr, Portari EA, Janzen C, Cherry JD . Neurodevelopment in Infants Exposed to Zika Virus in Utero. *New England Medicine*. 2018; 379: 2377-79.

42. Lower R, Barcellos C, Brasil P, Cruz OG, Honório NA, Kuper H, Carvalho MS. The Zika Virus Epidemic in Brazil: From Discovery to Future Implications. *International Journal Environment Research Public Health*. 2018; 15. pii: E96. doi: 10.3390
43. Macnamaram FN. Zika virus: a report on three cases of human infection during an epidemic of jaundice in Nigeria. *Transactions Royal Society Tropical Medicine Hygiene*. 1954; 48:139-45
44. Mansuy JM et al. Zika virus: high infectious viral load in semen, a new sexually transmitted pathogen. *Lancet*. 2016; 16: 405
45. Marques Abramov D1, Saad T1, Gomes-Junior SC1, de Souza E Silva D1, Araújo I1, Lopes Moreira ME1, Lazarev Auditory brainstem function in microcephaly related to Zika virus infection. *Neurology*. 2018; 90: 606-14.
46. Marques FJP, Teixeira MCS, Barra RR, de Lima FM, Dias BLS, Pupe C, Nascimento OJM, Leyser M. Children Born With Congenital Zika Syndrome Display Atypical Gross Motor Development and a Higher Risk for Cerebral Palsy. *Journal Child Neurology*. 2018; 34: 81-85.
47. Metsky HC, Matranga CB, Wohl S, Schaffner SF, Freije CA, Winnicki SM, West K, Qu J, Baniecki ML, Gladden-Young A, Lin AE, Tomkins-Tinch CH, Ye SH, Park DJ, Luo CY, Barnes KG, Shah RR, Chak B, Barbosa-Lima G, Delatorre E, Vieira YR, Paul LM, Tan AL, Barcellona CM, Porcelli MC, Vasquez C, Cannons AC, Cone MR, Hogan KN, Kopp EW, Anzinger JJ, Garcia KF, Parham LA, Ramírez RMG, Montoya MCM, Rojas DP, Brown CM, Hennigan S, Sabina B, Scotland S, Gangavarapu K, Grubaugh ND, Oliveira G, Robles-Sikisaka R, Rambaut A, Gehrke L, Smole S, Halloran ME, Villar L, Mattar S, Lorenzana I, Cerbino-Neto J, Valim C, Degraeve W, Bozza PT, Gnirke A,

- Andersen KG, Isern S, Michael SF, Bozza FA, Souza TML, Bosch I, Yozwiak NL, MacInnis BL, Sabeti PC. Zika virus evolution and spread the Americas. *Nature*. 2017; 546:411-15.
48. Ministério da Saúde (Brasil). Protocolo de vigilância e resposta à ocorrência de microcefalia e/ou alterações do sistema nervoso central (SNC) [acesso em 11 01 2017]. Disponível em: <<http://combateaedes.saude.gov.br/images/sala-de-situacao/Microcefalia-Protocolo-de-vigilancia-e-resposta-10mar2016-18h.pdf>>. Acessado em agosto 2016
49. Ministério da Saúde: Ministério da Saúde vai distribuir teste rápido de Zika] 25 oct 2016. Available from: <http://combateaedes.saude.gov.br/pt/noticias/645-saude-acompanha-avaliacao-de-qualidade-de-teste-de-zika>. 2016.
50. Moore CA, Staples JE, Dobyns WB, Pessoa A, Ventura CV, Fonseca EB, Ribeiro EM, Ventura LO, Neto NN, Arena JF, Rasmussen SA. Characterizing the Pattern of anomalies in Congenital Zika Syndrome for Pediatric Clinicians. *JAMA Pediatric*. 2017; 171: 288-95.
51. Moura da Silva AA, Ganz JS, Sousa PD, Doriqui MJ, Ribeiro MR, Branco MD, Queiroz RC, Pacheco MJ, Vieira da Costa FR, Silva FS, Simões VM, Pacheco MA, Lamy-Filho F, Lamy ZC, Soares de Britto E Alves MT. Early Growth and Neurologic Outcomes of Infants with Probable Congenital Zika Virus Syndrome. *Emergence Infect Disease*. 2016; 22:1953-1959.
52. Musso D, Gubler DJ. Zika Virus. *Clinical Microbiology Revision*. 2016; 29: 487-524.
53. Nickerson JP, Richner B, Santy K, Lequin MH, Poretti A, Filippi CG, Huisman TA Neuroimaging of pediatric intracranial infection- part2: TORCH,viral,fungal, and parasitic infections. *Journal Neuroimagin*. 2012; 22: 52-63.

54. Noronha Ld, Zanluca C, Burger M, Suzukawa AA, Azevedo M, Rebutini PZ, Novadzki IM, Tanable LS, Presibella MM, Duarte dos Santos. Zika vírus infection at different pregnancy stages: anatomopathological findings, target cells and viral persistence in placental tissues. *Frontiers in Microbiology*. 2018 doi: [10.3389/fmicb.2018.02266](https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.02266) PMID: [30337910](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30337910/)
55. Oehler E, Watrin L, Larre P, Leparç-Goffart I, Lastere S, Valour F, Baudouin L, Mallet H, Musso D, Ghawche F. Zika virus infection complicated by Guillain-Barre syndrome - case report, French Polynesia, December 2013. *Europe's journal on infectious disease surveillance*. 2014; 19. pii: 20720
56. Oliveira Melo AS, Malinger G, Ximenes R, Szejnfeld P, Alves Sampaio S, Bispo de Filippis A. Zika virus intrauterine infection causes fetal brain abnormality and microcephaly: tip of the iceberg? *Ultrasound Obstetric Gynecology*. 2016; 47: 6-7.
57. Oliveira-Filho J, Felzemburgh R, Costa F, Nery, Njr, Mattos A, Henriques D, Ko A.I, the Salvador Zika Response Team. Seizures as a complication of congenital zika syndrome in early infancy. *American Journal Tropical Medicine and Hygiene*. 2018; 98:1860-62
58. OPAS-organização PanAmericana em Saude. Organização Mundial de Saúde. Timeline of Emergence of Zika virus in the Americas. [https://www.paho.org/hq/index.php?option=com\\_content&view=article&id=11959:timeline-of-emergence-of-zika-virus-in-the-americas&Itemid=41711&lang=pt](https://www.paho.org/hq/index.php?option=com_content&view=article&id=11959:timeline-of-emergence-of-zika-virus-in-the-americas&Itemid=41711&lang=pt). Acessado em agosto 2018.
59. Paploski IA, Prates AP, Cardoso CW, Kikuti M, Silva MM, Walter LA, Reis MG, Kitron U, Ribeiro GS. Time Lags between exanthematous illness attributed to Zika Virus,

- Guillan-Barré Syndrome, and Microcephaly, Salvador, Brazil. *Emergence Infect Diseases*. 2016; 22: 1438-44
60. Peloggia A, Ali M, Nanda K, Bahamondes L. Zika virus exposure in pregnancy and its association with newborn visual anomalies and hearing loss. *Internacional Journal Gynecology Obstetric*. 2018; 143: 277-81.
61. Pessoa A, van der Linden V, Yeargin-Allsopp M, Carvalho MDCG, Ribeiro EM, Van Naarden Braun K, Durkin MS, Pastula DM, Moore JT, Moore CA. I. Motor abnormalities and epilepsy in infants and children with evidence of congenital Zika virus infection. *Pediatrics*. 2018; 141: 167-79.
62. Pettersson JH, Eldholm V, Seligman SJ, Lundkvist Å, Falconar AK, Gaunt MW, Musso D, Nougairède A, Charrel R, Gould EA, de Lamballerie X. How Did Zika Virus Emerge in the Pacific Islands and Latin America?. *American Society for Microbiology*. 2016. pii: e01239-16
63. Plourde AR, Bloch EM A Literature Review of Zika Virus. *Emergence Infect Diseases*. 2016; 22: 1185-92.
64. Pomar L, Vouga M, Lambert V, Pomar C, Hcini N, Jolivet A, Benoist G, Rousset D, Matheus S, Malinger G, Panchaud A, Carles G, Baud D. Maternal-fetal transmission and adverse perinatal outcomes in pregnant women infected with Zika virus: prospective cohort study in French Guiana. *British Medical Journal*. 2018; 363: k4431
65. Rajapakse NS, Ellsworth K, Liesman RM, Ho ML, Henry N, Theel ES, Wallace A, Alvino ACI, Medeiros de Mello L, Meneses J. Unilateral Phrenic Nerve Palsy in Infants with Congenital Zika Syndrome. *Emergence Infect Diseases*. 2018; 24. doi: 10.3201/eid2408.18005.

66. Rosenbaum P, Paneth N, Leviton A, Goldstein M, Baz MA. Report: The definition and classification of cerebral palsy April 2006. *Development Medicine Child Neurology*. 2007, 109, 8–14
67. Russell K, Oliver SE, Lewis L, Barfield WD, Cragan J, Meaney-Delman D, Staples JE, Fischer M, Peacock G, Oduyebo T, Petersen EE, Zaki S, Moore CA, Rasmussen SA. Update: Interim Guidance for the Evaluation and Management of Infants with Possible Congenital Zika Virus Infection - United States, August 2016. *MMWR Morbidity Mortality Weekly Report*. 2016;65: 870-878.
68. Russell LJ. et al. In útero brain destruction resulting in collapse of the fetal skull, microcephaly, scalp rugae, and neurologic impairment: the fetal brain disruption sequence. *American Journal of Medical Genetics*. 1984; 17: 509-21.
69. Sanz Cortes M, Rivera AM, Yopez M, Guimaraes CV, Diaz Yunes I, Zarutskie A, Davila I, Shetty A, Mahadev A, Serrano SM, Castillo N, Lee W, Valentine G, Belfort M, Parra G, Mohila C, Aagaard K, Parra Saavedra M. Clinical assessment and brain findings in a cohort of mothers, fetuses and infants infected with ZIKA virus. *American Journal Obstetric Gynecologic*. 2018; 218: 440-41.
70. Satterfield-Nash A, Kotzky K, Allen J et al. Health and development at age 19-24 months of 19 children who were born with microcephaly and laboratory evidence of congenital Zika virus infection during the 2015 Zika outbreak – Brazil, 2017. *MMWR Morbidity Mortality Weekly Report* 2017; 66: 1347-51.
71. Schuler-Faccini L, Ribeiro EM, Feitosa IM, Horovitz DD, Cavalcanti DP, Pessoa A, Dorigui MJ, Neri JJ, Neto JM, Wanderley HY, Cernach M, El-Husny AS, Pone MV, Serao CL, Sanseverino MT; Brazilian Medical Genetics Society–Zika Embryopathy Task

- Force. Possible association between Zika virus infection and microcephaly - Brazil 2015. *Emerging Infectious Diseases* 2016; 29: 59-62.
72. Shances-Montalva A, Pou D, Sulleiro E, Salvador F, Bocarnegra C, Trevino B, Rando A, Serre N, Pumarola T, Almitante B, Molina I. Zila vírus dynamics in body fluids and risk of sexual transmission in non-endemic area. *Tropical Medicine International Health*. 2018; 23:92-100.
73. Shapiro-Mendoza CK, Rice ME, Galang RR, Fulton AC, VanMaldeghem K, Prado MV, Ellis E, Anesi MS, Simeone RM, Petersen EE, Ellington SR, Jones AM, Williams T, Reagan-Steiner S, Perez-Padilla J, Deseda CC, Beron A, Tufa AJ, Rosinger A, Roth NM, Green C, Martin S, Lopez CD, deWilde L, Goodwin M, Pagano HP, Mai CT, Gould C, Zaki S, Ferrer LN, Davis MS, Lathrop E, Polen K, Cragan JD, Reynolds M, Newsome KB, Huertas MM, Bhatangar J, Quiñones AM, Nahabedian JF, Adams L, Sharp TM, Hancock WT, Rasmussen SA, Moore CA, Jamieson DJ, Munoz-Jordan JL, Garstang H, Kambui A, Masao C, Honein MA, Meaney-Delman D. Zika Pregnancy and Infant Registries Working Group. Pregnancy outcomes after maternal zika virus infection during pregnancy- U.S. Territories, January 1, 2016-April 25, 2017. *MMWR Morbidity Mortality Weekly Report*. 2017; 66: 615-21.
74. Simonin Y, van Riel D, Van de Perre P, Rockx B, Salinas S. Differential virulence between Asian lineages of Zika Virus. *PLoS Neglected Tropical Diseases* 2017; 11: e0005821
75. Soares de Oliveira-Szejnfeld P, Levine D, Melo AS, Amorim MM, Batista AG, Chimelli L, Tanuri A, Aguiar RS, Malinger G, Ximenes R, Robertson R, Szejnfeld J, Tovar-Moll

- F. Congenital Brain Abnormalities and Zika Virus: What the Radiologist Can Expect to See Prenatally and Postnatally. *Radiology*. 2016; 281: 203-18.
76. Tang H, Hammack C, Ogden SC, Wen Z, Qian X, Li Y, Yao B, Shin J, Zhang F, Lee EM, Christian KM, Didier RA, Jin P, Song H, Ming GL. Zika Virus Infects Human Cortical Neural Progenitors and Attenuates Their Growth. *Cell Stem Cell*. 2016; 18: 587-90.
77. Teixeira MG, Costa MCN, Oliveira WK, Nunes ML, Rodrigues LC. The Epidemic of Zika Virus–Related Microcephaly in Brazil: Detection, Control, Etiology, and Future Scenarios. *American Journal of Public Health*. 2016; 104: 601-05
78. Van der Linden H Jr, Carvalho MD, van der Linden V, Lacerda KM, Pessoa A, Carneiro ML, Cordeiro MT, Valente KD. Epilepsy Profile in Infants with Congenital Zika Virus Infection. *New England Journal Medicine*. 2018; 379: 891-92
79. van der Linden V, Filho EL, Lins OG, van der Linden A, Aragão Mde F, Brainer-Lima AM, Cruz DD, Rocha MA, Sobral da Silva PF, Carvalho MD, do Amaral FJ, Gomes JA, Ribeiro de Medeiros IC, Ventura CV, Ramos RC. Congenital Zika syndrome with arthrogryposis: retrospective case series study. *British Medical Journal*. 2016; 354; i3899.
80. Ventura CV, Maia M, Travassos SB, Martins TT, Patriota F, Nunes ME, Agra C, Torres VL, van der Linden V, Ramos RC, Rocha MÂ, Silva PS, Ventura LO, Belfort R Jr I. Visual impairment in children with congenital Zika syndrome. *Journal American Association of Pediatric for Ophthalmology and Strabismus*. 2017; 21: 295-99.
81. Ventura LO, Ventura CV, Dias NC, Vilar IG, Gois AL, Arantes TE, Fernandes LC, Chiang MF, Miller MT, Lawrence L. Visual Impairment evaluation in 119 children with congenital Zika syndrome. *Journal American Association of Pediatric for Ophthalmology and Strabismus*. 2018; 22: 218-22

82. Ventura CV, Ventura LO. Ophthalmologic manifestation associated with zika virus infection. *Pediatrics*. 2018; 141: 161-66.
83. Verçosa I, Carneiro P, Verçosa R, Girão R, Ribeiro EM, Pessoa A, Almeida NG, Verçosa P, Tartarella MB. The visual system in infants with microcephaly related to presumed congenital Zika Syndrome. *Journal American Association of Pediatric for Ophthalmology and Strabismus*. 2017; 21: 300-04
84. Villar J, Victora CG, Ohuma EO, Bertino E, Altman DG, Lambert A, Cheikh Ismail L, Carvalho M7, Jaffer YA, Gravett MG, Purwar M, Frederick IO, Noble AJ, Pang R, Barros FC, Chumlea C15, Bhutta ZA, Kennedy SH; International Fetal and Newborn Growth Consortium for the 21st Century (INTERGROWTH-21st) International standards for newborn weight, length, and head circumference by gestational age and sex: the Newborn Cross-Sectional Study of the INTERGROWTH-21st Project. *Lancet*. 2014; 384: 857–868.
85. Weisman O, Magori-Cohen R, Louzoun Y, Eidelman AI, Feldman R . Sleep-wake transition in premature neonates predict early development. *Pediatrics*. 2011; 4: 706-14
86. White MK, Wollebo HS, David Beckham J, Tyler KL, Khalili K. Zika virus: An emergent neuropathological agent. *Annual Neurology*. 2016; 80: 479-89.
87. WHO Multicentre Growth Reference Study Group. WHO Motor Development Study: windows of achievement for six gross motor development milestones. *Acta Paediatric Supplement*. 2006; 450: 86–95.
88. Wogger JJ, Pinsky BA. Zika Virus: Diagnostics for an Emerging Pandemic Threat. *Journal Clinical Microbiology*. 2016; 54: 860-7.
89. Wood AM, Hughes BL. Detection and Prevention fo Perinatal Infecion: Cytomegalovirus and Zika Virus. *Clinical Perinatology*. 2018; 45: 307-23.

90. World Health Organization. Preterm birth 2017. Available from: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs363/en/>.2017.Acessado em setembro 2018.
91. World Health Organization. WHO statement on the first meeting of the International Health Regulations (2005): Emergency Committee on Zika virus and observed increase in neurological disorders and neonatal malformations. 2016. Acessado em agosto 2017.
92. Zanoluca C, Melo VC, Mosimann AL, Santos GL, Santos CN, Luz K. First report of autochthonous transmission of Zika virus in Brazil. *Memorias Instituto Oswaldo Cruz*. 2015; 110: 569-72.

## XII-ANEXOS

### XII. 1 – Anexo 1- Formulário de Coleta de Dados

Nome: \_\_\_\_\_ Prontuário: \_\_\_\_\_ Sexo: ( ) M ( ) F

Procedência: \_\_\_\_\_ Data de Nascimento : \_\_/\_\_/\_\_\_\_ Admis-  
são: \_\_/\_\_/\_\_\_\_

Dados da Mãe Idade: \_\_\_\_\_

Escolaridade: ( ) sem escolarização ( ) fundamental ( ) médio ( ) superior ( ) pos-graduação ( ) NI

Paridade : ( ) 1º filho ( ) 2º filho ( ) 3º filho ou mais

Diagnóstico de infecção por Zika vírus na gravidez.

Sintomatologia	1ºTrim	2ºTrim	3ºTrim	Diagnóstico laboratorial	1º Trim	2º Trim	3º Trim
Exantema				Clinico			
Febre				Sorologia			
artralgia				PCR			
Outros							

#### Dados do Pré-natal

Diagnóstico microcefalia: ( ) pós-parto ( ) intraútero \_\_1º Trim \_\_2º Trim \_\_3º Trim \_\_NI

Realizou pré-natal: ( ) sim ( ) não ( ) NI

Tipo de Gravidez: ( ) única ( ) múltipla \_\_\_\_

Consanguinidade : ( ) sim ( ) não ( ) NI

Comorbidades: ( ) Não ( ) NI ( ) Sim \_\_DM \_\_ HAS \_\_ infecções \_\_sangramento

#### Dados da Criança

Idade Gestacional no nascimento : \_\_ semanas

Tipo de parto : ( ) normal ( ) cesariana ( ) NI

Fatores de risco perinatais

Evento	Sim	Não	NI	Evento	Sim	Não	NI
Crise convulsiva				Icterícia			
Anóxia /hipóxia				Infecção neonatal			
Prematuridade				Tocotraumatismo			

Distúrbio metabólicos								
-----------------------	--	--	--	--	--	--	--	--

Diagnósticos associadas : ( ) Não ( ) NI ( ) Sim

( ) Artrogripose MMSS ( ) artrogripos MMII ( ) alterações Cardíacas ( ) epilepsia ( ) Outros \_\_

Dados antropométricos

	Ao nascer	Admissão	Percentil
Peso			
Estatura			
Perímetro cefálico			

Tipo de microcefalia : ( ) microcefalia leve/moderada ( ) microcefalia grave

Exames Idade \_\_\_\_\_ R= Reagente NR – não reagente I - inconclusivo

Sorologias	IgG	IgM		Exame	IgG	IgM
Citomegalovírus				Herpes 1		
Toxoplasmose				Herpes 2		
Rubéola				Dengue		
Sífilis				Zika		
HIV				Outros		

Neurofisiográficos Idade realização \_\_\_\_\_

- Potencial auditivo: Sem alteração ( ) Alt. Unilateral ( ) Alt. Bilateral ( ) Não ( ) NI
- Potencial Visual :Sem alteração ( ) Alterado ( ) Não ( ) NI
- Vídeoeletroencefalograma: ( ) Ativ base regular ( )Ativ. base desorganização difusa  
( ) potencial epileptiforme \_\_\_\_\_

Neuroimagem

	RNM encéfalo	TC encéfalo
Ventriculomegalia		
Atrofia cerebral		
Agenesia/Disgenesia do corpo caloso		
Calcificações - Junção córtico-subcortical - Núcleos da base - Periventriculares - Tronco Cerebral - Cerebelo		

Alargamento subaracnóide		
Hipoplasia cerebello		
Alargamento cisterna magna		
Hipoplasia tronco cerebral		
Atraso da mielinização		
Cistos parenquimatosos		

Queixas : ( ) não ( ) sim Quais : \_\_\_\_\_

Exame neurológico Idade \_\_\_\_\_ meses ( ) Esperado para idade ( ) Alterado ( ) NI

- Tônus

( ) Hipertonia ( ) Hipotonia ( ) Tremor ( ) Hipereflexia ( ) Irritabilidade ( ) Outros

—

- Reflexos primitivos

( ) Sucção Reflexa ( ) Preensão palmar ( ) RTCA ( ) Moro ( ) Marcha Automática

- Reações :

( ) Placing ( ) paraquedas

Aquisições Motoras Idade na avaliação \_\_\_\_\_ meses ( ) Esperado para idade ( ) Alterado ( ) NI

- Marcos

( ) Sustento incompleto da cabeça ( ) Sustento completo da cabeça  
 ( ) rolar parcial ( ) rolar total ( ) arrasta  
 ( ) sentar com apoio ( ) sentar sem apoio

Aquisições Sócio-cognitivas ( ) Esperado para idade ( ) Alterado ( ) NI

- 1º Substágio sensorio-motor (0 a 2m – atividade reflexa)

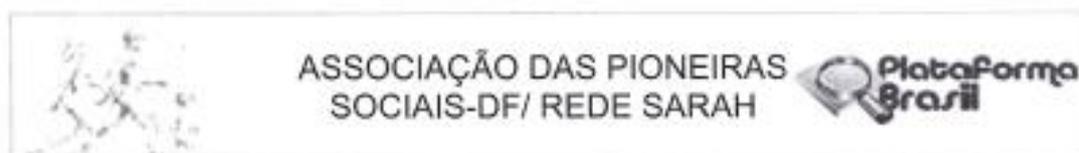
( ) Reage ao estímulo visual - não acompanha  
 ( ) Reage ao estímulo auditivo - não acompanha  
 ( ) Suga o objeto - comportamento reflexo  
 ( ) Emite sons guturais

- 2º Substágio sensorio-motor (2 a 4m – sorriso social)

( ) Fixa o olhar  
 ( ) Acompanha deslocamentos nos objetos (vertical e horizontal)  
 ( ) Leva à mão a boca  
 ( ) Tentativa de preensão dos objetos  
 ( ) Reage e localiza fonte sonora

- Repete movimentos interessantes com o próprio corpo
  - Leva a mão na linha média
  - Preensão voluntária
  - Sorriso social
  - Antecipação de eventos simples
  - Emite alguns sons vocálicos
- 3º Substágio sensorio-motor ( 4 a 8/9m – intencionalidade )
    - acompanha deslocamento prolongado dos objetos
    - Explora o brinquedo com o olhar trajetória circular
    - Realiza tentativas de alcance dos objetos
    - Pega objetos com uma mão e apóia com a outra
    - Ouve e brinca com brinquedos que fazem barulho
    - Vocaliza sozinho: emite vogais prolongadas
    - Utiliza sons de linguagem para obter atenção
    - Repete sílabas: “da”, “ba”, “ma” (lalação)
    - Tira meia e brinca com os pés (condenação mão-pé)
    - Interessa-se mais por pessoas do que por objetos
  - Leva o brinquedo à boca
  - Discrimina familiares
  - Angústia de separação
  - Ri alto/gargalha

## XII. 2 – Anexo 2 – Parecer do CONEP



### PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

#### DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

**Título da Pesquisa:** Perfil de crianças com microcefalia associada a infecção pelo vírus Zika atendidas em Hospital de Reabilitação

**Pesquisador:** Maria Lúcia da Costa e Silva Lage

**Área Temática:**

**Versão:** 3

**CAAE:** 55549916.4.0000.0022

**Instituição Proponente:** ASSOCIACAO DAS PIONEIRAS SOCIAIS

**Patrocinador Principal:** ASSOCIACAO DAS PIONEIRAS SOCIAIS

#### DADOS DO PARECER

**Número do Parecer:** 1.633.570

#### Apresentação do Projeto:

Em novembro de 2015, o Ministério da Saúde do Brasil, com base em inúmeras evidências epidemiológicas, reconheceu a relação entre o aumento na prevalência de crianças com microcefalia congênita e a infecção pelo vírus Zika (ZikV) na gestação, levando a Organização Mundial de Saúde (OMS) a decretar em fevereiro de 2016 emergência em saúde pública de interesse internacional. Estudos já evidenciaram a presença do ZikV em tecidos fetais e no líquido amniótico de fetos com microcefalia de gestantes infectadas. Existem relatos de casos correlacionando essa infecção com Síndrome de Guillain Barré e meningoencefalite de acordo com a literatura apresentada. Apesar das pesquisas direcionadas para elucidar como o ZikV afeta o sistema nervoso, provocando as desordens neurológicas, esse mecanismo ainda não está totalmente esclarecido. A

maioria dos estudos são de associação temporal entre os eventos.

A microcefalia caracteriza-se por perímetro cefálico mais de dois desvio-padrão abaixo da média para a idade e o sexo. Pode ser classificada em congênita ou de início pós-natal. Dentre as causas adquiridas de microcefalia congênita, destacam-se algumas infecções virais adquiridas durante a gestação, como sífilis, citomegalovírus, toxoplasmose, rubéola, herpes e HIV. As complicações associadas incluem paralisia

**Endereço:** SMHS Quadra 501 Conjunto A

**Bairro:** SMHS

**CEP:** 70.335-901

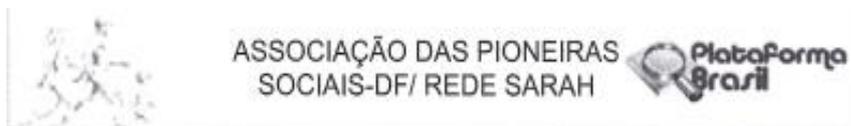
**UF:** DF

**Município:** BRASÍLIA

**Telefone:** (61)3319-1494

**Fax:** (61)3319-1261

**E-mail:** comiteeticapesquisa@sarah.br



Continuação do Parecer: 1.633.570

Folha de Rosto	Folha.pdf	08:47:58	Costa e Silva Lage	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE1.PDF	27/06/2016 08:19:55	Maria Lúcia da Costa e Silva Lage	Aceito
Outros	Folharosto.PDF	27/06/2016 08:16:01	Maria Lúcia da Costa e Silva Lage	Aceito
Outros	Carta2.jpg	27/06/2016 08:07:09	Maria Lúcia da Costa e Silva Lage	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto.pdf	09/06/2016 18:29:51	Maria Lúcia da Costa e Silva Lage	Aceito

**Situação do Parecer:**

Aprovado

**Necessita Apreciação da CONEP:**

Não

BRASILIA, 12 de Julho de 2016

*Mauren Alexandra Sampaio*

Assinado por:  
Mauren Alexandra Sampaio  
(Coordenador)

Mauren Alexandra Sampaio  
Matr. 203479 - COREN-DF 0062210  
Conselho de Ética em Psicologia / APS

Endereço: SMHS Quadra 501 Conjunto A  
 Bairro: SMHS CEP: 70.335-901  
 UF: DF Município: BRASÍLIA  
 Telefone: (61)3319-1494 Fax: (61)3319-1261 E-mail: comitecicapesquisa@sarah.br