CAROLINA YURI PANVEQUIO AIZAWA

**Caracterização do neurodesenvolvimento de
lactentes expostos ao vírus ZIKA na vida intrauterina
por meio do *General Movement Assessment* e da
Escala Bayley III de Desenvolvimento Infantil**

Tese apresentada à Faculdade de Medicina da
Universidade de São Paulo para obtenção do
título de Doutor em Ciências

Programa de Ciências da Reabilitação

Orientadora: Profa. Dra. Renata Hydee Hasue
Vilibor

(Versão corrigida. Resolução CoPGr 6018/11, de 1 de novembro de 2011. A
versão original está disponível na Biblioteca da FMUSP)

São Paulo

2019

Dedicatória

Dedico este trabalho a todas as pessoas que contribuíram para o meu aprendizado e para a construção desta pesquisa e tese, resultado de muito esforço, empenho e dedicação:

*À toda a minha família, especialmente os meus pais,
Maria Luiza e Carlos, pelo amor, apoio, paciência e
incentivo em todos os momentos.*

*À minha orientadora, Profa. Dra. Renata Hydee Hasue,
pela dedicação, incentivo e por ter acreditado e
depositado tanta confiança na realização deste trabalho
e na minha carreira acadêmica desde a Iniciação
Científica durante a graduação.*

*À minha tia, Hercília Panvequio, que sempre torceu
muito por mim em todos os momentos de minha vida.
Sei que continua na torcida onde estiver.*

*A todos os bebês e crianças expostas ao vírus Zika e
suas famílias do Rio de Janeiro, principais fontes
incentivadoras que carregaram toda a nossa pesquisa.*

Agradecimentos

Primeiramente a Deus por me proporcionar e me guiar por este caminho que escolhi para seguir a minha profissão.

À minha orientadora, Profa. Renata Hydee Hasue, por toda a dedicação e doação durante a realização desta tese, desde o início da pesquisa em 2015, e por depositar tanta confiança no meu trabalho.

À Dra. Patrícia Brasil e toda sua equipe de pesquisa do Instituto Nacional de Infectologia Evandro Chagas da Fundação Oswaldo Cruz do Rio de Janeiro (Fiocruz) pela parceria nesta pesquisa, disponibilizando a sua coorte de crianças expostas ao vírus Zika para o nosso estudo.

À Profa. Christa Einspieler e ao Prof. Peter Marschik da Faculdade de Medicina de Graz, Graz – Áustria, pela parceria na idealização deste projeto e auxílio financeiro no início da pesquisa.

À Dra. Lia Laura Lewis Ximenez de Souza Rodrigues e toda equipe do Ambulatório de Hepatites Virais da Fiocruz por nos disponibilizar o local de coleta da pesquisa por todos esses anos.

A todas as queridas amigas e colegas do Laboratório de Avaliação Neurofuncional pela ajuda no decorrer da pesquisa, principalmente na coleta de dados no Rio de Janeiro:

- Ft. Fernanda Françoso Genovesi, idealizadora do projeto comigo e presente na fase inicial da pesquisa.
- Ft. Carolina Barbosa de Sousa e Ft. Paula Fernanda Augusto Kozima, pela ajuda com as avaliações das crianças.

À Profa. Ana Carolina Basso Schmitt pelo auxílio com a análise estatística.

À aluna Deyse Mayara Rodrigues Caron pela parceria principalmente com as primeiras avaliações dos bebês e organização dos dados.

À toda minha família, principalmente aos meus pais Maria Luiza e Carlos por sempre acreditarem e me apoiarem em todos os momentos.

Às professoras presentes na banca de qualificação pelas valiosas sugestões e contribuições para o enriquecimento do trabalho.

O presente trabalho ainda foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

“O Senhor... mire, veja: o mais importante e bonito,
do mundo, é isto: que as pessoas não estão sempre
iguais, ainda não foram terminadas - mas que elas vão
sempre mudando. Afinam ou desafinam, verdade
maior. É o que a vida me ensinou.
Isso que me alegra montão.”

Guimarães Rosa, 1956.

Normatização adotada

Esta tese está de acordo com as seguintes normas, em vigor no momento desta publicação:

Referências: adaptado de *International Committee of Medical Journals Editors* (Vancouver).

Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina. Divisão de Biblioteca e Documentação. *Guia de apresentação de dissertações, teses e monografias*. Elaborado por Anneliese Carneiro da Cunha, Maria Julia de A.L. Freddi, Maria F. Crestana, Marinalva de Souza Aragão, Suely Campos Cardoso, Valéria Vilhena. 3ª Ed. São Paulo: Serviços de Biblioteca e Documentação; 2011.

Abreviaturas dos títulos dos periódicos de acordo com *List of Journals Indexed in Index Medicus*.

Sumário

Lista de Abreviaturas e Siglas

Lista de Figuras

Lista de Tabelas

Resumo

Abstract

1 INTRODUÇÃO	1
1.1 A epidemia do vírus Zika no brasil e no mundo.....	2
1.2 Transmissão do vírus Zika	4
1.3 Sinais e sintomas clínicos da infecção pelo vírus Zika e a sua afinidade pelo sistema nervoso	6
1.4 Diagnóstico e tratamento da infecção pelo vírus Zika	10
1.5 A infecção pelo vírus Zika e suas repercussões para o desenvolvimento infantil	12
1.6 Avaliações do desenvolvimento neuropsicomotor.....	16
1.6.1 Avaliação da movimentação espontânea – <i>General</i> <i>Movement Assessment (GMA)</i>	16
1.6.2 Caracterização do desenvolvimento neuropsicomotor – Escala Bayley III de Desenvolvimento Infantil (BSID-III).....	19
1.7 O vírus Zika e a microcefalia – protocolo de vigilância no Brasil.....	22
2 JUSTIFICATIVA DO PROJETO	25
3 OBJETIVOS	27
3.1 Objetivo geral	28
3.2 Objetivos específicos.....	28
4 MÉTODOS	29
4.1 Tipo de estudo.....	30
4.2 População e local do estudo	30
4.3 Critérios de inclusão	31
4.4 Critérios de exclusão	32
4.5 Procedimentos e materiais	32

4.5.1	Procedimento de avaliação <i>pelo General Movement Assessment (GMA)</i>	33
4.5.2	Procedimento de avaliação pela Escala Bayley III de Desenvolvimento Infantil (BSID-III)	35
4.5.3	Variáveis clínicas e socioeconômicas	37
4.5.4	CrITÉRIOS para encaminhamento e tratamento de fisioterapia	38
4.6	Análise dos dados	39
5	RESULTADOS	41
5.1	Caracterização do repertório da movimentação espontânea e identificação dos fatores predisponentes para danos neurológicos	42
5.2	Desenvolvimento neuropsicomotor por meio da Escala Bayley III de Desenvolvimento Infantil	47
5.3	General Movement Assessment e variáveis clínicas e socioeconômicas	56
5.4	Escala Bayley III de Desenvolvimento Infantil e variáveis clínicas e socioeconômicas	57
5.4.1	Corte de 85 pontos	57
5.4.2	Corte utilizando as medianas dos escores	58
5.5	Validade preditiva do General Movement Assessment para o desfecho do desenvolvimento neuropsicomotor por meio da BSID-III	61
6	DISCUSSÃO	63
7	CONCLUSÕES	80
8	REFERÊNCIAS	83
	ANEXOS	102
	ANEXO 1- Avaliação do repertório motor concomitante dos três aos cinco meses de idade” - MOS – <i>Motor Optimality Score</i>	103
	ANEXO 2 - Aprovação do Comitê de Ética – CEP/FMUSP 135/16	104
	ANEXO 3 - Declaração de colaboração entre o Laboratório de Doenças Febris e Agudas do Instituto Nacional de Infectologia Evandro Chagas, Fiocruz, Rio de Janeiro e o Laboratório de Avaliação Neurofuncional da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, São Paulo	105
	ANEXO 4 - Termo de Consentimento Livre e Esclarecido	106
	ANEXO 5 - Publicação	109
	ANEXO 6 - Publicação	122

ANEXO 7 - Publicação.....	125
APÊNDICES	131
APÊNDICE 1 – Ficha de avaliação inicial e acompanhamento (inclui curvas do perímetro cefálico).....	132

Listas

ABREVIATURAS E SIGLAS

BSID	Escala Bayley de Desenvolvimento Infantil
BSID-II	Escala Bayley II de Desenvolvimento Infantil, 2a edição
BSID-III	Escala Bayley III de Desenvolvimento Infantil, 3a edição
CMV	Citomegalovírus
cCMV	Infecção por citomegalovírus
Coef	Coeficiente linear
COES	Centro de Operações de Emergências em Saúde Pública
d	dias
DP	Desvio Padrão
EMIA	Escala Motora Infantil de Aberta
Fiocruz	Fundação Oswaldo Cruz
FMs	<i>Fidgety Movements</i>
GMs	<i>General Movements</i>
GMA	<i>General Movement Assessment</i>
HIV	Vírus da Imunodeficiência Humana
ICC	Coeficiente de Correlação Intra-classe
IgM	Imunoglobulina M
MAC – ELISA	<i>IgM-capture enzyme-linked immuno-sorbent assay</i>
MS	Ministério da Saúde
MMSS	Membros Superiores
MMII	Membros Inferiores
MOS	<i>Motor Optimality Score</i>
N	Número
OR	<i>Odds ratio</i>

OMS	Organização Mundial da Saúde
PC	Paralisia Cerebral
RESP	Registro de Eventos de Saúde Pública
RN	Recém-nascido
RNA	Ácido ribonucléico
RNM	Ressonância Nuclear Magnética
RT-PCR	<i>Reverse Transcription Polymerase Chain Reaction</i>
sem	semanas
SGB	Síndrome de Guillain-Barré
SINASC	Sistema de Informações sobre Nascidos Vivos
SNC	Sistema Nervoso Central
TC	Tomografia Computadorizada
TCLE	Termo de Consentimento Livre e Esclarecido
UFBA	Universidade Federal da Bahia
WHO	<i>World Health Organization</i>
WMs	<i>Writhing Movements</i>
ZIKV	Vírus Zika
ZIKV ^{BR}	Vírus Zika – cepa brasileira

FIGURAS

Figura 1 - Fluxograma do processo de avaliação por meio do <i>General Movement Assessment</i>	44
Figura 2 - Fluxograma do processo de avaliação por meio da Escala Bayley III de Desenvolvimento Infantil	49
Figura 3 - Distribuição dos escores compostos dos domínios cognitivo, de linguagem e motor aos seis, nove, 12, 18 e 24 meses de idade	50
Figura 4 - Frequência de atraso observado por meio da Escala Bayley III de Desenvolvimento Infantil nos domínios cognitivo, de linguagem e motor aos seis, nove, 12, 18 e 24 meses de idade	52

TABELAS

Tabela 1 -	Caracterização dos lactentes avaliados pelo <i>General Movement Assessment</i>	43
Tabela 2 -	Avaliação da movimentação espontânea por meio do <i>General Movement Assessment</i>	45
Tabela 3 -	Dados clínicos e socioeconômicos das crianças expostas ao ZIKV durante a gestação avaliadas por meio da Escala Bayley III de Desenvolvimento Infantil aos seis, nove, 12, 18 e 24 meses de idade.....	48
Tabela 4 -	Distribuição dos escores compostos da Escala Bayley III de Desenvolvimento Infantil aos seis, nove, 12, 18 e 24 meses de idade e as respectivas comparações entre as crianças cujos resultados maternos foram ZIKV+ e ZIKV-.....	51
Tabela 5 -	Frequência de classificação dos escores compostos dos três domínios da Escala Bayley III de Desenvolvimento Infantil de acordo com as categorias aos seis, nove, 12, 18 e 24 meses de idade.....	53
Tabela 6 -	Classificação dos escores compostos dos três domínios da Escala Bayley III de Desenvolvimento Infantil dos três lactentes microcefálicos.....	54
Tabela 7 -	Valores preditivos do <i>General Movement Assessment</i> (GMA) para alterações no desfecho do desenvolvimento neuropsicomotor aos 24 meses de idade por meio da Escala Bayley III de Desenvolvimento Infantil.....	61
Tabela 8 -	Predição do <i>General Movement Assessment</i> (GMA) para alterações no desfecho do desenvolvimento neuropsicomotor por meio da Escala Bayley III de Desenvolvimento Infantil.....	62

Resumo

Aizawa CYP. *Caracterização do neurodesenvolvimento de lactentes expostos ao vírus ZIKA na vida intrauterina por meio do General Movement Assessment e da Escala Bayley III de Desenvolvimento Infantil* [tese]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 2019.

Introdução: O surto da infecção pelo vírus Zika (ZIKV) e os casos de microcefalia associados alertaram para as possíveis alterações neurológicas e do desenvolvimento infantil de filhos de gestantes infectadas. A síndrome congênita do ZIKV inclui também alterações neurológicas em não microcefálicos, além de alterações nos sistemas visual, auditivo, tegumentar e musculoesquelético, que podem levar à deficiência física e intelectual, com atraso do desenvolvimento neuropsicomotor. A detecção precoce dos riscos para alterações do desenvolvimento infantil é, portanto, fundamental nesta população. **Objetivo:** Identificar e caracterizar o repertório da movimentação espontânea e os fatores predisponentes para danos neurológicos; e as alterações do desenvolvimento neuropsicomotor de lactentes e crianças expostas ao vírus Zika durante a vida intrauterina. **Métodos:** Trata-se de um estudo de coorte. Os lactentes e crianças expostas ao ZIKV foram avaliados: i) por meio do *General Movement Assessment* (GMA) no primeiro e no terceiro mês de vida (incluindo a avaliação do *Motor Optimality Score* – MOS – aos três meses de idade); e ii) por meio da Escala Bayley III de Desenvolvimento Infantil (BSID-III) aos seis, nove, 12, 18 e 24 meses de idade. Foram construídos modelos de regressão logística para analisar os efeitos de variáveis clínicas e socioeconômicas nas variáveis categóricas do GMA (normal ou anormal – fase dos *fidgety movements*), nos escores compostos e escalares da BSID-III, e para verificar se o GMA aos três meses prediz o desfecho com a BSID-III aos 24 meses de idade; considerando $p < 0,05$ estatisticamente significativo. **Resultados:** Foram avaliados 79 lactentes no total para avaliação pelo GMA – 33 (3 microcefálicos) na fase dos *writhing movements* e 76 (incluindo os mesmos 3 microcefálicos) na fase dos *fidgety movements*. Foi observada a predominância do padrão repertório pobre (90%) no primeiro mês e presença dos *fidgety movements* normais (80,8%) no terceiro mês em grande parte dos não-microcefálicos avaliados nestas idades; porém 71% deles apresentou repertório motor concomitante diminuído pelo MOS aos três meses. Ao mesmo tempo, todos os três microcefálicos apresentaram repertório pobre com ausência dos *fidgety movements* nas respectivas fases. Entre as 93 crianças avaliadas por meio da BSID-III, a maioria apresentou desenvolvimento normal, porém naquelas com atraso, este foi mais frequente no domínio da linguagem, em detrimento dos domínios cognitivo e motor em todas as idades avaliadas. A porcentagem de crianças que pontuaram < 85 em pelo menos um domínio variou entre 18,4% (18 meses) e 38,6% (12 meses), e a de atraso de linguagem variou entre 12% (6 meses) e 40% (12 meses). Todos os microcefálicos avaliados apresentaram

atraso grave em todos os domínios nas cinco idades avaliadas. A renda familiar acima de quatro salários mínimos exerceu proteção principalmente em relação à cognição; o sexo masculino ofereceu risco para linguagem; e fatores clínicos, como idade gestacional, peso ao nascimento e infecção materna no terceiro trimestre influenciaram o desenvolvimento motor. Os resultados obtidos por meio do GMA não tiveram efeito sobre o desfecho do desenvolvimento neuropsicomotor por meio da BSID-III nesta população aos 24 meses de idade. **Conclusões:** Este trabalho nos fornece tanto um espectro de alterações no repertório motor indicadoras de lesões neurológicas, quanto desfechos de desenvolvimento normal desde o primeiro mês de vida até os 24 meses de idade em crianças expostas ao ZIKV durante a gestação. A maioria dos lactentes com repertório pobre no primeiro mês apresentou *fidgety movements* ao terceiro mês, porém com redução do repertório motor concomitante; e da coorte das crianças acompanhadas pela BSID-III, o atraso no desenvolvimento da linguagem foi predominante em todas as faixas etárias, em detrimento do domínio cognitivo e da evolução no domínio motor.

Descritores: Vírus zika; Infecções por arbovírus; Transtornos do neurodesenvolvimento; Desenvolvimento infantil; Cognição; Linguagem infantil; Atividade motora; Exame neurológico; Reabilitação.

Abstract

Aizawa CYP. *Characterization of neurodevelopment of infants exposed to ZIKA virus in utero applying General Movement Assessment and Bayley Scales of Infant and Toddler Development – III* [thesis]. São Paulo: “Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo”; 2019.

Introduction: The Zika virus (ZIKV) outbreak and associated microcephaly cases have alerted to possible neurological and alterations on development of infants with antenatal ZIKV-exposure. ZIKV congenital syndrome also includes neurological abnormalities in non-microcephalic infants in addition to visual, auditory, tegumentary and musculoskeletal systems, which may lead to physical and intellectual disability with delayed neurodevelopment. Early detection of risks for delay and alterations in child development is therefore fundamental in this population. **Objective:** To identify and characterize the repertoire of spontaneous movements and predisposing factors for neurological damage; and alterations in neurodevelopment of children with antenatal ZIKV-exposure. **Method:** This is a cohort study. Infants and children exposed to ZIKV were assessed by: i) General Movement Assessment (GMA) in the first and third months of life (including the Motor Optimality Score – MOS at fidgety age); and ii) Bayley Scales of Infant and Toddler Development – Third Edition (BSID-III) at 6, 9, 12, 18 and 24 months of age. Logistic regression models were constructed to analyze the effects of clinical and socioeconomic variables on GMA categorical variables (normal or abnormal - fidgety movements age) and on BSID-III composite and scaled scores, and to verify if GMA at fidgety age can predict the outcome assessed by BSID-III at 24 months of age; $p < 0.05$ indicated statistical significance. **Results:** In total, 79 infants were assessed by GMA – 33 infants (3 microcephalic) at writhing movements age and 76 (the same 3 microcephalic) at fidgety age. The predominance of poor repertoire pattern (90%) in the first month and presence of normal fidgety movements (80,8%) in the third month were observed in the majority of non-microcephalic infants assessed; however, 71% of them had a decreased concomitant motor repertoire by MOS at three months. All three microcephalic infants presented poor repertoire with absence of fidgety movements in respective phases. Most of the 93 children evaluated by BSID-III had normal neurodevelopmental outcome, with composite scores ≥ 85 at all time points. Higher scores were observed in cognitive and motor domains in contrast to a higher number of children who presented language delay. The percentage of children who scored < 85 in at least one domain ranged from 18.4% (18 months) to 38.6% (12 months) and language delay ranged from 12% (6 months) to 40% (12 months). All microcephalic infants presented severe delay in all domains at all time points. Family income above four minimum wages was protective for cognition; male gender was risk for language; and clinical factors such as gestational age, birth weight and third trimester of maternal infection influenced motor development. The results

obtained by GMA had no effect on BSID-III outcomes at 24 months of age.

Conclusions: Our study provides insight into the spectrum of both neurologic sequelae and normal outcomes observed from one to 24 months of age. The majority of infants with poor repertoire in the first month had fidgety movements at three months, but with a reduction of concomitant motor repertoire; and in the cohort of children followed by BSID-III, language delay was predominant at all time points, in contrast to cognitive domain and evolution in motor development.

Descriptors: Zika virus; Arbovirus infections; Neurodevelopmental disorders; Child development; Cognition; Child language; Motor activity; Neurologic examination; Rehabilitation.

1 Introdução

1 INTRODUÇÃO

1.1 A EPIDEMIA DO VÍRUS ZIKA NO BRASIL E NO MUNDO

Em 1947 foi obtido o primeiro isolamento de um novo vírus, o vírus Zika (ZIKV), no sangue de um macaco *rhesus* sentinela que havia sido colocado na floresta Zika, em Uganda (Dick et al., 1952a; Iosifidis et al., 2014). O ZIKV consiste num flavivírus, da família Flaviviridae e está relacionado a outras flaviviroses transmitidas por vetores de grande relevância médica, como os agentes causadores da dengue, da febre chikungunya e da febre amarela. Após sua identificação, o ZIKV permaneceu em relativa obscuridade por aproximadamente 70 anos, até, num espaço de apenas um ano, ser introduzido nas américas e no Brasil (a partir das ilhas do Pacífico), onde encontrou condições favoráveis para se espalhar rapidamente. O vírus atraiu atenção internacional ao se tornar a causa principal de doença infecciosa associada a alterações neurológicas congênitas, principalmente a microcefalia, a ser redescoberta depois de mais de meio século, gerando tal alarme global que fez com que a Organização Mundial de Saúde (OMS) declarasse uma Questão Internacional de Emergência de Saúde Pública (Petersen et al., 2016).

O ZIKV foi isolado do mosquito *Aedes africanus* em algumas ocasiões após a sua descoberta em 1947 (Dick et al., 1952b) e inicialmente não havia indícios de que o vírus provocasse alguma doença em humanos. Esta foi

primeiramente identificada na Nigéria em 1953, quando uma infecção viral foi confirmada em três pessoas doentes (MacNamara, 1954). Apesar do reconhecimento como doença febril, poucos casos foram relatados no continente africano quando, em 2007, ocorreu o primeiro surto de infecção pelo ZIKV em algumas ilhas do Estado de Yap, nos Estados Federativos da Micronésia, resultando numa estimativa de 5.000 casos numa população total de 6.700 habitantes (Duffy et al., 2009).

Em 2013 e 2014, um novo surto na Polinésia Francesa envolveu aproximadamente 28.000 casos ou 11% da população, que apresentou sintomas como febre baixa, erupções cutâneas, dores articulares e conjuntivite (Musso et al., 2014). Coincidentemente, durante este surto, a Síndrome de Guillain-Barré (SGB) foi associada à infecção pelo ZIKV pela primeira vez, obteve-se a primeira evidência da transmissão sanguínea do vírus e a detecção do vírus no sêmen, na saliva e na urina (Weaver et al., 2016). Surtos subsequentes ocorreram nas Ilhas do Pacífico, incluindo Nova Caledônia (Dupont-Rouzeyrol et al., 2014), Ilhas Cook (Roth et al., 2014) e a Ilha da Páscoa (Tognarelli et al., 2016), sendo que os mosquitos *Aedes aegypti* e *Aedes albopictus* já tinham sido encontrados na maior parte dessas regiões (Horwood et al., 2013).

O ZIKV foi primeiramente identificado no Brasil e na América Latina no dia 29 de abril de 2015, quando um surto de doença exantemática ocorreu na Bahia. Pesquisadores da Universidade Federal da Bahia (UFBA) reportaram a identificação do ZIKV pelo método *Reverse Transcription Polymerase Chain Reaction* (RT-PCR) em oito de 25 pacientes avaliados em Camaçari, cidade

da região metropolitana de Salvador. Dados epidemiológicos indicaram que em Salvador o surto começou em fevereiro e se estendeu até junho de 2015 (Campos et al., 2015; Cardoso et al., 2015). Até outubro o vírus já havia se espalhado para pelo menos 14 estados brasileiros, e em dezembro de 2015, o Ministério da Saúde Brasileiro tinha uma estimativa de 1,3 milhões de casos suspeitos (Hennessey et al., 2016). Também em outubro de 2015 foi reportado o primeiro caso de transmissão do ZIKV na Colômbia e, em março de 2016, um total de 51.573 casos já haviam sido reportados neste país. Até março de 2016, o vírus já havia se disseminado por 33 países e territórios nas Américas (OMS, Março 2016).

1.2 TRANSMISSÃO DO VÍRUS ZIKA

Na África, o ZIKV circula num ciclo de transmissão silvestre entre os primatas não-humanos em certas espécies que habitam a floresta com mosquitos *Aedes*. Neste cenário, podem ocorrer infecções humanas esporádicas. Em configurações urbanas e suburbanas, o vírus é transmitido em um ciclo de transmissão humano-mosquito-humano, envolvendo principalmente o mosquito *Aedes aegypti* no continente americano. Este é conhecido por ter uma alta capacidade vetorial, pois se alimenta primariamente de sangue humano, pode picar vários indivíduos em uma única refeição de sangue, apresenta uma picada quase imperceptível e vive em estreita associação com o *habitat* humano (Gubler, 2002; Petersen et al., 2016).

Evidência substancial também indicou que o vírus é transmitido da mãe para o feto durante a gestação. Foi identificado o RNA do ZIKV no líquido amniótico de mães cujos fetos tiveram alterações cerebrais detectadas ao exame de ultrassonografia (Calvet et al., 2016; Petersen et al., 2016). Ainda, antígenos anti-virais e o RNA viral foram identificados no tecido cerebral e na placenta de recém-nascidos com microcefalia e que foram a óbito logo após o nascimento, assim como no tecido cerebral dos óbitos perinatais ou fetais (Meaney-Delman et al., 2016; Martines et al., 2016). De fato, foi identificada insuficiência placentária em mães com RT-PCR positivo para o ZIKV (Brasil et al., 2016). A frequência e os fatores de risco da transmissão ainda estão sendo estudados.

Outro meio de transmissão reportado e comprovado se dá através de relação sexual. A transmissão sexual por parceiros que viajaram para áreas de epidemia foi reportada. Dois estudos mostraram a presença do ZIKV (RNA viral) no sêmen, sendo possível ser detectado até 62 dias após o aparecimento dos sintomas (Atkinson et al., 2016; Mansuy et al., 2016). Um caso ocorreu com uma jovem saudável de 24 anos em Paris, que em 20 de fevereiro de 2016, começou a desenvolver sintomas como febre baixa, dores musculares e articulares e erupções cutâneas após ter se relacionado sexualmente com o seu parceiro recém chegado do Rio de Janeiro e que havia contraído a doença. Foi sequenciado o genoma do ZIKV encontrado na saliva da jovem e do ZIKV encontrado no sêmen de seu parceiro e chegou-se à conclusão de que as sequências dos nucleotídeos de ambos os ZIKV se agrupavam dentro da mesma árvore filogenética, indicando transmissão do

vírus de um indivíduo para o outro (D'Ortenzo et al., 2016). Ainda, apesar de a transmissão do vírus através de transfusão sanguínea ainda não ter sido reportada, é provável que ocorra, dada a transmissão de outras flavivirose pela mesma maneira (Marano et al., 2016).

1.3 SINAIS E SINTOMAS CLÍNICOS DA INFECÇÃO PELO VÍRUS ZIKA E A SUA AFINIDADE PELO SISTEMA NERVOSO

Os principais sinais e sintomas clínicos desta doença febril aguda consistem em erupções macular e papular (tipo mais comum de exantema), prurido, febre baixa (inferior a 38°C), dores musculares e articulares, inchaço moderado nas articulações, conjuntivite não-purulenta, dores de cabeça, dor retro-orbital, linfadenopatia e, numa menor porcentagem de ZIKV positivos, náuseas e vômitos (Duffy et al., 2009; Brasil et al., 2016). Estes sintomas foram principalmente reportados e encontrados numa coorte de gestantes infectadas pelo ZIKV no Rio de Janeiro (Brasil et al., 2016).

O ZIKV foi encontrado no tecido encefálico de feto com microcefalia, filho de gestante infectada (Mlakar et al., 2016) e no líquido amniótico (Calvet et al., 2016), sugerindo que o vírus ultrapassa a barreira placentária e pode infectar o feto em desenvolvimento.

Em abril de 2016, no estudo de Garcez e colaboradores, células tronco (estimuladas a se transformarem em células cerebrais, gerando as neuroesferas e os organoides cerebrais – minicérebros - modelos do cérebro em diferentes estágios de desenvolvimento) foram infectadas com amostras

da linhagem africana do ZIKV. Analisou-se a maneira como elas se desenvolviam em comparação com células não expostas ao vírus e observou-se que o ZIKV havia comprometido a capacidade das células-tronco de gerar neuroesferas. As poucas neuroesferas formadas se degradaram em até seis dias, enquanto as originadas de células não infectadas tiveram desenvolvimento normal. O vírus se multiplicou rapidamente no interior das células e provocou apoptose (morte celular programada) das mesmas. Ainda, cerca de 11 dias após o início dos testes, os minicérebros infectados eram 40% menores do que os saudáveis e além de apresentarem menor crescimento, também eram deformados (Garcez et al., 2016).

Quase que concomitantemente, o trabalho de Tang e colaboradores demonstrou a afinidade do ZIKV pelas células do tecido cerebral. Evidenciou-se que a infecção do ZIKV afeta as células progenitoras neurais humanas derivadas de células tronco pluripotentes (85% delas estavam infectadas e haviam ativado as vias bioquímicas da apoptose três dias após terem sido expostas ao ZIKV), aumentando a morte celular e atenuando o seu crescimento (Tang et al., 2016).

O estudo de Cugola e colaboradores, realizado por meio de experimentos com camundongos e utilizando a variedade do vírus em circulação no Brasil, comprovou que a cepa brasileira do ZIKV, o ZIKV^{BR}, é mais agressiva do que a africana e que a mesma conseguiu atravessar a placenta de fêmeas de camundongos com o sistema imunológico debilitado e prejudicar o desenvolvimento dos filhotes. Os roedores nasceram pequenos e com menos da metade do peso normal, além de, como esperado,

apresentarem o cérebro menor do que o de filhotes saudáveis. Também foi demonstrado, como nos trabalhos anteriores citados realizados com o vírus africano, que o ZIKV^{BR} invade e danifica preferencialmente os chamados precursores neurais ou neuoprecursos das células nervosas corticais, levando à sua morte por apoptose ou autofagia (forma de destruição mais drástica em que a célula dissolve seu conteúdo) (Cugola et al., 2016).

Este trabalho representou grande impacto na comunidade científica no ano de 2016 com a epidemia, pois conseguiu comprovar a causalidade da infecção pelo ZIKV com a microcefalia e outros distúrbios neurológicos congênitos. Ainda, no estudo foi demonstrado que o ZIKV^{BR} causa microcefalia apenas nos filhotes de roedores que apresentam o sistema imunológico mais debilitado, modelo similar ao que ocorre durante a gestação, período em que o sistema imunológico sofre certa supressão para permitir que o embrião se implante no útero e o feto se desenvolva. Assim, este resultado pode ajudar a explicar o motivo pelo qual nem toda mulher que é infectada pelo ZIKV durante a gestação terá um filho com microcefalia: as características genéticas da mãe, um dos fatores determinantes do perfil imunológico, parecem ser importantes para impedir que o vírus chegue ao feto (Cugola et al., 2016).

Estudo recente (Barbeito-Andrés et al., 2020) também mostrou que a desnutrição protéica materna aumenta a susceptibilidade do ZIKV provocar lesões no Sistema Nervoso Central (SNC). A combinação de restrição protéica e a infecção pelo ZIKV pode levar a graves alterações da estrutura placentária e do crescimento embrionário do feto, com a redução da

neurogênese e do tamanho do cérebro pós-natal da prole de camundongos prenhas (estes que foram submetidos à desnutrição protéica e infectados com uma cepa brasileira do ZIKV), como mostrou no estudo. A análise da sequência do RNA revelou a desregulação da expressão gênica necessária para o desenvolvimento do cérebro na progênie de baixa proteína infectada (Barbeito-Andrés et al., 2020).

Ainda no trabalho de Cugola e colaboradores (2016), a linhagem do ZIKV^{BR} ainda se mostrou mais agressiva, à medida que as neuroesferas infectadas tinham cerca de um quarto do tamanho das infectadas pelo vírus africano e quase um décimo do tamanho das cultivadas livres do vírus. O ZIKV também causou deformações em sua estrutura: quanto maior a quantidade de vírus, mais intensos eram os danos; e além de deixar as neuroesferas deformadas, o vírus impediu a migração das células. Minicérebros infectados pelo ZIKV em circulação no Brasil apresentaram redução da espessura da camada do córtex cerebral, a camada mais afetada nos bebês com microcefalia causada pelo vírus. Embora mantenha quase 90% de similaridade genética com o vírus africano, o ZIKV^{BR} já é diferente por ter experimentado algumas mudanças adaptativas nas células humanas: em minicérebros de chimpanzé ele não afetou as células que dão origem ao córtex cerebral, o que indica que o vírus brasileiro, além de mais agressivo, possivelmente é mais adaptado a se replicar em células humanas (Cugola et al., 2016).

No estudo de caso-controle realizado em Recife, de Araújo e colaboradores (2018) ajudaram a confirmar a forte associação entre a

infecção pelo ZIKV e a microcefalia, atestando que 57% das mães mesmo do grupo controle haviam sido infectadas pelo vírus (teste positivo para anticorpos neutralizantes do vírus). Além disso, 35% dos casos de microcefalia também foram considerados positivos para o ZIKV por meio dos anticorpos IgM ou do RT-PCR e 20% dos casos negativos também apresentaram anormalidades cerebrais, destacando também as limitações dos métodos diagnósticos. O estudo ressaltou ainda a variação do espectro clínico da Síndrome Congênita do ZIKV (de Araújo et al., 2018).

Uma relação temporal e geográfica forte foi observada também entre os surtos do ZIKV e a SGB no Pacífico e nas Américas (Oehler et al., 2014; Rozé et al., 2016). Uma série de casos de pacientes com SGB foi identificada durante o surto da virose na Polinésia Francesa em 2013 (Cao-Lormeau et al., 2014), em que 42 casos foram associados com a infecção pelo ZIKV (Musso et al. 2014; Oehler et al., 2014). O aumento da incidência de casos da SGB foi identificado em vários países da América onde a epidemia do ZIKV se espalhou desde 2015 (Organização Mundial da Saúde - OMS, reportado em 19 Fev 2016). A meningoencefalite e a mielite aguda também foram reportadas como complicações decorrentes da infecção pelo ZIKV (Carteaux et al., 2016; Mécharles et al., 2016).

1.4 DIAGNÓSTICO E TRATAMENTO DA INFECÇÃO PELO VÍRUS ZIKA

O diagnóstico de rotina da infecção pelo ZIKV é realizado principalmente por meio da detecção do ácido nucléico viral pelo *Reverse*

Transcription Polymerase Chain Reaction (RT-PCR) e da detecção de anticorpos IgM através do *IgM-capture enzyme-linked immuno-sorbent assay* (MAC-ELISA). A detecção do ácido nucléico viral na sorologia fornece um diagnóstico definitivo, porém, na maioria dos casos, a viremia é transitória e o diagnóstico através do RT-PCR tem tido mais sucesso dentro de uma semana após o aparecimento dos sintomas e sinais clínicos (Bearcroft, 1956; Lanciotti et al., 2008; Petersen et al., 2016).

O tratamento, assim como nas demais flaviviroses, consiste no controle dos sintomas. Ainda não existe vacina para o ZIKV, assim, as medidas de prevenção e controle para evitar a picada do mosquito *Aedes aegypti*, a transmissão via sexual e o controle do mosquito vetor são de extrema importância (Petersen et al., 2016). Logo, podemos citar medidas preventivas, como a eliminação de criadouros (manutenção da conservação de caixas-d'água e outros reservatórios tampados e o lixo em sacos fechados, e eliminação de objetos que possam acumular água), proteção contra picadas (uso de roupas longas e de repelentes em adultos e crianças com mais de seis meses) e a prática do sexo seguro (uso de preservativo durante relações sexuais) (Ministério da Saúde e OMS, 2016). Outro cuidado para as gestantes consiste em evitar a viagem para áreas em que há transmissão do ZIKV em curso.

1.5 A INFECÇÃO PELO VÍRUS ZIKA E SUAS REPERCUSSÕES PARA O DESENVOLVIMENTO INFANTIL

O aumento dos casos de microcefalia e sua possível associação com o surto da infecção pelo ZIKV (Ministério da Saúde, 2016a) nos trouxe um alerta para as possíveis afecções neurológicas e do desenvolvimento infantil de filhos de gestantes infectadas. Segundo a OMS, a microcefalia é caracterizada pela medida do crânio realizada por meio de técnica e equipamentos padronizados, em que o perímetro cefálico apresente medida menor que menos dois (-2) desvios-padrões abaixo da média específica para o sexo e idade gestacional. Além disso, considera-se que a medida menor que menos três (-3) desvios-padrões é definida como microcefalia grave (Pires et al., 2018). O Ministério da Saúde passou a adotar, em março de 2016, novos parâmetros para medir o perímetro cefálico e identificar casos suspeitos de recém-nascidos (RNs) com microcefalia. Para meninos, a medida estabelecida foi igual ou inferior a 31,9 cm e, para meninas, igual ou inferior a 31,5 cm. A mudança está de acordo com a recomendação anunciada também pela OMS, e teve como objetivo padronizar as referências para todos os países, valendo para RNs com 37 ou mais semanas de gestação. Passou-se a ser utilizada a curva de InterGrowth, que tem como referência a idade gestacional do RN (Ministério da Saúde, 2015a).

A Síndrome Congênita do ZIKV inclui, além da microcefalia, a presença de hipertonia ou espasticidade, tremores, irritabilidade e convulsões. Nos exames de neuroimagem, são encontradas calcificações cerebrais, ventriculomegalia e lisencefalia (Brasil et al., 2016; Cavalheiro et al., 2016; Miranda-Filho et al., 2016). Diminuição do volume encefálico e hipoplasia do cerebelo e tronco encefálico, atraso na mielinização e anormalidades do corpo

caloso também foram relatadas em exames de tomografia computadorizada (TC) e ressonância nuclear magnética (RNM) (De Fatima Vasco Aragao et al., 2016; Mehrjardi et al., 2017; De Freitas Ribeiro et al., 2018).

Alterações do sistema visual e auditivo também foram relatadas (Brasil et al., 2016; Miranda-Filho et al., 2016; Mulkey et al., 2018). Nos sistemas tegumentar e musculoesquelético foram descritos hérnia umbilical, pé-torto congênito e artrogripose (Miranda-Filho et al., 2016; Saad et al., 2018). Kapogiannis e colaboradores descreveram além das manifestações anatômicas e neurológicas (persistência de reflexos primitivos, epilepsia, hidrocefalia, microcefalia e atraso no desenvolvimento neuropsicomotor), problemas de motilidade gastrointestinal e complicações respiratórias, como pneumonia (Kapogiannis et al., 2017).

O trabalho de revisão de Pessoa e colaboradores descreveu as características clínicas, alterações no desenvolvimento motor e epilepsia em lactentes com achados clínicos consistentes com a Síndrome Congênita do ZIKV. Dentre estes, 54% tiveram epilepsia e 100% apresentaram alterações motoras. Alterações consistentes com diagnóstico de Paralisia Cerebral (PC) ou Encefalopatia Crônica Não Progressiva e Epilepsia ocorreram frequentemente. Anormalidades motoras condizentes com alterações de origem piramidal e extrapiramidal foram observadas precocemente e de forma concomitante em alguns casos (Pessoa et al., 2018). Alves e colaboradores (2018a) também reportaram que em quase metade dos casos acompanhados foi observado que os lactentes com microcefalia desenvolveram epilepsia no primeiro ano de vida e todos apresentaram atraso importante no

desenvolvimento neuropsicomotor. As convulsões foram os tipos de crise mais comuns e foram relacionados à piora no desenvolvimento desses lactentes (Alves et al., 2018a).

Alterações tanto de neuroimagem como do desenvolvimento neuropsicomotor mesmo em lactentes que não desenvolveram a microcefalia, mas que foram expostos ao ZIKV começaram também a ser reportadas, incluindo alterações de tônus, com predominância de hipertonia, sinais de ataxia, discinesia (balismo e coreia), distonia, posturas assimétricas e irritabilidade (Cardoso et al., 2018). Uma grande variedade de alterações de neuroimagem (RNM) também foi destacada em lactentes não microcefálicos, como malformações corticais, calcificações cerebrais e na junção córtico-medular, diminuição do volume cerebral, ventriculomegalia, e hipoplasia do corpo caloso, cerebelo e tronco cerebral (Brasil et al., 2016; Mehrjardi et al., 2017; Moreira et al., 2018; Pool et al., 2019). Também foram encontrados achados de realce de múltiplos nervos cranianos e infarto cerebral, e processo inflamatório encontrado no nervo auditivo foi associado à perda auditiva também observada em lactentes não-microcefálicos (Mulkey et al., 2018).

A microcefalia pós-natal também foi descrita. McCarthy e colaboradores relataram o aparecimento desta relacionada com o ZIKV, o que suporta a ideia da necessidade de *follow-up* independentemente de o recém-nascido apresentar ou não sinais clínicos ao nascimento (McCarthy et al., 2016); e há autores que dividem a gravidade da Síndrome Congênita do ZIKV em três categorias, de acordo com as alterações provocadas: i) associada à microcefalia ao nascimento; ii) associada à microcefalia pós-natal; iii) sem

presença de microcefalia, mas com alterações encontradas em neuroimagem e no desenvolvimento neuropsicomotor (De Freitas Ribeiro et al., 2018).

Como já exposto acima, o ZIKV foi encontrado no tecido encefálico de feto com microcefalia de gestante infectada (Mlakar et al., 2016) e no líquido amniótico (Calvet et al., 2016), evidenciando que o vírus ultrapassa a barreira placentária e pode infectar o feto em desenvolvimento. Ainda, o mecanismo direto de afinidade pelo sistema nervoso, provocando a morte ou atenuando o crescimento das células progenitoras neurais humanas (Tang et al., 2016) afeta diretamente o crescimento e o desenvolvimento do sistema nervoso fetal.

Saad e colaboradores trazem uma descrição mais atual do espectro clínico variado da Síndrome Congênita do ZIKV enfatizando como componentes do quadro clínico alterações no SNC (calcificações justacorticais, malformações corticais, ventriculomegalia, hipoplasia cerebelar e do tronco cerebral); crises convulsivas; déficits sensoriais (alterações ópticas e auditivas); artrogripose; atraso no desenvolvimento neuropsicomotor com espasticidade, hiperexcitabilidade, exacerbação e persistência dos reflexos primitivos; e presença de disfagia (Saad et al., 2018).

Potencialmente, a microcefalia e as outras alterações neurológicas decorrentes da Síndrome Congênita do ZIKV contribuirão para o aumento dos casos de crianças com Paralisia Cerebral, agravando as consequências do surto da infecção pelo ZIKV. Neste sentido, devem ser tomadas medidas de saúde pública, incluindo a detecção precoce dos riscos para alterações e o acompanhamento do desenvolvimento neuropsicomotor.

1.6 AVALIAÇÕES DO DESENVOLVIMENTO NEUROPSICOMOTOR

1.6.1 Avaliação da movimentação espontânea – *General Movement Assessment (GMA)*

Atualmente, a ferramenta clínica mais precisa para a identificação precoce de riscos para danos neurológicos em recém-nascidos e lactentes antes dos seis meses de idade consiste na avaliação dos *General Movements* (GMs) (Prechtl et al., 1997; Einspieler e Prechtl, 2005; Burger; Louw, 2009; Noble; Boyd, 2012; Bosanquet et al., 2013).

A análise dos GMs baseia-se na avaliação da percepção da Gestalt (*Gestalt Perception*) de filmagens de padrões de movimentação espontânea considerados normais e anormais em idades específicas. Avaliadores treinados com experiência no método alcançaram altos valores de confiabilidade, com Kappa variando entre 0.85 e 0.94 (Einspieler e Prechtl, 2005; Valentin et al., 2005; Mutlu et al., 2008). Ainda, a avaliação pelos GMs consiste num método não invasivo, de baixo custo e altamente confiável.

Os GMs são padrões motores idade-específicos presentes desde a 10ª semana de idade gestacional até os cinco meses de idade (Prechtl et al., 1997). Por volta da idade do termo, os *writhing movements* (WMs) envolvem todo o corpo e se manifestam em uma sequência variável dos membros superiores (MMSS), dos membros inferiores (MMII), do pescoço e do tronco. Eles aumentam e diminuem aos poucos em vigor, intensidade e velocidade e têm um início e um fim graduais. As rotações ao longo do eixo dos membros

e ligeiras alterações na direção do movimento os tornam fluentes e elegantes, e criam a impressão de complexidade e variabilidade (Einspieler et al., 2004). Além de uma análise detalhada da amplitude de movimento, velocidade, intensidade, componentes espaciais, componentes rotatórios e a fluência do início e fim dos movimentos (Einspieler et al., 2016a) teremos uma avaliação global dos *writhing movements* como normais ou anormais: de repertório pobre, *cramped synchronized* ou caóticos (Prechtl et al., 1997). Com a especificidade da avaliação de 92% em pré-termo com 28 semanas e de 100% em lactentes entre 47-60 semanas na fase pós-termo (Bosanquet et al., 2013), os GMs de padrão do tipo *cramped synchronized* indicam um alto risco de déficits neurológicos graves, principalmente Paralisia Cerebral do tipo espástica (Prechtl et al., 1997; Ferrari. et al., 2002).

Durante a idade que compreende os três e cinco meses, os GMs são caracterizados como *fidgety movements* (FMs), que consistem em movimentos de membros, tronco e cabeça de baixa amplitude, velocidade moderada e aceleração variável e que estão presentes continuamente enquanto o bebê está acordado (Prechtl et al., 1997; Einspieler et al., 2016b), indicando desenvolvimento neurológico normal (Einspieler e Prechtl, 2005). Estudos mostram que todos os bebês que apresentaram *fidgety movements* tiveram desenvolvimento normal, mesmo apresentando imagens de ultrassonografia craniana com achados de lesões que indicariam déficits neurológicos futuros. Ao mesmo tempo, quase todos os bebês que não apresentaram *fidgety movements* evoluíram com déficits neurológicos, mesmo sem a identificação de lesões nas imagens de ultrassonografia (Yang

et al., 2012). A ausência dos *fidgety movements* neste período é altamente preditiva para o diagnóstico posterior de PC, com uma sensibilidade de 97-98% e especificidade de 89-91% (Bosanquet et al., 2013; Kwong et al., 2018). Além da ausência destes movimentos entre os três e cinco meses de idade estar tipicamente relacionada a déficits neurológicos graves (Prechtl et al., 1997; Einspieler e Prechtl, 2005; Bosanquet et al., 2013; Kwong et al., 2018), *fidgety movements* de qualidade anormal (por exemplo com amplitude e velocidade exageradas e movimentos bruscos) apontam para disfunções neurológicas menores (Bruggink et al., 2008) ou desordens de espectro autista (Einspieler et al., 2014).

Além dos *fidgety movements*, também devemos avaliar detalhadamente (quantitativa e qualitativamente) os movimentos e posturas concomitantes também presentes no repertório motor do lactente em cada idade específica (Einspieler et al., 2008). A assim chamada “Avaliação do repertório motor concomitante dos três aos cinco meses de idade” ou do inglês MOS – *Motor Optimality Score* (Einspieler et al., 2004 – ANEXO 1) avalia todo o repertório motor do lactente entre 3 e 5 meses de idade baseado em cinco subcategorias: *fidgety movements*, repertório motor adequado para a idade, qualidade dos padrões de movimentos diferentes dos *fidgety movements*, postura, qualidade geral de todo o repertório motor (Einspieler et al., 2004).

Os GMs anormais presentes por volta da idade do termo (40 semanas) e os movimentos monótonos e bruscos, assim como a presença de posturas anormais entre os três e cinco meses de idade na presença ou ausência dos

fidgety movements podem indicar um alto risco para disfunções cognitivas tardiamente (Einspieler et al., 2016c).

1.6.2 Caracterização do desenvolvimento neuropsicomotor – Escala Bayley III de Desenvolvimento Infantil (BSID-III)

A partir dos seis meses de idade a escala de avaliação do desenvolvimento neuropsicomotor de lactentes e crianças considerada padrão ouro mundialmente consiste na *Bayley Scales of Infant Development (BSID)*, ou em português Escala Bayley de Desenvolvimento Infantil. Os estudos teóricos iniciados por Nancy Bayley e colaboradores em 1933 resultaram na publicação de uma primeira versão da Escala Bayley de Desenvolvimento Infantil em 1969, após quase 40 anos de pesquisa e prática clínica com crianças pequenas (Bayley, 1969). Na versão dois (BSID-II), publicada em 1993 (Bayley, 1993), houve uma incorporação no formato de administração dos testes, categorizando-os e ordenando-os de acordo com o seu grau de dificuldade, mas mantendo certo grau de flexibilidade.

A primeira e a segunda edição da BSID foram intensivamente utilizadas para documentar o desenvolvimento motor de lactentes durante décadas (Bayley, 1969; Bayley, 1993). A escala BSID-II é reconhecida entre as melhores escalas existentes na área de avaliação do desenvolvimento infantil, fornecendo resultados confiáveis, válidos e precisos do estado de desenvolvimento da criança em teste. Sua utilização como instrumento de pesquisa tem recebido grande suporte da comunidade científica, porém seu elevado custo e treino exigido para correta administração explicam porque sua

utilização é quase sempre exclusiva de especialistas que trabalham com crianças pequenas (Bayley, 1993).

A *Bayley Scales of Infant and Toddler Development – Third Edition* (BSID-III) ou Escala Bayley III de Desenvolvimento Infantil é uma revisão da BSID-II, indicada para avaliar crianças de 16 dias a 42 meses de idade. Durante sua revisão ocorreram atualizações de dados normativos com uma amostra contemporânea e representativa, melhora da qualidade psicométrica, levando a uma maior utilidade clínica e simplificando a sua administração (Bayley, 2006). Outros aspectos sofreram modificações na terceira versão: revisão e construção de itens-testes para aspecto cognitivo, linguagem e escala motora, simplificando o procedimento e atualizando os materiais utilizados para a nova população.

A BSID-III corresponde a Escala de Bayley – III e ao Teste de Triagem Bayley–III (*Screening test*). Ao ser aplicada está subdividida em cinco domínios: cognição, linguagem (comunicação expressiva e receptiva), motor (grosso e fino), sócio-emocional e componente adaptativo. Os três primeiros domínios são observados com a criança em situação de teste e os dois últimos, por meio de questionários preenchidos pelos pais ou cuidadores (Bayley, 2006). Essas duas últimas são consideradas complementares (Anderson et al., 2010) e são menos utilizadas na prática clínica e em pesquisa.

Entre as escalas de desenvolvimento infantil reconhecidas pela comunidade científica, a BSID-III possui todas as propriedades psicométricas, sendo considerada uma escala padrão ouro por fornecer resultados

confiáveis, válidos e precisos do desenvolvimento infantil (Anderson et al., 2010). Os dados normativos da BSID-III foram obtidos a partir de uma amostra de padronização de 1.700 crianças de um a 42 meses de idade, que foi estratificada em nível educacional, raça, etnia e região geográfica para representar dados do Censo dos EUA de 2000 (Bayley, 2006). A BSID-III tem níveis aceitáveis de confiabilidade (consistência interna $>0,86$; confiabilidade teste-reteste $>0,67$) e validade concorrente em relação a vários testes de diagnóstico de desenvolvimento para crianças americanas (Bayley, 2006).

Desde sua publicação em 2006, a BSID-III vem aumentando sua utilização para avaliar o desenvolvimento motor em diversas populações pediátricas (Anderson et al., 2010). Embora a BSID-III seja altamente aceitável como uma medida válida e confiável de avaliação do neurodesenvolvimento de crianças, observa-se uma subestimação das avaliações quando utilizado somente as normas gerais publicadas, sendo preferível comparar com um grupo de referência local (Spittle et al., 2013).

A BSID-III não é apenas utilizada clinicamente para o acompanhamento do desenvolvimento motor, mas também é a avaliação neuropsicomotora mais utilizada para a pesquisa científica na investigação dos resultados de desempenho motor na infância, comparando a performance motora entre as crianças (De Kieviet et al., 2009). Deve-se reconhecer que há muitos fatores que influenciam o desenvolvimento de uma criança, como o relacionamento com os pais, influência do ambiente externo e experiências; e é improvável que qualquer ferramenta seja capaz de prever o resultado perfeitamente (Spittle et al., 2013).

1.7 O VÍRUS ZIKA E A MICROCEFALIA – PROTOCOLO DE VIGILÂNCIA NO BRASIL

Em setembro de 2015, médicos e pesquisadores aqui no Brasil começaram a observar o aumento do número de RNs com microcefalia nas mesmas áreas em que o ZIKV foi reportado (Schuler-Faccini et al., 2016). Em outubro do mesmo ano, o Ministério da Saúde iniciou algumas investigações conjuntas com o estado de Pernambuco após observar o aumento do número e mudanças no padrão de casos de microcefalia, especialmente naquele estado. Em novembro foi lançada a primeira Diretriz Nacional em Microcefalias e foi estabelecida a associação entre a infecção pelo ZIKV e a microcefalia pela confirmação da presença do vírus no líquido amniótico de gestantes no estado da Paraíba pela Fundação Oswaldo Cruz (Fiocruz) (Ministério da Saúde, 2016b).

Em dezembro de 2015, o governo divulgou o Protocolo de Microcefalia – Vigilância – Versão 1, mudando o diagnóstico desta, que passou a ser considerada quando o perímetro cefálico se apresentar inferior a 32 centímetros, incluindo ainda neste protocolo gestantes que apresentavam manchas vermelhas, aborto espontâneo, feto com microcefalia e natimorto (Ministério da Saúde, 2015b). Em 14 de Dezembro, o governo divulgou o Protocolo de Microcefalia – Cuidados de Saúde.

Em janeiro de 2016, foi divulgada a Diretriz Nacional para Estimulação Precoce de Bebês com Microcefalia e o governo brasileiro realizou ajustes

nas definições operacionais dos casos: (A) definições dos casos para vigilância da microcefalia: (i) recém-nascido com microcefalia, (ii) aborto espontâneo sugestivo de infecção congênita, (iii) natimorto com microcefalia e/ou malformações do SNC sugestivas de infecção congênita, (iv) fetos com microcefalia e/ou alterações do SNC também sugestivas de infecção congênita; e (B) definições de casos para vigilância da infecção pelo ZIKV durante a gestação: gestante com erupções cutâneas agudas sugestivas de infecção pelo ZIKV (Ministério da Saúde, 2016b)

Foi, assim, estabelecido que os casos suspeitos de microcefalia deveriam ser notificados imediatamente às autoridades de saúde e registrados no “Registro de Eventos de Saúde Pública” (RESP), o que não excluiu a necessidade da notificação também no Sistema de Informações sobre Nascidos Vivos (SINASC) (Ministério da Saúde, 2015a e 2015b).

Em 20 de fevereiro de 2016, o ministro da saúde brasileiro publicou um relatório epidemiológico com algumas relevantes mudanças, como a mudança do nome “Protocolo de Vigilância e Resposta para a Ocorrência de Microcefalia relacionada à infecção pelo ZIKV” para “Protocolo de Vigilância e Resposta para a Ocorrência de Microcefalia”, independente da causa. Este mesmo relatório descreve separadamente os 224 casos de microcefalia confirmados através de exames de imagem com alterações típicas em seis casos com uma amostra positiva para o ZIKV (Ministério da Saúde, 2016c – Boletim epidemiológico).

Até meados de Fevereiro 2016, mais de 4.300 casos de microcefalia nas mesmas áreas foram notificados, apesar de um aumento do número de

notificações e erros no diagnóstico provavelmente terem inflado este número, e a região nordeste apresentava 98% de seus municípios com casos confirmados da alteração neurológica (Ministério da Saúde, 2016d – Boletim epidemiológico).

2 Justificativa do Projeto

2 JUSTIFICATIVA DO PROJETO

A infecção pelo ZIKV pode causar danos na proliferação e na diferenciação neuronal, tendo como pior sequela conhecida até o momento a microcefalia. Entretanto, ainda não foi caracterizado o desenvolvimento neuropsicomotor nos primeiros anos de vida de recém-nascidos e lactentes com exposição intrauterina a este vírus. Deste modo, fazem-se necessárias a mensuração dos riscos para danos neurológicos e a caracterização do desenvolvimento neuropsicomotor desta população, trazendo contribuições para a compreensão do espectro de alterações comportamentais decorrentes dos danos neurais relacionados à infecção congênita pelo ZIKV.

Estes resultados fundamentam o delineamento de estratégias de saúde mais acuradas e eficazes junto ao nosso Sistema Único de Saúde. Dentre elas, destaca-se a intervenção oportuna, que visa minimizar as deficiências física e intelectual e os consequentes custos com tratamentos e procedimentos de reabilitação, proporcionando maior independência funcional e qualidade de vida a esta população e seus familiares.

3 Objetivos

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Caracterizar o repertório da movimentação espontânea e o desenvolvimento neuropsicomotor de recém-nascidos e lactentes expostos ao vírus Zika durante a gestação.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Estimar a frequência dos fatores predisponentes para danos neurológicos no primeiro e no terceiro mês de idade;
2. Estimar a frequência de atraso do desenvolvimento neuropsicomotor aos seis, nove, 12, 18 e 24 meses de idade;
3. Identificar a associação das variáveis clínicas e socioeconômicas com o repertório motor no terceiro mês de idade;
4. Identificar a associação das variáveis clínicas e socioeconômicas com o desenvolvimento neuropsicomotor aos seis, nove, 12, 18 e 24 meses de idade;
5. Identificar a validade preditiva dos *General Movements* para o desfecho de atraso do desenvolvimento neuropsicomotor por meio da escala BSID-III aos 24 meses.

4 Métodos

4 MÉTODOS

O projeto de pesquisa foi aprovado pelo Comitê de Ética da Faculdade de Medicina da USP (Protocolo CAPPESQ N° 135/16 – ANEXO 2).

4.1 TIPO DE ESTUDO

Trata-se de um estudo de coorte para identificação e caracterização da evolução de possíveis atrasos e alterações do desenvolvimento neuropsicomotor de filhos de mães expostas ao vírus Zika.

4.2 POPULAÇÃO E LOCAL DO ESTUDO

Recém-nascidos e lactentes de gestantes expostas ao vírus Zika provenientes principalmente da região metropolitana da cidade do Rio de Janeiro e da Baixada Fluminense, acompanhados desde o primeiro mês até os 24 meses de idade no Ambulatório de Referência Nacional para as Arboviroses da Fundação Oswaldo Cruz (Fiocruz), no período entre maio de 2016 e fevereiro de 2019. O estudo foi realizado no Laboratório de Doenças Febris Agudas do Instituto Nacional de Infectologia Evandro Chagas, Fiocruz, Rio de Janeiro - RJ sob a coordenação da Dra. Patrícia Brasil (ANEXO 3).

O cálculo amostral estimado foi de 126 crianças para cada fase, considerando o domínio da linguagem como variável de interesse e 57

considerando apenas os domínios cognitivo e motor da BSID-III, com um poder de 0,8. Foram avaliados 65 participantes aos seis meses de idade, 49 aos nove meses, 44 aos 12 meses, 38 aos 18 meses e 47 aos 24 meses, sendo assumidos os valores de poder de 0,63; 0,25; 0,27; 0,58 e 0,53; respectivamente. Considerando apenas os domínios cognitivo e motor foram assumidos valores mais altos para o poder do teste: 0,84 aos seis meses; 0,93 aos nove meses; 0,92 aos 12 meses; 0,9 aos 18 meses e 0,93 aos 24 meses.

Apesar de o número de participantes avaliados aos nove, 12, 18 e 24 meses ter sido menor do que 57 (considerando-se apenas os domínios cognitivo e motor), o poder do teste estimado nesse caso é maior que 0,8. Isso se deve ao fato de que para o cálculo do segundo poder de teste, como já era sabido o número de crianças avaliadas, foi utilizada uma estimativa pontual de p (probabilidade de anormalidade/atraso) dentro desse grupo já avaliado (em cada idade), enquanto que o anterior foi calculado assumindo $p=1/2$, enxergando-o de forma geral, que é a estimativa mais conservadora possível.

4.3 CRITÉRIOS DE INCLUSÃO

Foram incluídos no estudo RNs e lactentes expostos ao ZIKV na vida intrauterina, acompanhados até os 24 meses de idade, cujas mães ou responsáveis legais autorizaram a sua participação na pesquisa através da assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE – ANEXO 4).

O grupo de estudo foi composto por todos os casos notificados de RNs e lactentes expostos ao ZIKV durante a gestação (filhos de mães sintomáticas), independente de confirmação diagnóstica. Posteriormente, foi realizada uma estratificação de acordo com a confirmação pelo exame RT-PCR (*Reverse Transcription Polymerase Chain Reaction*) no sangue, urina ou ambos.

4.4 CRITÉRIOS DE EXCLUSÃO

Foram excluídos RNs e lactentes com malformações e anomalias congênitas que não fossem em razão da infecção pelo ZIKV, síndromes genéticas ou outras alterações que pudessem comprometer o desenvolvimento neuropsicomotor dessas crianças. Também foram excluídos RNs e lactentes cujo exame RT-PCR e as sorologias deram resultados positivos para o vírus da imunodeficiência adquirida (HIV), citomegalovírus (CMV) e/ou parvovírus, a fim de se descartar estes outros fatores clínicos.

4.5 PROCEDIMENTOS E MATERIAIS

Na primeira visita de cada criança ao nosso estudo, juntamente com a realização das avaliações específicas GMA ou BSID-III, foi preenchida uma ficha de avaliação para a caracterização dos participantes, com a história da gestação e do parto e principais dados clínicos da criança sobre o nascimento. Informações sobre a avaliação inicial e de acompanhamento em cada faixa

etária avaliada, como sobre o tônus muscular e aquisição e manutenção de posturas básicas, além de dados socioeconômicos da família também constavam na ficha (APÊNDICE 1).

4.5.1 Procedimento de avaliação pelo *General Movement Assessment* (GMA)

Os GMs foram filmados nos RNs e lactentes de preferência uma hora antes da mamada, em estado de vigília ativa (Estado 4 de acordo com Prechtl, 1974) por um período de 2 a 3 minutos. Os RNs e lactentes foram avaliados na posição supina, apenas com fralda ou roupas curtas (*bodies*) para que não limitassem a movimentação espontânea e permitissem a visualização completa dos movimentos dos MMSS e MMII. Para realização das filmagens foi utilizada uma câmera filmadora portátil (Sony DSC-W110) e um aparelho de celular (Iphone 5 SE - Apple), posicionados a uma distância que permitiu a observação de todo o corpo do RN e lactente (a 80 centímetros da maca) e utilizado tripé se necessário. Nenhuma interação do lactente com o examinador, com pessoas próximas a ele ou com brinquedos foi permitida, e em casos de agitação e choro as gravações foram interrompidas. As avaliações foram realizadas através do método qualitativo de Avaliação dos *General Movements* em dois momentos:

Na fase dos *writhing movements*: os GMs nesta fase foram avaliados nos RNs em consultas pré-agendadas entre a segunda e a quinta semana de idade.

Na fase dos *fidgety movements*: os GMs nesta fase foram avaliados nos lactentes em consultas pré-agendadas no terceiro mês (entre a 10ª e a 15ª semana) de idade. Em caso de realização de mais de uma avaliação nesta fase, foi selecionada a última filmagem dentro desta faixa etária ótima destacada para observação dos *fidgety movements*. Foi avaliado também o repertório motor concomitante por meio do escore motor detalhado, do inglês MOS – *Motor Optimality Score*, que revela um escore motor ótimo com um valor máximo de 28 (para a melhor performance possível) e um valor mínimo de cinco. Ainda, uma pontuação entre 25 e 28 é considerada ótima e pontuações abaixo de 24, de repertório motor reduzido (Einspieler et al., 2004). A confiabilidade inter-avaliador é alta com valor de coeficiente de correlação intra-classe (ICC) variando entre 0.80 e 0.94 (Fjørtoft et al., 2009).

A análise dos GMs através das filmagens foi realizada por fisioterapeutas com certificação internacional para avaliação pelo método qualitativo dos GMs, utilizando-se um computador (modelo MacBook Air) e um programa de vídeo (Quicktime Player) para análise das imagens. Foi realizada também a análise da confiabilidade (>95%) entre os avaliadores para confirmação do diagnóstico, entre as respostas dos avaliadores responsáveis pelo projeto e a avaliadora sênior, instrutora do método de avaliação dos *General Movements*, Profa. Dra. Christa Einspieler, da Universidade de Medicina de Graz, Áustria (Einspieler et al., 1997; Einspieler et al., 2004; Einspieler e Prechtl, 2005; Einspieler et al., 2008; Einspieler et al., 2014; Einspieler et al., 2016a; Einspieler et al., 2016b; Einspieler et al., 2016c).

Importante destacar que foram considerados como fatores predisponentes para danos neurológicos no primeiro e no terceiro mês de idade identificados pelo GMA os seguintes: movimentação espontânea anormal caracterizada como de repertório pobre, *cramped synchronized* ou caótica no primeiro mês; ausência dos *fidgety movements* ou anormais quando presentes, e/ou redução do repertório motor concomitante avaliado pela pontuação do MOS no terceiro mês.

4.5.2 Procedimento de avaliação pela Escala Bayley III de Desenvolvimento Infantil (BSID-III)

Os lactentes foram avaliados aos seis, nove, 12, 18 e 24 meses de idade, pela versão brasileira da Escala Bayley de Desenvolvimento Infantil - Terceira Edição (BSID-III) (Madaschi et al., 2016). A escolha das idades acima é justificada pelo período de aquisição dos principais marcos motores: aos seis meses todas as crianças devem sustentar a cabeça e iniciar a sedestação, aos nove meses a maioria das crianças se arrasta e/ou rasteja e engatinha, aos 12 meses alcançam o ortostatismo sem apoio e andam, aos 18 meses a maioria é capaz de chutar a bola para frente de maneira independente, e aos 24 meses a maioria é capaz de correr, parar de repente, pular com os dois pés e subir escadas.

A BSID-III é dividida em domínios de avaliação que compreendem:

1. Cognição (91 itens), que determina como a criança pensa, reage e aprende sobre o mundo ao seu redor;

2. Linguagem (97 itens), dividida em comunicação expressiva, que determina como a criança se comunica usando sons, gestos e palavras (48 itens) e comunicação receptiva, que determina como a criança reorganiza os sons e como a criança entende, fala e direciona palavras (49 itens);
3. Motor (138 itens), dividido em motor grosso, que determina como a criança se movimenta em relação à gravidade (72 itens) e motor fino, que determina como a criança usa suas mãos e dedos para fazer algo (66 itens);
4. Social-emocional (35 itens) e
5. Componente adaptativo (241 itens).

Foram aplicados os testes correspondentes às escalas Cognitiva, de Linguagem e Motora. As avaliações ocorreram em sala tranquila no Campus da Fiocruz Manguinhos, no Rio de Janeiro, na presença de pelo menos um dos pais ou responsável. O avaliador tinha conhecimento do fato de que as crianças fizessem parte da coorte, mas não sabiam se suas mães apresentaram resultado positivo ou negativo no RT-PCR para a infecção pelo ZIKV.

São obtidos três tipos de pontuações por meio da BSID-III: i) escore bruto, obtido pela soma de todos os itens que a criança pontuou em todos os testes e subtestes; ii) escore escalar, também disponível para todos os subtestes e é derivado do escore total bruto, varia de um a 19, com média de 10 e desvio padrão de 3, e é obtido de acordo com a faixa etária da criança em teste; iii) escore composto: é derivado da soma dos escores escalares dos

subtestes e é transformado para uma escala de média 100 e desvio padrão 15, variando de 40 a 160. É obtido para todos os domínios avaliados: cognitivo, linguagem, motor, sócio-emocional e componente adaptativo. A partir do escore composto, os bebês são classificados de acordo com as categorias de desempenho em: extremamente baixo (≤ 69), limítrofe (70-79), médio baixo (80-89), médio (90-109), médio alto (110-119), superior (120-129) e muito superior (≥ 130) (Bayley, 2006).

Foi considerado atraso do desenvolvimento moderado em um domínio respectivo aquelas crianças que apresentaram escores composto < 85 ($< 1DP$); e atraso do desenvolvimento grave aquelas crianças com escores composto < 70 ($< 2DP$) (Johnson et al., 2014; Ballot et al., 2017).

4.5.3 Variáveis clínicas e socioeconômicas

Foi estudada a associação das seguintes variáveis clínicas e socioeconômicas com o repertório motor no terceiro mês de idade e com o desenvolvimento neuropsicomotor aos seis, nove, 12, 18 e 24 meses de idade:

gênero, trimestre de infecção materna, idade materna (anos), idade gestacional (dias), peso ao nascimento (g), Apgar no quinto minuto, alterações do tônus muscular (hiper ou hipotonia), escolaridade materna e paterna (primeiro grau completo, segundo grau completo, terceiro grau completo) e renda familiar (número de salários mínimos).

4.5.4 Critérios para encaminhamento e tratamento de fisioterapia

Não foi objetivo deste trabalho, mas é importante destacar que todos aqueles lactentes, desde a primeira consulta, identificados com fatores de risco para alterações neurológicas e/ou atraso do desenvolvimento neuropsicomotor receberam orientações, foram acompanhados e/ou encaminhados para serviços locais (principalmente para atendimento fisioterapêutico), seguindo alguns critérios avaliados:

- presença de algum sinal de alteração no exame neurológico (alteração de tônus, irritabilidade, padrões posturais anormais, tremores, ausência de seguimento visual ou sonoro, persistência ou exacerbação de reflexos primitivos);
- alteração da movimentação espontânea (*general movements* anormais na fase dos *writhing movements* e/ou *fidgety movements*);
- atraso na aquisição do controle postural e/ou movimentação voluntária (controle de cabeça, controle de tronco, realização das trocas posturais como rolar, alcance e preensão).

4.6 ANÁLISE DOS DADOS

A análise estatística foi realizada utilizando o software STATA para MacBook, versão 14.2, com $p < 0,05$ indicando efeito estatisticamente significativo. Foi aplicado modelo de regressão logística para comparar os escores compostos da BSID-III entre lactentes de mães positivas para ZIKV e negativas para ZIKV em todos os períodos, ou seja, aos seis, nove, 12, 18 e

24 meses de idade. Os valores de média, mediana, desvio padrão, intervalo interquartil e percentagem foram calculados para descrição da amostra e resultados descritivos.

Foram construídos modelos de regressão logística para analisar os efeitos das variáveis clínicas e socioeconômicas nas variáveis categóricas dos GMs (normal ou anormal – fase dos *fidgety movements*) e nos escores compostos da BSID-III. Os escores escalares foram utilizados para diferenciar os resultados entre linguagem receptiva e expressiva, desenvolvimento motor fino e grosso. As medianas também foram utilizadas como pontos de corte para os escores compostos e escalares, uma vez que pouca ou nenhuma observação foi obtida utilizando-se o ponto de corte de 85 e pelo fato de que não há dados normativos para a nossa população. Para a análise considerando o escore composto ou escalar como variável dependente contínua foi realizada a regressão linear (bivariada e multivariada).

O modelo de regressão múltipla ainda foi utilizado para verificar se os resultados dos GMs na fase dos *fidgety movements* (variável dicotômica – normal e anormal) predizem a variável dependente - BSID-III, com o valor de $p < 0,05$ indicando efeito estatisticamente significativo. Por fim, foram calculados ainda a sensibilidade, especificidade, valores preditivos positivos e negativos para a predição dos GMs para o desfecho da BSID-III, considerando intervalo de confiança de 95%.

5 Resultados

5 RESULTADOS

5.1 CARACTERIZAÇÃO DO REPERTÓRIO DA MOVIMENTAÇÃO ESPONTÂNEA E IDENTIFICAÇÃO DOS FATORES PREDISPONENTES PARA DANOS NEUROLÓGICOS

Foram avaliados 82 lactentes (N=42; 51,2% sexo feminino; N=11; 13,4% prematuros) de gestantes expostas ao ZIKV. Sessenta e seis dessas gestantes (80,5%) tiveram o resultado positivo para a infecção pelo vírus por meio do RT-PCR no sangue, urina ou ambos no momento da apresentação dos sintomas (Brasil et al., 2016). Setenta e nove apresentaram-se normocefálicos enquanto dois apresentaram microcefalia ao nascimento e um desenvolveu microcefalia pós-natal (Tabela 1).

Os três lactentes microcefálicos (66,7% sexo feminino; idade gestacional 39sem1d $\pm$ 1sem; peso ao nascimento 2875 $\pm$ 329g) e os 79 não-microcefálicos (50,6% sexo feminino; idade gestacional 38sem $\pm$ 1sem5d; peso ao nascimento 3146 $\pm$ 576g) foram filmados com a finalidade de avaliação dos *general movements* na fase dos *writhing* e *fidgety movements*. Os *writhing movements* de todos os microcefálicos filmados com 4sem4d $\pm$ 3d foram classificados como anormais (de repertório pobre, sendo um deles com características do padrão *cramped synchronized*), e os *fidgety movements* filmados na idade 12sem1d $\pm$ 1sem3d também foram classificados como anormais (ausência dos *fidgety movements*) (Figura 1; Tabela 2).

Tabela 1 - Caracterização dos lactentes avaliados pelo *General Movement Assessment*

Sujeitos	Não-Microcefálicos (N=79)	Microcefálicos (N=3)
Sexo	50,6% feminino	66,7% feminino
1º trimestre*	19 (24%)	3 (100%)
2º trimestre*	48 (60,8%)	-
3º trimestre*	12 (15,2%)	-
Idade Gestacional $\pm$ DP	38sem $\pm$ 1sem 5d	39sem 1d $\pm$ 1sem
Peso ao nascimento (g)	3146 $\pm$ 576	2875 $\pm$ 329
Etnia	57% caucasianos	33% caucasianos

Legenda: d – dias; DP - desvio padrão; N - número de sujeitos; g – gramas; sem – semanas; *trimestre de infecção materna.

A grande maioria dos lactentes não-microcefálicos (90%) apresentou movimentação anormal na fase dos *writhing movements*. Eles foram filmados e avaliados com 4sem1d $\pm$ 1sem de idade e classificados como de repertório pobre (N=24, 80%) ou repertório pobre com algumas características do padrão *cramped synchronized*, como rigidez e postura anormal (N=3, 10%). Em contrapartida, os GMs avaliados na fase dos *fidgety movements* (13sem2d $\pm$ 2sem1d) foram classificados como anormais em apenas 19,2% dos lactentes (11 *fidgety* ausente e 3 *fidgety* anormal) (Figura 1; Tabela 2).

Figura 1 - Fluxograma do processo de avaliação por meio do *General Movement Assessment*

Legenda: CS – *cramped synchronized*; FM – *fidgety movements*; F- – *fidgety ausente*; FA – *fidgety anormal*; N – *writhing/fidgety normal*; RP – *repertório pobre*; WM - *writhing movements*.

Tabela 2 - Avaliação da movimentação espontânea por meio do *General Movement Assessment*

GMA	Não-Microcefálicos	Microcefálicos
<i>Writhing Movements</i>	(N=30)	(N=3)
Idade WM $\pm$ DP	4sem 1d $\pm$ 1sem	4sem 3d $\pm$ 3d
WM normal	3 (10%)	-
WM anormal	27 (90%)	3 (100%)
<i>Fidgety Movements</i>	(N=73)	(N=3)
Idade FM $\pm$ DP	13sem 2d $\pm$ 2sem 1d	12sem 1d $\pm$ 1sem 3d
FM normal	59 (80,8%)	-
FM ausente/anormal	14 (19,2%)	3 (100%)
MOS $\pm$ DP	21 $\pm$ 5,5	7 $\pm$ 1,7

Legenda: d – dias; DP – desvio padrão; FM - *fidgety movements*; GMA - *General Movement Assessment*; MOS - *Motor Optimality Score* – escore motor detalhado; N - número de sujeitos; sem – semanas; WM - *writhing movements*.

Apesar da presença normal dos *fidgety movements* na maioria dos lactentes avaliados nesta fase (N=59, 77,6% de 76 lactentes), foi observado que mesmo os lactentes não-microcefálicos apresentaram redução do repertório motor concomitante (média do escore detalhado - MOS = 21); principalmente movimentos esperados para idade como cabeça e mãos na linha média, contato pé com pé, mãos nos joelhos, movimentos de chutes, movimentos de língua e boca; e apresentaram padrões posturais anormais como assimetria postural, mãos fechadas e diminuição dos movimentos variáveis dos dedos, abdução e rotação externa de quadris e posturas fixas de abdução de ombros e flexão de cotovelos. Ainda, o “caráter geral do movimento” foi considerado como monótono e/ou brusco (do inglês *jerky*) (Einspieler et al., 2019 – ANEXO 5). A exposição ao ZIKV, principalmente

durante o primeiro trimestre resultou numa redução do repertório motor em 71% (N=54) desses lactentes aos três meses de idade ($MOS \leq 24$ pontos), incluindo aqueles com microcefalia que pontuaram na última faixa do MOS (média=7) (Tabela 2).

Cinquenta e um dos 79 lactentes não-microcefálicos (64,6%) e todos os lactentes microcefálicos identificados com GMs alterados, repertório motor concomitante reduzido e também presença de algum sinal de alteração no exame neurológico e/ou algum atraso na aquisição do controle postural receberam orientações e foram acompanhados pela nossa equipe do projeto em todas as visitas realizadas na Fiocruz. Aqueles com alterações mais importantes e que necessitassem de atendimento de fisioterapia semanalmente foram encaminhados para serviços locais, o mais próximo possível de suas residências.

5.2 DESENVOLVIMENTO NEUROPSICOMOTOR POR MEIO DA ESCALA BAYLEY III DE DESENVOLVIMENTO INFANTIL

Ao todo, foram avaliadas 93 crianças não-microcefálicas que tiveram pelo menos uma avaliação pela BSID-III em um dos cinco momentos. Sessenta e cinco crianças foram avaliadas aos seis meses, 49 aos nove meses, 44 aos 12 meses, 38 aos 18 meses e 47 por volta dos 24 meses de idade por duas fisioterapeutas treinadas (Figura 2). Os principais dados clínicos e socioeconômicos estão resumidos na Tabela 3. Não houve diferenças entre os grupos (crianças cujas mães tiveram resultados positivo e negativo para ZIKV) em todas as idades (seis, nove, 12, 18 e 24 meses) e em todos os domínios (cognitivo, linguagem e motor), por isso os dados foram analisados em conjunto em todos os períodos de avaliação (Tabela 4).

Tabela 3 – Dados clínicos e socioeconômicos das crianças expostas ao ZIKV durante a gestação avaliadas por meio da Escala Bayley III de Desenvolvimento Infantil aos seis, nove, 12, 18 e 24 meses de idade

Variável	Distribuição
Total de participantes (N)	93
Gênero (masculino)	52 (55,9%)
Média idade gestacional $\pm$ DP (semanas/dias)	38/2 $\pm$ 1/5
Média peso ao nascimento $\pm$ DP (g)	3176,5 $\pm$ 528,2
Raça (caucasiana)	49 (52,6%)
Mediana Apgar (pontuação)	
1º minuto	9
5º minuto	9
Trimestre de infecção materna	
1º trimestre	20 (21,5%)
2º trimestre	47 (50,5%)
3º trimestre	22 (23,6%)
Escolaridade (grau)	
Materna	56,3% Segundo grau completo
Paterna	57,8% Segundo grau completo
Salários mínimos mensais (>5 salários)	37 (39,8%)

Legenda: DP - desvio padrão.

A maior parte da nossa coorte apresentou resultado normal no desenvolvimento neuropsicomotor, com valores dos escores compostos ≥ 85 nas cinco fases. Aos seis meses, 15 crianças (23,1%) apresentaram atraso em pelo menos um dos três domínios da BSID-III; aos nove e 12 meses, 17 crianças (34,7% e 38,6% respectivamente); aos 18 meses, 7 crianças (18,4%); e aos 24 meses, 9 crianças (19,1%) apresentaram atraso em um ou mais domínios (Figura 2).

Figura 2 - Fluxograma do processo de avaliação por meio da Escala Bayley III de Desenvolvimento Infantil

Considerando apenas o domínio cognitivo, seis (9%) crianças apresentaram atraso moderado (<85) aos seis meses, apenas uma (2%) criança aos nove e 12 meses, três (8%) aos 18 meses e dois (4%) em torno dos 24 meses. Em relação ao domínio da linguagem, oito (12%) crianças tiveram atraso moderado aos seis meses, 16 (33% e 40%, respectivamente) aos nove e 12 meses, sete (18%) aos 18 meses e oito (17%) em torno dos 24 meses. Finalmente, considerando o domínio motor, oito crianças (12%) apresentaram atraso moderado aos seis meses, dois (4%) aos nove meses, três (7%) aos 12 meses, uma criança (3%) aos 18 meses e nenhum (0%) em torno dos 24 meses (Tabela 4). A Figura 3 ilustra as distribuições dos escores compostos dos domínios cognitivo, de linguagem e motor em todos os momentos avaliados.

Figura 3 - Distribuição dos escores compostos dos domínios cognitivo, de linguagem e motor aos seis, nove, 12, 18 e 24 meses de idade

Tabela 4 - Distribuição dos escores compostos da Escala Bayley III de Desenvolvimento Infantil aos seis, nove, 12, 18 e 24 meses de idade e as respectivas comparações entre as crianças cujos resultados maternos foram ZIKV+ e ZIKV-

Idades avaliadas Total sujeitos	Cognitivo N (%)		ZIKV+ vs. ZIKV- p-valor	Linguagem N (%)		ZIKV+ vs. ZIKV- p-valor	Motor N (%)		ZIKV+ vs. ZIKV- p-valor
	<85	≥85		<85	≥85		<85	≥85	
6 meses N=65	6 (9%)	59 (91%)	0,887	8 (12%)	57 (88%)	0,661	8 (12%)	57 (88%)	0,661
9 meses N=49 ^a	1 (2%)	48 (98%)	0,997	16 (33%)	32 (67%)	0,829	2 (4%)	46 (96%)	0,616
12 meses N=44	1 (2%)	43 (98%)	0,997	16 (40%)	26 (60%)	0,744	3 (7%)	41 (93%)	0,788
18 meses N=38	3 (8%)	35 (92%)	0,920	7 (18%)	31 (82%)	0,889	1 (3%)	37 (97%)	0,997
24 meses N=47 ^b	2 (4%)	45 (96%)	0,996	8 (17%)	38 (83%)	0,677	0 (0%)	47 (100%)	^c

Legenda: ^a Uma criança não conseguiu realizar avaliação de linguagem e motora; ^b Um lactente não conseguiu realizar avaliação de linguagem; ^c Não foi possível analisar, já que haviam poucos ZIKV negativos nesse grupo e todos pontuaram ≥85.

Maiores escores foram observados nos domínios cognitivo e motor (maior número de crianças com escore ≥ 85). Em contrapartida, um número maior de crianças apresentou atraso na linguagem (escores < 85) ao longo do tempo, principalmente aos nove e 12 meses de idade (Figura 4). Sete crianças tiveram atraso de linguagem grave (escore composto < 70): uma criança aos 6 meses, uma criança aos nove meses, três crianças aos 12 meses, uma criança aos 18 meses e duas crianças aos 24 meses. Uma criança apresentou atraso de linguagem grave aos 12 e 24 meses de idade. As porcentagens de acordo com a distribuição das crianças nas sete categorias da BSID-III também estão apresentadas na Tabela 5.

Figura 4 – Frequência de atraso observado por meio da Escala Bayley III de Desenvolvimento Infantil nos domínios cognitivo, de linguagem e motor aos seis, nove, 12, 18 e 24 meses de idade

Tabela 5 – Frequência de classificação dos escores compostos dos três domínios da Escala Bayley III de Desenvolvimento Infantil aos seis, nove, 12, 18 e 24 meses de idade

BSID-III	Cognitivo (% sujeitos)					Linguagem (% sujeitos)					Motor (% sujeitos)				
	6 meses	9 meses	12 meses	18 meses	24 meses	6 meses	9 meses	12 meses	18 meses	24 meses	6 meses	9 meses	12 meses	18 meses	24 meses
Muito superior	0	2,0	2,2	10,3	8,5	0	0	0	0	0	0	2,1	2,2	7,7	6,4
Superior	0	2,0	15,6	2,6	2,1	0	2,0	0	2,6	0	3,1	2,1	2,2	5,1	6,4
Médio alto	15,4	14,3	28,9	30,8	19,2	1,5	0	2,3	10,2	17,4	30,8	16,7	15,6	30,8	36,1
Médio	69,2	73,5	48,9	43,6	55,3	52,3	41,7	44,2	56,4	56,5	47,7	56,3	53,4	51,3	44,7
Médio baixo	13,9	8,2	4,4	5,0	10,6	43,1	31,3	25,6	15,4	15,2	7,7	20,8	4,4	2,6	6,4
Limítrofe	1,5	0	0	7,7	4,3	3,1	20,8	23,2	10,3	6,5	9,2	2,1	22,2	2,6	0
Extremamente baixo	0	0	0	0	0	0	4,2	4,7	5,1	4,4	1,5	0	0	0	0
Total	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100

Legenda: Extremamente baixo (≤ 69), limítrofe (70-79), médio baixo (80-89), médio (90-109), médio alto (110-119), superior (120-129) e muito superior (≥ 130).

A Tabela 6 ilustra os resultados da BSID-III dos três lactentes microcefálicos avaliados. Infelizmente, dois deles não compareceram às avaliações de 12 e 18 meses e um não compareceu à avaliação de 24 meses, mas é possível observar o desfecho motor com atraso grave (escores compostos <70) em todos os domínios e em todos os períodos dos três casos.

Tabela 6 - Classificação dos escores compostos dos três domínios da Escala Bayley III de Desenvolvimento Infantil dos três lactentes microcefálicos

Sujeito BSID-III/ Idade	47			67			81		
	Cog	Ling	Mot	Cog	Ling	Mot	Cog	Ling	Mot
6 meses	Limít.	M. baixo	Ext. baixo	Ext. baixo	Limít.	Ext. baixo	Ext. baixo	Ext. baixo	Ext. baixo
9 meses	Ext. baixo	Limít.	----	Ext. baixo	Ext. baixo	Ext. baixo	Ext. baixo	Ext. baixo	Ext. baixo
12 meses	Não compareceu			Não compareceu			Ext. baixo	Ext. baixo	Ext. baixo
18 meses	Não compareceu			Não compareceu			Ext. baixo	Ext. baixo	Ext. baixo
24 meses	Ext. baixo	Ext. baixo	Ext. baixo	Não compareceu			Ext. baixo	Ext. baixo	Ext. baixo

Legenda: BSID-III – Escala Bayley III de Desenvolvimento Infantil; Cog - cognitivo; Ext. Baixo - extremamente baixo (escore≤69); Ling – linguagem; Limít.- limítrofe (escore entre 70-79); M. baixo - médio baixo (escore entre 80-89); Mot - motor.

Aquelas crianças que já estavam recebendo orientações por já terem sido identificadas com algum fator predisponente para alteração neurológica desde a avaliação pelo GMA continuaram sendo acompanhadas por nossa equipe do projeto em todas as visitas realizadas na Fiocruz e aquelas avaliadas com escore composto <85 para o domínio motor também foram incluídas nos critérios para orientações e encaminhamentos. No total, 50 crianças das 93 crianças não-microcefálicas (53,8%) receberam algum tipo de

orientação e/ou encaminhamento, e as três microcefálicas continuaram sendo acompanhadas.

Ainda, desta nossa amostra que foi acompanhada pela BSID-III, dos 93 não-microcefálicos e três microcefálicos, 59 realizaram algum exame de neuroimagem (ressonância magnética, ultrassonografia transfontanelar e/ou tomografia computadorizada). Em 21 das 59 (35,6%) o resultado apresentava algum tipo de alteração. Foram observados oito ultrassonografias transfontanelar, quatro tomografias computadorizadas e 14 ressonâncias magnéticas com resultados anormais (algumas crianças realizaram mais de um exame) e a alteração mais frequente encontrada foi a presença de hipersinal em algumas estruturas nos exames de ressonância magnética. Todos os microcefálicos apresentaram alterações importantes nos três exames realizados.

5.3 GENERAL MOVEMENT ASSESSMENT E VARIÁVEIS CLÍNICAS E SOCIOECONÔMICAS

Não foi encontrada nenhuma associação entre os resultados obtidos por meio do GMA, especificamente os resultados da fase dos *fidgety movements* no 3º mês (variável dicotômica normal ou anormal), com nenhuma variável clínica e socioeconômica (gênero, trimestre de infecção materna, idade gestacional, peso ao nascimento, Apgar no quinto minuto, alterações do tônus muscular, idade materna, escolaridade materna e paterna, e renda familiar).

5.4 ESCALA BAYLEY III DE DESENVOLVIMENTO INFANTIL E VARIÁVEIS CLÍNICAS E SOCIOECONÔMICAS

Os resultados obtidos da análise pela regressão logística são apresentados com valores de *odds ratio* (OR) e aqueles obtidos pela análise da regressão linear são apresentados com valores do coeficiente linear (Coef).

5.4.1 Corte de 85 pontos

Utilizando-se o corte de 85 a partir do escore composto para considerar os resultados obtidos como normais ou de atraso nesta população, as únicas variáveis que influenciaram diretamente nos escores obtidos pela BSID-III foram: a idade gestacional em relação ao domínio cognitivo aos seis meses (OR:0,92; p:0,049; 95%IC:0,85-0,99) e o Apgar no 5º minuto em relação à linguagem aos seis (OR:0,22; p:0,042; 95%IC:0,05-0,95) e aos nove (OR:0,25; p:0,036; 95%IC:0,07-0,91) meses. Os resultados mostraram que quanto maior a idade gestacional e a pontuação do Apgar no 5º minuto, maiores as pontuações obtidas pela BSID-III nestes domínios. Poucas ou nenhuma observação havia com escore <85 em algumas fases nos três domínios, o que impediu a categorização da variável dependente (escore composto da BSID-III) e, conseqüentemente, a análise pelo modelo de regressão logística em alguns casos.

5.4.2 Corte utilizando as medianas dos escores

Domínio Cognitivo

Considerando o domínio cognitivo da BSID-III, o desenvolvimento das crianças aos seis, nove e 24 meses de idade foi influenciado positivamente pela renda familiar acima de quatro salários mínimos (seis meses – OR:0,61; p:0,016; 95%IC:0,41-0,91; nove meses – OR:0,56; p:0,019; 95%IC:0,35-0,91 e 24 meses: Coef:3,80; p:0,019; 95%IC:0,66-6,93). A escolaridade materna (Terceiro grau completo) representou fator de proteção aos nove meses (OR:0,23; p:0,024; 95%IC:0,07-0,82) e aos 18 meses (OR:0,16; p:0,041; 95%IC:0,03-0,93).

A pontuação do Apgar no 5º minuto também representou fator protetivo aos nove meses (OR:0,21; p:0,017; 95%IC:0,06-0,76) e aos 12 meses (OR:0,25; p:0,039; 95%IC:0,07-0,93). Aos 24 meses, o peso ao nascimento também exerceu influência positiva (Coef:0,008; p:0,039; 95%IC:0,0004-0,0169), mas a renda familiar (Coef:3,8; p:0,019; 95%IC:0,67-6,93) se sobrepôs àquela variável (renda – Coef:0,007; p:0,032; 95%IC:-0,001- 0,015 e peso ao nascimento – Coef:0,007; p:0,074; 95%IC:-0,0007-0,015).

Aos seis e 18 meses, a presença de hipertonia representou um fator de risco para o desenvolvimento cognitivo (seis meses – OR:3,15; p:0,036; 95%IC:1,08-9,22; e 18 meses – OR:4,44; p:0,034; 95%IC:1,12-17,67).

Domínio de Linguagem

Considerando o domínio da linguagem, foi observado maior atraso no sexo masculino aos 18 meses (OR:5,16; p:0,025; 95%IC:1,23-21,55) e aos 24 meses (OR:3,73; p:0,037; 95%IC:1,08-12,91), sendo mais relevante para a linguagem expressiva (18 meses – OR:6,22; p:0,018; 95%IC:1,36-28,37 e 24 meses – OR:5,66; p:0,009; 95%IC:1,55-20,69).

A escolaridade materna (Terceiro grau completo) representou fator de proteção aos nove meses (OR:0,19; p:0,013; 95%IC:0,05-0,71).

Considerando apenas a linguagem receptiva, o Apgar no 5º minuto representou proteção aos 12 meses (OR:0,25; p:0,039; 95%IC:0,07-0,93); e o tônus muscular (hipertonia) representou risco aos 24 meses (OR:6,39; p:0,007; 95%IC:1,65-24,77).

Domínio Motor

Finalmente, considerando o domínio motor, analisando o escore composto, o peso ao nascimento (Coef:0,006; p:0,044; 95%IC:-0,001-0,012), o terceiro trimestre de infecção (Coef:6,27; p:0,024; 95%IC:0,84-11,69) e a idade gestacional (OR:0,91; p:0,015; 95%IC:0,85-0,98) foram observados como fatores de proteção aos 24 meses, sendo o último relevante principalmente para motricidade fina (Coef:0,05; p:0,027; 95%IC:0,01-0,11).

Analisando os escores escalares motores fino e grosso separadamente, observou-se que, em relação à motricidade fina, a renda familiar (acima de cinco salários mínimos – OR:0,58; p:0,023; 95%IC:0,36-0,93) e a escolaridade materna (OR:0,2; p:0,013, 95%IC:0,06-0,72) representaram

fatores de proteção aos nove meses; e a idade materna aos nove meses (Coef:1,1; p:0,031; 95%IC:0,01-0,2) e 18 meses (OR:0,83; p:0,008; 95%IC:0,73-0,95). Novamente a hipertonia apareceu representando fator de risco aos seis meses (OR:3,5; p:0,023; 95%IC:1,19-10,31).

Especificamente em relação à função motora grossa, não foi observada influência de nenhuma variável socioeconômica no escore da BSID-III dessas crianças.

5.5 VALIDADE PREDITIVA DO *GENERAL MOVEMENT ASSESSMENT* PARA O DESFECHO DO DESENVOLVIMENTO NEUROPSICOMOTOR POR MEIO DA BSID-III

Os resultados expostos na Tabela 7 se referem aos valores preditivos dos *general movements* (GMA) na fase dos *fidgety movements* para alterações no desfecho do desenvolvimento neuropsicomotor por meio da BSID-III aos 24 meses de idade. Trinta e seis crianças avaliadas tanto na fase dos *fidgety movements*, por meio do GMA, quanto aos 24 meses, por meio da BSID-III, participaram desta análise.

Tabela 7 – Valores preditivos do *General Movement Assessment* (GMA) para alterações no desfecho do desenvolvimento neuropsicomotor aos 24 meses de idade por meio da Escala Bayley III de Desenvolvimento Infantil

BSID-III 24 meses	Cognitivo	Linguagem	Motor
Sensibilidade	100%	87,5%	-
Especificidade	8,8%	7,9%	8,5%
Valor Preditivo Positivo	4,6%	16,6%	16,6%
Valor Preditivo Negativo	100%	75%	75%

Os resultados expostos na Tabela 8 demonstram que os GMs não conseguiram prever o desfecho desses lactentes por meio da BSID-III.

Tabela 8 - Predição do *General Movement Assessment* (GMA) para alterações no desfecho do desenvolvimento neuropsicomotor por meio da Escala Bayley III de Desenvolvimento Infantil

BSID-III 24 meses	Cognição	Linguagem Receptiva	Linguagem Expressiva	Motor Fino	Motor Grosso
OR (IC) p-valor	0,9 (0,2-4,7) 0,927	0,5 (0,1-2,4) 0,375	0,7 (0,1-3,8) 0,728	0,4 (0,1-2,6) 0,368	0,9 (0,2-4,7) 0,927

Legenda: BSID-III – Escala Bayley III de Desenvolvimento Infantil; IC – intervalo de confiança; OR – odds ratio.

Porém, analisando os dados descritivamente, foi possível observar que a grande maioria dos *fidgety* normais observados aos três meses de idade evoluiu para um desfecho do desenvolvimento normal aos 24 meses na BSID-III, já que a maioria dos casos apresentou escores compostos >85. Além disso, os três microcefálicos que não apresentaram *fidgety movements* obrigatórios nesta fase também evoluíram com atraso no desenvolvimento importante nos três domínios avaliados por meio da BSID-III aos seis, nove, 12, 18 e 24 meses de idade.

6 Discussão

6 DISCUSSÃO

Neste trabalho, foram observados sinais precoces sugestivos de alteração no desenvolvimento neuropsicomotor em lactentes expostos ao ZIKV intraútero. Os movimentos espontâneos mostraram-se sutilmente anormais na maioria dos lactentes não-microcefálicos e anormais em todos os microcefálicos, já de forma precoce logo após o nascimento e por volta dos três meses de idade.

O nosso principal achado foi o padrão predominante dos GMs do tipo repertório pobre no primeiro mês, o que também é comum de ser observado em nascidos com prematuridade extrema (Zahed-Cheikh et al., 2011), baixo peso ao nascimento e/ou baixos valores do índice de Apgar (Beccaria et al., 2012). Em lactentes pré-termo extremo este padrão anormal dos GMs é associado ao atraso do desenvolvimento na coordenação motora fina aos dois anos de idade (Beccaria et al., 2012) e a déficits cognitivos no período pré-escolar e escolar (Einspieler et al., 2016c). O repertório pobre também é o mais frequente padrão de movimentação anormal presente em crianças tardiamente diagnosticadas com o Transtorno do Espectro Autista (TEA) (Phagava et al., 2008) e erros inatos do metabolismo (Bruggink et al., 2009a). Se o repertório pobre é seguido de ausência dos *fidgety movements* e movimentos circulares dos MMSS na fase seguinte, também pode ser preditor de PC do tipo discinética (Einspieler et al., 2002).

Uma menor, mas representativa proporção desses lactentes expostos ao ZIKV (15%; considerando os 73 lactentes não-microcefálicos avaliados nessa fase) mostrou ausência dos *fidgety movements* por volta dos três meses de idade. A prevalência é bem menor do que é reportado em crianças com PC (Bruggink et al., 2009b; Hamer et al., 2011; Yang et al., 2012; Zang et al., 2016) – a ausência deste padrão de GMs é altamente preditiva de PC com valores de sensibilidade de 97-98% e especificidade de 89-91% (Bosanquet et al., 2013; Kwong et al., 2018). Porém, analisando apenas os microcefálicos que tiveram atraso no desenvolvimento importante nos três domínios avaliados pela BSID-III e em todos os períodos avaliados (seis, nove, 12, 18 e 24 meses) e que foram posteriormente diagnosticados com PC, a prevalência da ausência dos *fidgety movements* foi alta (100%), já que todos eles não apresentaram este padrão de movimento. Os *fidgety movements* anormais (aqueles presentes, mas considerados exagerados e do tipo “*jerky*”) estão relacionados com problemas de coordenação e motricidade fina na fase escolar (Einspieler et al., 2007; Groen et al., 2005).

Os *fidgety movements* normais estavam presentes em um grande número de lactentes, mostrando a normalização dos GMs entre a 9^a e 16^a semana de idade corrigida. Ao contrário, o repertório motor concomitante e posturas adequadas para a idade estavam diminuídos em cerca de 71% dos casos (Einspieler et al., 2019). Isto foi mais evidente quando a infecção ocorreu durante o primeiro trimestre de gestação. No nosso pior cenário, as menores pontuações do MOS foram também dos lactentes microcefálicos, infectados no primeiro trimestre.

Uma redução do repertório motor concomitante aos 3-5 meses de idade (especialmente ligada a movimentos monótonos e bruscos, bem como anormalidades posturais) também pode indicar alto risco para uma disfunção cognitiva subsequente (Einspieler et al. 2016c). Fjørtoft e colaboradores (2013) já relataram que o caráter geral do movimento (suave e fluente vs. monótono, espasmódico e/ou rígido) é capaz de predizer o quociente intelectual (QI) das crianças aos 10 anos com uma sensibilidade de 90% e uma especificidade de 58% (Fjørtoft et al., 2013). Portanto, esse alto percentual de lactentes com repertório motor reduzido em nossa população, apesar da presença dos *fidgety movements*, também chama a atenção para a necessidade do monitoramento de seu desenvolvimento cognitivo e de funções ligadas à cognição, como a linguagem.

Dentre os vários achados de alteração nos exames de neuroimagem e de desenvolvimento nos lactentes não-microcefálicos infectados intrauterino pelo ZIKV, os principais são as calcificações cerebrais na junção córtico-subcortical, a polimicrogiria e a paquigiria (Aragão et al., 2017; De Freitas Ribeiro et al., 2018; Saad et al., 2018), atraso na mielinização (Aragão et al., 2017; De Freitas Ribeiro et al., 2018), hipertonia, sinais de ataxia, irritabilidade (Cardoso et al., 2018; Saad et al., 2018), e alterações nas funções cognitivas e déficits sensoriais (Saad et al., 2018); o que pode explicar a movimentação espontânea alterada em alguns dos casos observados em nosso estudo. Os microcefálicos ainda podem apresentar danos neurológicos mais graves, como a epilepsia, ventriculomegalia, anormalidades no corpo caloso, polimicrogiria, alargamento do espaço extra-axial e cisterna magna, hipoplasia

do cerebelo e do tronco encefálico, hipertonia ou hipotonia, alterações visuais e auditivas, posturas anormais (Aragão et al., 2017; Kapogiannis et al., 2017; Satterfield-Nash et al., 2017; Alves et al., 2018; Saad et al., 2018; De Freitas Ribeiro et al., 2018; Pires et al., 2018, Lebov et al., 2018; Pessoa et al., 2018), dentre outros.

Apesar de não ter sido o principal objetivo do nosso estudo, observamos essas alterações neurológicas em grande parte da nossa coorte dos não-microcefálicos, o que vai ao encontro do estudo de Cardoso e colaboradores (2018), que reportou sinais de anormalidades no neurodesenvolvimento, como hipertonia, ataxia, discinesia, irritabilidade e assimetria postural em 18 dos 19 lactentes não-microcefálicos avaliados (Cardoso et al., 2018). A hipertonia, por exemplo, foi observada em pelo menos um terço dos lactentes não-microcefálicos e nos três microcefálicos avaliados em nosso estudo nas primeiras visitas durante o primeiro mês e aos três meses de idade (fase dos *writhing* e *fidgety movements*) (Einspieler et al., 2019). Esses achados também representam uma contribuição importante para o entendimento do sistema nervoso e das alterações provocadas pelo ZIKV na população deste trabalho.

O nosso trabalho também acompanhou a evolução do neurodesenvolvimento dessas crianças em cinco idades importantes para a aquisição de habilidades em crianças pequenas e o desfecho do desenvolvimento neuropsicomotor aos 24 meses. A maior parte da nossa coorte apresentou resultado normal, dentro da média, em relação ao desenvolvimento neuropsicomotor com escores compostos acima de 85 na

BSID-III em todas as idades. Maiores pontuações foram observadas nos domínios cognitivo e motor, em detrimento do maior número de crianças com atraso de linguagem.

Os escores compostos da BSID-III entre 1 e 2 desvios padrões abaixo da média (pontuações entre 70-84) são geralmente usados para caracterizar atraso moderado no desenvolvimento cognitivo, de linguagem ou motor. Um escore da BSID-III abaixo de 2 desvios padrões (pontuação menor que 70) em qualquer domínio funcional é o valor de corte aceito usado para considerar atraso grave no desenvolvimento (Johnson et al., 2013; Ballot et al., 2017). Lactentes com escores compostos ≥ 85 (desenvolvimento normal) no domínio da linguagem em todos os momentos (seis, nove, 12, 18 e 24 meses de idade) representaram entre 60-88% das crianças não-microcefálicas expostas ao ZIKV, enquanto maiores porcentagens de desenvolvimento normal foram observadas entre os domínios cognitivo (91-98%) e motor (88-100%) em todas as idades. Além disso, as sete crianças identificadas com atraso grave no desenvolvimento apresentaram as menores pontuações no domínio da linguagem.

A principal questão com a exposição ao ZIKV na fase intrauterina é se as crianças que não apresentam manifestações clínicas ao nascimento (como a microcefalia) podem apresentar alterações no desenvolvimento. Atualmente, a trajetória a longo prazo do desenvolvimento dessas crianças clinicamente assintomáticas ao nascer, que representam a maioria dos recém-nascidos para mães infectadas pelo ZIKV, permanece desconhecida. Até o momento, poucos estudos demonstraram que o desenvolvimento

neuropsicomotor de crianças com infecção congênita por ZIKV pode estar alterado em crianças sem microcefalia (van der Linden et al., 2016; Cardoso et al., 2018) além dos dois estudos com crianças da nossa coorte da Fiocruz-RJ (Moreira et al., 2018 – ANEXO 6; Nielsen-Saines et al., 2019a – ANEXO 7), e não há estudo descrevendo essa trajetória a longo prazo. Alves e colaboradores (2018b) descreveram o neurodesenvolvimento de 24 crianças com síndrome congênita do ZIKV que foram acompanhadas até os 2 anos de idade pelo Teste de Denver II, mas todas as crianças haviam nascido com microcefalia e tiveram atraso significativo no desenvolvimento neuropsicomotor em todos os domínios (Alves et al., 2018b).

O que foi possível observar no nosso estudo é que os três lactentes microcefálicos, desde a primeira visita por volta de um mês de idade, já apresentavam sinais claros de disfunção neurológica, como hipertonia, padrões posturais anormais, irritabilidade e repertório pobre de movimentação. No grupo dos não-microcefálicos, estes sinais muitas vezes estavam presentes, mas eram bem mais sutis.

Avaliações iniciais já publicadas de parte de nossa coorte (Moreira et al., 2018) relataram que 26% dos lactentes expostos ao ZIKV entre 12 e 18 meses de idade apresentaram pontuação <85 em um ou mais domínios da BSID-III. Nossa análise mais recente publicada que envolve parte de nossa coorte e parte da coorte de outra instituição da Fiocruz (Nielsen-Saines et al., 2019a) revelou que 28% das 146 crianças entre 7 e 32 meses de idade tiveram pontuação <85 em qualquer domínio da BSID-III, e a função de linguagem também foi mais afetada com 35% das crianças abaixo da média.

Neste presente estudo, a porcentagem de crianças que pontuaram <85 em pelo menos um domínio variou entre 18,4% (18 meses) e 38,6% (12 meses), e a porcentagem de atraso de linguagem variou entre 12% (6 meses) e 40% (12 meses).

Além de Nielsen-Saines (2019a) e o presente trabalho, nenhum outro estudo mostrou maior comprometimento da função de linguagem em relação aos outros domínios do desenvolvimento, e a explicação para o maior comprometimento desta função ainda não é conhecida. Um estudo recente com camundongos conduzido por Stanelle-Bertram e colaboradores (2018) observou que descendentes do sexo masculino nascidos de fêmeas infectadas com baixas doses do ZIKV tiveram os seus níveis de testosterona aumentados e eram menos propensos a sobreviver pela infecção intrauterina em comparação com respectivas ninhadas femininas. Os machos também apresentaram um aumento do número de neurônios imaturos nos dendritos hipocampais apicais e basais, enquanto os descendentes do sexo feminino tinham neurônios imaturos apenas nos dendritos basais. Portanto, em razão dessas áreas hipocampais danificadas, os descendentes do sexo masculino eram mais propensos a sofrer de problemas de aprendizagem e memória do que as fêmeas (Stanelle-Bertram et al., 2018) - funções neurocognitivas também relacionadas ao desenvolvimento da função da linguagem, principalmente a receptiva. Em nosso estudo, os lactentes do sexo masculino também foram mais suscetíveis ao atraso de linguagem em alguns períodos avaliados: aos 18 e 24 meses de idade. O sexo feminino como fator de proteção em parte de nossa coorte já havia sido relatado por Nielsen-Saines

e colaboradores (2019), e já é sabido que lactentes do sexo feminino costumam apresentar melhores desfechos após infecções perinatais graves (Muenchhoff e Goulder, 2014).

Estudos envolvendo lactentes infectados ou expostos a outros vírus, como o Vírus da Imunodeficiência Humana (HIV), mostram que podem ocorrer déficits cognitivos, motores e de linguagem, manifestando-se durante a fase pré-escolar entre três e cinco anos (Brackis-Cott et al., 2009; Le Doarè et al., 2012; Nielsen-Saines et al., 2019b). Brackis-Cott e colegas (2009) tiveram como objetivo descrever e comparar a capacidade de linguagem receptiva, o reconhecimento de palavras e o desempenho escolar de crianças e adolescentes em idade escolar que haviam sido infectadas ou expostas ao HIV de forma perinatal, e os resultados destacaram a baixa capacidade de linguagem entre os jovens infectados e/ou afetados pelo HIV - muitos deles foram mantidos na escola frequentando aulas de educação especial (Brackis-Cott et al., 2009).

Já é sabido que atrasos no desenvolvimento também podem ocorrer em crianças com infecção por citomegalovírus (cCMV) (Korndewall et al., 2017a,b) e os estudos mais recentes enfatizam que o atraso de linguagem expressiva (mesmo na ausência de perda auditiva) ocorre com mais frequência nessas crianças do que naquelas sem cCMV. O desempenho escolar de crianças com cCMV foi pior do que o de crianças negativas para cCMV com sintomas semelhantes ao nascimento. Além disso, a qualidade de vida com comprometimento a longo prazo foi menor em crianças com cCMV do que naquelas sem cCMV (Korndewall et al., 2017b). Tendo este

conhecimento sobre as repercussões do HIV e do cCMV no neurodesenvolvimento e nossos resultados sobre o atraso de linguagem causado pelo ZIKV nas crianças do nosso estudo, é possível que as crianças expostas ao ZIKV também possam vir a sofrer atraso do desenvolvimento e de aprendizagem na idade pré-escolar e escolar.

Em contraste com a função da linguagem, a grande maioria de nossas crianças pontuou >85 no domínio cognitivo (variação de 91-98% entre as fases). No entanto, estudos como o de Stanelle-Bertram e colegas (2018), que mostram a afinidade do ZIKV pelas estruturas do sistema nervoso responsáveis por funções cognitivas, nos trazem um alerta e podem nos auxiliar a explicar porque algumas funções neurocognitivas também podem ser afetadas. Embora Da Silva e colaboradores (2017) tenham constatado que os lactentes expostos ao HIV e à terapia antirretroviral apresentaram desenvolvimento motor e cognitivo satisfatório por meio da BSID-III nos primeiros 18 meses de vida, em comparação com um grupo controle não exposto ao HIV, foram obtidos escores mais baixos para o domínio cognitivo, o que também pode ser um indicativo de problemas futuros (Da Silva et al., 2017).

Em nosso estudo, observamos alta porcentagem e evolução do desenvolvimento dessas crianças em relação ao domínio motor ao longo do tempo, com 100% das 47 crianças não-microcefálicas avaliadas aos 24 meses apresentando desenvolvimento normal (escore>85). Podemos discutir que nossa intervenção motora precoce em grande parte das crianças, desde a primeira avaliação na fase dos *writhing movements*, principalmente por meio

de orientações e exercícios domiciliares ou encaminhamento para fisioterapia motora, quando necessário, pode ter contribuído para um melhor desempenho dessas crianças neste domínio. De fato, o estudo conduzido por Cardoso e colaboradores (2018), que avaliaram o desenvolvimento neuromotor de 19 crianças expostas ao ZIKV sem microcefalia de um a sete meses de idade, relatou uma porcentagem muito maior de atraso de desenvolvimento de 42,1% na Escala Motora Infantil de Alberta (EMIA) e no Teste de Denver II (Cardoso et al., 2018). Um acompanhamento de 13 crianças que apresentavam perímetro cefálico normal ao nascer, conduzido por van der Linden e colegas (2016), também evidenciou maiores atrasos e alterações motoras nessas crianças, mostrando que, para a maioria delas, a diminuição do perímetro cefálico da cabeça após o nascimento ocorreu ao ponto da microcefalia; e disfunções neuromotoras significativas, como hipertonia, discinesia/distonia, disfagia, epilepsia e persistência de reflexos primitivos eram evidentes nessas crianças (van der Linden et al., 2016).

Variáveis clínicas e socioeconômicas exerceram influência nos escores da BSID-III em nossa coorte, especialmente a renda familiar acima de quatro salários mínimos como um fator de proteção para o desenvolvimento cognitivo. A escolaridade materna (ensino superior ou terceiro grau completo) também foi um fator importante relacionado à cognição, linguagem e função motora fina (que está fortemente relacionada à cognição). Já sabemos que há evidências sobre a influência de fatores socioeconômicos (renda familiar, escolaridade dos pais e estado ocupacional) e desenvolvimento cognitivo desde a primeira infância até a fase escolar, e que isso se aplica a muitas

sociedades. Além disso, há forte relação entre o *status* socioeconômico e as habilidades verbais (Bradley et al., 2002).

As condições socioeconômicas podem influenciar a qualidade e a quantidade da estimulação ambiental oferecida à criança. Maior renda familiar e escolaridade materna refletem sobre a melhor organização do ambiente físico e temporal, maior oportunidade de variação na estimulação diária, disponibilidade de materiais adequados e jogos para a criança, e maior envolvimento emocional e verbal da mãe com o seu filho (Sameroff, 1986; Andrade et al., 2005). Quanto maior o nível de escolaridade materna, maior o domínio da linguagem, o que levará ao aumento da consciência de sua função materna como protetora do desenvolvimento de seu filho (Andrade et al., 2005).

A qualidade do tônus exerceu influência na cognição, na função motora fina e na linguagem receptiva. Especificamente, a hipertonia representou risco para o desenvolvimento das crianças nesses domínios, corroborando a hipótese de que as estruturas motoras e cognitivas do desenvolvimento caminham juntas. Alguns fatores clínicos já conhecidos por influenciar o neurodesenvolvimento também foram observados: Apgar no 5º minuto para os domínios cognitivo e de linguagem receptiva; peso ao nascimento para os domínios cognitivo e motor, e idade gestacional para o domínio motor. O terceiro trimestre de infecção pelo ZIKV, como esperado, foi preditor de melhor desenvolvimento motor no desfecho aos 24 meses, assim como já observado também no estudo de Nielsen-Saines (2019a) em relação às variáveis de idade gestacional e trimestre de infecção. Esses achados também corroboram

a afirmação de que quanto mais precoce a infecção, piores são as lesões e as disfunções. Como a infecção também predispõe à diminuição do tempo de gestação, os efeitos nos desfechos do desenvolvimento dessas crianças podem ser devidos à infecção pelo ZIKV de maneira direta (trimestre de infecção) e indireta (idade gestacional).

Nós observamos também neste trabalho que uma porcentagem alta de crianças que realizaram exames de neuroimagem apresentaram resultados com alterações. No estudo de Moreira e colaboradores (2018) foram analisados os achados de neuroimagem e a associação com o neurodesenvolvimento (aplicando também a BSID-III) de 94 crianças entre 12 e 18 meses de idade (parte delas também desta coorte em conjunto com uma coorte de outro centro de pesquisa da Fiocruz), a maioria não microcefálica, e foi observada associação entre resultados normais em imagens cerebrais e maiores escores da BSID-III. Crianças com resultados normais foram 20% menos propensas a apresentar escores abaixo de 85 do que aquelas com resultados alterados. No entanto, os exames de neuroimagem não conseguiram prever atraso grave em 2% e desenvolvimento normal em 16% dessas crianças (Moreira et al., 2018). Pool e colaboradores (2019) descreveram recentemente que 71 (65%) de um total de 110 crianças da mesma coorte do Rio de Janeiro haviam apresentado achados anormais de neuroimagem (TC e RNM), sendo que a maioria foi classificada com infecção grave ao nascimento. Ainda, a frequência de alterações foi maior nas crianças com achados clínicos específicos como microcefalia, contraturas congênitas, anormalidades auditivas e oftalmológicas, e sinais neurológicos; e com

história de infecção materna pelo ZIKV no primeiro trimestre (Pool et al., 2019).

Não foi observado efeito estatisticamente significativo entre os resultados obtidos pela avaliação GMA e o desfecho do desenvolvimento neuropsicomotor por meio da BSID-III nesta população aos 24 meses de idade, diferente do que foi encontrado recentemente em outro trabalho publicado por nosso grupo com parte de nossa coorte (Einspieler et al., 2019) nas crianças com 12 meses de idade. Neste trabalho foi observado que os resultados obtidos pelo GMA aos três meses foram associados com a avaliação do neurodesenvolvimento por meio da BSID-III aos 12 meses. Porém, utilizou-se um grupo controle e um grupo de crianças microcefálicas de outro centro de pesquisa para efeitos de comparação, o que pode justificar a diferença de resultados, além da diferente faixa etária de avaliação pela BSID-III.

Soares-Marangoni e colaboradores (2018) também estudaram a associação da avaliação GMA com o desfecho motor aos 12 meses, porém avaliado por meio da Escala Motora Infantil de Alberta (EMIA). Foram estudados dois casos bastante distintos de lactentes expostos ao ZIKV: um microcefálico exposto ao vírus na 10^a semana de gestação que não apresentou *fidgety movements* na 16^a semana de vida e que evoluiu com atraso motor importante aos 12 meses de acordo com a EMIA; e um lactente não-microcefálico exposto ao vírus na 34^a semana de gestação que apresentou *fidgety movements* na 13^a semana de vida e desenvolvimento motor normal aos 12 meses de acordo com a mesma escala (Soares-

Marangoni et al., 2018). Este estudo vai ao encontro dos nossos achados, pois apesar de reportar apenas dois casos, estes são também representativos da coorte do nosso estudo (não-microcefálicos e microcefálicos).

Apesar de não ter sido observado efeito estatisticamente significativo entre os resultados obtidos pela avaliação GMA e o desfecho do desenvolvimento neuropsicomotor por meio da BSID-III nesta população aos 24 meses de idade, os resultados indicando grande parte de desenvolvimento normal dos casos por meio da BSID-III nos mostram que grande parte dos casos avaliados pelo GMA com *fidgety movements* presentes aos três meses de idade também evoluiu com desenvolvimento normal na BSID-III posteriormente, o que ilustra o alto valor preditivo negativo encontrado (100% em relação ao domínio cognitivo e 75% em relação aos domínios motor e de linguagem).

Ao mesmo tempo, entre aqueles cujos GMs apresentaram-se alterados, principalmente ausência dos *fidgety movements* nos microcefálicos, observou-se evolução para um atraso do desenvolvimento grave com a avaliação por meio da BSID-III e também com diagnóstico de Encefalopatia Crônica não Progressiva ou Paralisia Cerebral, o que pode ilustrar o alto valor de sensibilidade encontrada (100% em relação ao domínio cognitivo e 87,5% em relação ao domínio da linguagem), apesar de terem sido avaliados apenas três microcefálicos. Finalmente, o exame RT-PCR não apresenta 100% de confiabilidade, logo, pode haver nesta amostra, presença de falso-negativos, o que pode influenciar também nos resultados do efeito de um método de avaliação sobre o outro e no fato de não ter sido encontrada

diferença estatística nos resultados quando comparados os dois grupos (ZIKV+ e ZIKV-) em relação às avaliações por meio da BSID-III.

Este trabalho ainda apresenta algumas limitações principalmente em relação à disponibilidade dos dados. Muitos dos lactentes que compareceram às avaliações não estavam na idade adequada e específica para avaliação pelo GMA; e mães com resultados negativos de RT-PCR e pais de crianças aparentemente saudáveis foram relutantes em trazê-las para avaliações e permanecer no acompanhamento a longo-prazo, o que resultou na redução de crianças avaliadas ao longo da pesquisa. A caracterização da população com outros dados clínicos, como de fundoscopia de olho, exames auditivos e resultados mais detalhados dos exames de neuroimagem foi limitada por não termos acesso a estes dados, pois muitas crianças realizavam este acompanhamento em outras instituições. A inclusão de um grupo controle com condições socioeconômicas semelhantes também poderia ajudar a abordar de forma mais específica os atrasos e alterações de desenvolvimento relacionados à infecção pelo ZIKV.

Apesar disso, este estudo fornece informações importantes sobre o espectro de sequelas neurológicas e resultados normais observados entre o primeiro mês e 24 meses de idade em crianças que foram expostas no período pré-natal à infecção pelo ZIKV e desloca a atenção para o acompanhamento de crianças não microcefálicas. A nível de saúde pública, é indiscutível a importância do conhecimento da evolução do desenvolvimento dessas crianças para que estratégias de prevenção e tratamento adequadas sejam tomadas, e nossos resultados demonstram que crianças com desfechos

adversos podem ser identificadas e necessitam de investigação adicional de atraso e sequelas a longo prazo, que vão além do domínio motor.

A identificação de danos neurológicos de forma precoce e o acompanhamento do desenvolvimento permite a entrada também precoce dos lactentes propensos a resultados adversos do desenvolvimento neuropsicomotor em programas de tratamento direcionados e monitoramento rigoroso daqueles em risco. Mais ainda, também podemos destacar a importância de futuras intervenções educacionais que possam atender a essa necessidade emergente, a fim de evitar algum tipo de atraso do desenvolvimento e da aprendizagem na idade pré-escolar e escolar, que possa vir a provocar impacto na qualidade de vida dessas crianças.

7 Conclusões

7 CONCLUSÕES

- 1) Foram observados sinais predisponentes para alterações neurológicas pelo GMA em cerca de 90% (repertório pobre) e 19,2% (*fidgety* ausente) dos lactentes não-microcefálicos expostos ao ZIKV intrauterino no primeiro e aos três meses de idade, respectivamente. Esta porcentagem de alterações dos GMs foi de 100% nos três casos de lactentes microcefálicos avaliados.
- 2) A grande maioria das crianças não-microcefálicas expostas ao ZIKV na vida intrauterina apresentou resultado normal no desenvolvimento neuropsicomotor e; aos seis, nove, 12, 18 e 24 meses; 23,1%; 34,7%; 38,6%; 18,4% e 19,1% das crianças, respectivamente, apresentaram atraso em pelo menos um dos três domínios da BSID-III. Maior número de crianças apresentou atraso de linguagem. O desenvolvimento motor apresentou-se normal nas 47 crianças não-microcefálicas avaliadas aos 24 meses de idade. Todos os microcefálicos avaliados apresentaram grave atraso cognitivo, de linguagem e motor nas cinco idades avaliadas.
- 3) Renda familiar, escolaridade materna, gênero (feminino), idade gestacional, peso ao nascimento e infecção materna tardia durante a gestação influenciaram diretamente o desenvolvimento cognitivo, de linguagem e motor na maioria dos períodos avaliados nos primeiros 24

meses de idade. Porém, não foram encontradas associações com a movimentação espontânea no terceiro mês de idade.

- 4) Os resultados obtidos pela avaliação GMA não tiveram efeito sobre o desfecho do desenvolvimento neuropsicomotor aos 24 meses de idade. Porém, a grande maioria dos lactentes com *fidgety* normais evoluiu para um desfecho do desenvolvimento normal aos 24 meses.

8 Referências

8 REFERÊNCIAS

Alves LV, Mello MJG, Bezerra PG, Alves JGB. Congenital Zika syndrome and infantile spasms: Case Series Study. *J Child Neurol*. 2018a;33(10):664-6.

Alves LV, Paredes CE, Silva GC, Mello JG, Alves JG. Neurodevelopment of 24 children born in Brazil with congenital Zika syndrome in 2015: a case series study. *BMJ Open*. 2018b;8(7):e021304.

Anderson PJ, De Luca CR, Hutchinson E, Robert G, Boyle LW; the Victorian Infant Collaborative Group. Underestimation of developmental delay by the new Bayley-III Scale. *Arch Pediatr Adolesc Med*. 2010;164(4):352-6.

Andrade SA, Santos DN, Bastos AC, Pedromônico MRM, de Almeida-Filho N, Barreto ML. Ambiente familiar e desenvolvimento cognitivo infantil: uma abordagem epidemiológica. *Rev Saúde Pública*. 2005;39(4):606-11.

Aragão MFVV, Holanda AC, Brainer-Lima AM, Petribu NCL, Castillo M, van der Linden V, Serpa SC, Tenório AG, Travassos PTC, Cordeiro MT, Sarteschi C, Valenca MM, Costello A. Nonmicrocephalic infants with congenital syndrome suspected only after neuroimaging evaluation compared with those with microcephaly at birth and postnatally: how large is the Zika virus "iceberg"? *AJNR Am J Neuroradiol*. 2017;38:1427-34.

Atkinson B, Hearn P, Afrough B, Lumley S, Carter D, Aarons EJ, Simpson AJ, Brooks TJ, Hewson R. Detection of Zika virus in semen. *Emerg Infect Dis*. 2016;22(5):940.

Ballot DE, Ramdin T, Rakotsoane D, Agaba F, Davies VA, Chirwa T, Cooper PA. Use of the Bayley Scales of Infant and Toddler Development, Third

Edition, to assess developmental outcome in infants and young children in an urban setting in South Africa. *Int Sch Res Notices*. 2017;2017:1631760.

Barbeito-Andrés J, Pezzuto P, Higa LM, Dias AA, Vasconcelos JM, Santos TMP, Ferreira JCCG, Ferreira RO, Dutra FF, Rossi AD, Barbosa RV, Amorim CKN, De Souza MPC, Chimelli L, Aguiar RS, Gonzalez PN, Lara FA, Castro MC, Molnár Z, Lopes RT, Bozza MT, Vianez JL SG, Barbeito CG, Cuervo P, Bellio M, Tanuri A, Garcez PP. Congenital Zika syndrome is associated with maternal protein malnutrition. *Sci Adv*. 2020;6:eaaw6284.

Bayley N. Bayley Scales of Infant Development. San Antonio, TX: The Psychological Corporation; 1969.

Bayley N. The Bayley Scales of Infant Development. Second Edition. San Antonio, TX: The Psychological Corporation; 1993.

Bayley N. Bayley Scales of Infant and Toddler Development. Third Edition. San Antonio, TX: The Psychological Corporation; 2006.

Bearcroft WG. Zika virus infection experimentally induced in a human volunteer. *Trans R Soc Trop Med Hyg*. 1956; 50:442-8.

Beccaria E, Martino M, Briatore E, Podestà B, Pomero G, Micciolo R, Espa G, Calzolaria S. Poor repertoire General Movements predict some aspects of development outcome at 2 years in very preterm infants. *Early Hum Dev*. 2012;88(6):393-6.

Bosanquet M, Copeland L, Ware R, Boyd R. A systematic review of tests to predict cerebral palsy in young children. *Dev Med Child Neurol*. 2013;55(5):418-26.

Brackis-Cott E, Kang E, Dolezal C, Abrams EJ, Mellins CA. The impact of perinatal HIV infection on older school-aged children's and adolescents'

receptive language and word recognition skills. *AIDS Patient Care STDS*. 2009;23(6):415-21.

Bradley RH, Corwyn RF. Socioeconomic status and child development. *Annu Rev Psychol*. 2002;53:371-99.

Brasil P, Pereira JP, 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, Cotrim 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 woman in Rio de Janeiro. *N Engl J Med*. 2016;375;(24):2321-34.

Bruggink JLM, Einspieler C, Butcher PR, Van Braeckel KNJA, Prechtl HFR, Bos AF. The Quality of the Early Motor Repertoire in Preterm Infants Predicts Minor Neurologic Dysfunction at School Age. *J Pediatr*. 2008;153(1):32-9.

Bruggink JLM, van Spronsen FJ, Wijnberg-Williams BJ, Bos AF. Pilot use of the early motor repertoire in infants with inborn errors of metabolism: outcomes in early and middle childhood. *Early Hum Dev*. 2009a;85(7):461-5.

Bruggink JLM, Cioni G, Einspieler C, Maathuis CG, Pascale R, Bos AF. Early motor repertoire is related to level of self-mobility in children with cerebral palsy at school age. *Dev Med Child Neurol*. 2009b;51:878-85.

Burger M, Louw QA. The predictive validity of general movements – a systematic review. *Eur J Paediatr Neurol*. 2009;13:408-20.

Calvet G, Aguiar RS, Melo AS, Sampaio SA, de Filippis I, Fabri A, Araujo ES, de Sequeira PC, de Mendonça MC, de Oliveira L, Tschoeke DA, Schrago CG, Thompson FL, Brasil P, Dos Santos FB, Nogueira RM, Tanuri A, de Filippis

AM. Detection and sequencing of Zika virus from amniotic fluid of fetuses with microcephaly in Brazil: a case study. *Lancet Infect Dis*. 2016;16(6):653-60.

Campos GS, Bandeira AC, Sardi SI. Zika virus outbreak, Bahia, Brazil. *Emerg Infect Dis*. 2015;21:1885-6.

Cao-Lormeau VM, Roche C, Teissier A, Robin E, Berry AL, Mallet HP, Sall AA, Musso D. Zika virus, French Polynesia, South pacific, 2013. *Emerg Infect Dis*. 2014;20:1085-6.

Cardoso CW, Paploski IA, Kikuti M, Rodrigues MS, Silva MM, Campos GS, Sardi SI, Kitron U, Reis MG, Ribeiro GS. Outbreak of axenthematous illness associated with Zika, Chikungunya, and Dengue viruses, Salvador, Brazil. *Emerg Infect Dis*. 2015;21(12):2274-6.

Cardoso TF, Santos RS, Corrêa RM, Campos JV, Silva RB, Tobias CC, Prata-Barbosa A, Cunha AJLAD, Ferreira HC. Congenital Zika virus infection: neurology can occur without microcephaly. *Arch Dis Child*. 2018;104(2):199-200.

Carteaux G, Maquart M, Bedet A, Contou D, Brugières P, Fourati S, Cleret de Langavant L, de Broucker T, Brun-Buisson C, Leparac-Goffart I, Mekontso Dessap A. Zika virus associated with meningoencephalitis. *N Engl J Med*. 2016;374(16):1595-6.

Cavalheiro S, Lopez A, Serra S, Da Cunha A, da Costa MD, Moron A, Lederman HM. Microcephaly and Zika virus: neonatal neuroradiological aspects. *Childs Nerv Syst*. 2016;32(6):1057-60.

Cugola FR, Fernandes IR, Russo FB, Freitas BC, Dias JLM, Guimarães KP, Benazzato C, Almeida N, Pignatari GC, Romero S, Polonio CM, Cunha I, Freitas CL, Brandão WN, Rossato C, Andrade DG, Faria D de P, Garcez AT, Buchpigel CA, Braconi CT, Mendes E, Sall AA, Zanotto PM, Peron JP, Muotri

AR, Beltrão-Braga PC. The Brazilian Zika virus strain causes birth defects in experimental models. *Nature*. 2016;534(7606):267-71.

D'Ortenzo E, Matheron S, Yazdanpanah Y, de Lamballerie X, Hubert B, Piorkowski G, Maquart M, Descamps D, Damond F, Leparç-Goffart I. Evidence of Sexual Transmission of Zika Virus. *N Engl J Med*. 2016;374(22):2195-8.

Da Silva KM, de Sá CSC, Carvalho R. Evaluation of motor and cognitive development among infants exposed to HIV. *Early Hum Dev*. 2017;105:7-10.

De Araújo TVB, de Alencar XRA, de Barros Miranda-Filho D, Souza WV, Montarroyos UR, de Melo APL, Valongueiro S, de Albuquerque MFPM, Braga C, Filho SPB, Cordeiro MT, Vazquez E, Cruz DDCS, Henriques CMP, Bezerra LCA, Castanha PMDS, Dhalia R, Marques-Júnior ETA, Martelli CMT, Rodrigues LC; investigators from the Microcephaly Epidemic Research Group; Brazilian Ministry of Health; Pan American Health Organization; Instituto de Medicina Integral Professor Fernando Figueira; State Health Department of Pernambuco. Association between microcephaly, Zika virus infection, and other risk factors in Brazil: final report of a case-control study. *Lancet Infect Dis*. 2018;18(3):328-36.

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. *BMJ*. 2016;353:i1901.

De Freitas Ribeiro BN, Muniz BC, Gasparetto EL, Marchiori E. Congenital involvement of the central nervous system by the Zika virus in a child without microcephaly – spectrum of congenital syndrome by the Zika virus. *J Neuroradiol*. 2018;45:152-6.

De Kieviet JF, Piek JP, Aarnoudse-Moens CS, Oosterlaan J. Motor development in very preterm and very low-birth-weight children from birth to adolescence: a meta-analysis. *JAMA*. 2009;302:2235-42.

Dick GW, Kitchen SF, Haddow AJ. Zika virus. I. Isolations and serological specificity. *Trans R Soc Trop Med Hyg*. 1952a;46:509-20.

Dick GW. Zika virus. II. Pathogenicity and physical properties. *Trans R Soc Trop Med Hyg*. 1952b;46:521-34.

Duff MR, Chen T-H, 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. *N Engl J Med* 2009; 360(24): 2536-43.

Dupont-Rouzeyrol M, O'Connor O, Calvez E, Daurès M, John M, Grangeon JP, Gourinat AC. Co-infection with Zika and dengue viruses in 2 patients, New Caledonia, 2014. *Emerg Infect Dis* 2015; 21(2):381-2.

Einspieler C, Prechtl HFR, Ferrari F, Cioni G, Bos AF. The qualitative assessment of general movements in preterm, term and young infants – review of the methodology. *Early Hum Dev*. 1997;50(1):47-60.

Einspieler C, Cioni G, Paolicelli PB, Bos AF, Dressler A, Ferrari F, Roversi MF, Prechtl HF. The early markers for later dyskinetic cerebral palsy are different from those for spastic cerebral palsy. *Neuropediatrics*. 2002;33(2):73-8.

Einspieler C, Prechtl HFR, Bos AF, Ferrari F, Cioni G. Prechtl's method on the qualitative assessment of general movements in preterm, term and young infants. *Clin Dev Med*. 2004;167:1-91.

Einspieler C, Prechtl HFR. Prechtl's assessment of general movements: a diagnostic tool for the functional assessment of the young nervous system. *Ment Retard Dev Disabil Res Rev.* 2005;11 (1):61-7.

Einspieler C, Marschik PB, Milioti S, Nakajima Y, Bos AF, Prechtl HFR. Are Abnormal Fidgety Movements an Early Marker for Complex Minor Neurological Dysfunction at Puberty?. *Early Hum Dev.* 2007;83(8):521-5.

Einspieler C, Marschik PB, Prechtl HFR. Human motor behaviour – prenatal origin and early postnatal development. *Z Psychol.* 2008;216:147-53.

Einspieler C, Sigafos J, Bartl-Pokorny KD, Landa R, Marschik PB, Bölte S. Highlighting the first 5 months of life: General movements in infants later diagnosed with autism spectrum disorder or Rett syndrome. *Res Autism Spectr Dis.* 2014;8:286-91.

Einspieler C, Marschik PB, Pansy J, Scheuchenegger A, Kriebler M, Yang H, Kornacka MK, Rowinska E, Soloveichick M, Bos AF. The general movement optimality score: a detailed assessment of general movements during preterm and term age. *Dev Med Child Neurol.* 2016a;58:361-8.

Einspieler C, Peharz R, Marschik PB. Fidgety movements – tiny in appearance, but huge in impact. *J Pediatr (Rio J).* 2016b;92(3 Suppl 1):S64-70.

Einspieler C, Bos AF, Libertus ME, Marschik PB. The General Movement Assessment helps us to identify preterm infants at risk for cognitive dysfunction. *Front Psychol.* 2016c;7:406.

Einspieler C, Utsch F, Brasil P, Aizawa CYP, Peyton C, Hasue RH, Genovesi FF, Damasceno L, Moreira ME, Adachi K, Marschik PB, Nielsen-Saines K, GM Zika Working Group. Association of infants exposed to prenatal Zika virus infection with their clinical, neurologic, and developmental status evaluated via

the General Movement Assessment Tool. *JAMA Network Open*. 2019;2(1):e187235.

Ferrari F, Cioni G, Einspieler C, Roversi F, Bos AF, Paolicelli PB, Ranzi A, Prechtl HFR. Cramped synchronized general movements in preterm infants as an early marker for cerebral palsy. *Arch Pediatr Adolesc Med*. 2002;156:460-7.

Fjortøft T, Einspieler C, Adde L, Strand LI. Inter-observer reliability of the “Assessment of Motor Repertoire – 3 to 5 Months” based on video recordings of infants. *Early Hum Dev*. 2009;85:297-302.

Fjortøft T, Grunewaldt KH, Løhaugen GC, Mørkved S, Skranes J, Evensen KA. Assessment of motor behavior in high-risk-infants at 3 months predicts motor and cognitive outcomes in 10 years old children. *Early Hum Dev*. 2013;89(10):787-93.

Garcez PP, Loiola EC, da Costa RM, Higa LM, Trindade P, Delvecchio R, Nascimento JM, Brindeiro R, Tanuri A, Rehen SK. Zika virus impairs growth in human neurospheres and brain organoids. *Science*. 2016;352(6287):816-8.

Groen SE, de Blécourt ACE, Postema K, Hadders-Algra M. General Movements in Early Infancy Predict Neuromotor Development at 9 to 12 Years of Age. *Dev Med Child Neurol*. 2005;47(11):731-8.

Gubler DJ. The global emergence/resurgence of arboviral diseases as public health problems. *Arch Med Res*. 2002;33:330-42.

Hamer EG, Bos AF, Hadders-Algra M. Assessment of specific characteristics of abnormal general movements: does it enhance the prediction of cerebral palsy?. *Dev Med Child Neurol*. 2011;53:751-6.

Hennessey M, Fisher M, Staples JE. Zika virus spreads to new áreas – region of the Americas, May 2015-January 2016. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep*. 2016;65:55-8.

Horwood P, Bande G, Dagina R, Guillaumot L, Aaskov J, Pavlin B. The threat of chikungunya in Oceania. *West Pac Surveill Response J*. 2013;4(2):8-10.

Ioos S, Mallet H-P, Leparç Goffart I, Gauthier V, Cardoso T, Herida M. Current Zika virus epidemiology and recent epidemics. *Med Mal Infect*. 2014;44:302-7.

Kapogiannis BG, Chakhtoura N, Hazra R, Spong CY. Bridging knowledge gaps to understand how Zika virus exposure and infection affect child development. *JAMA Pediatrics*. 2017;171(5):478-85.

Korndewal MJ, Oudesluys-Murphy AM, Kroes ACM, van der Sande MAB, de Melker HE, Vossen ACTM. Long-term impairment attributable to congenital cytomegalovirus infection: a retrospective cohort study. *Dev Med Child Neurol*. 2017a;59(12):1261-8.

Korndewal MJ, Oudesluys-Murphy AM, Kroes ACM, Vossen ACTM, de Melker HE. Congenital cytomegalovirus infection: child development, quality of life and impact on daily life. *Pediatr Infect Dis J*. 2017b;36(12):1141-7.

Kwong AK, Fitzgerald TL, Doyle LW, Cheong JLY, Spittle AJ. Predictive validity of spontaneous early infant movement for later cerebral palsy: a systematic review. *Dev Med Child Neurol*. 2018;60(5):480-9.

Johnson S, Moore T, Marlow N. Using the Bayley-III to assess neurodevelopmental delay: which cut-off should be used? *Pediatr Res*. 2014;75(5):670-4.

Lanciotti RS, Kosoy OL, Laven JJ, Velez JO, Lambert AJ, Johnson AJ, Stanfield SM, Duffy MR. Genetic and serologic properties of Zika virus associated with an epidemic, Yap State, Micronesia, 2007. *Emerg Infect Dis.* 2008;14(8):1232-9.

Lebov JF, Brown LM, MacDonald PDM, Robertson K, Bowman NM, Hooper SR, Becker-Dreps S. Review: Evidence of neurological sequelae in children with acquired Zika virus infection. *Pediatr Neurol.* 2018;85:16-20.

Le Doarè K, Bland R, Newell ML. Neurodevelopment in children born to HIV-infected mothers by infection and treatment status. *Pediatrics.* 2012;130(5):e1326-44.

Lordelo ER, Chalhub AA, Guirra RC, Carvalho CS. Contexto e desenvolvimento cognitivo: frequência à creche e evolução do desenvolvimento mental. *Psicol Reflex Crit.* 2007;20(2):324-34.

MacNamara FN. Zika vírus: a report in three cases of human infection during an epidemic of jaundice in Nigeria. *Trans R Soc Trop Med Hyg.* 1954;48:139-45.

Madaschi V, Mecca TP, Macedo EC, Paula CS. Bayley-III Scales of infant and toddler development: transcultural adaptation and psychometric properties. *Paidéia (Ribeirão Preto).* 2016;26:189-97.

Mansuy JM, Dutertre M, Mengelle C, Fourcade C, Marchou B, Delobel P, Izopet J, Martin-Blondel G. Zika vírus: high infectious viral load in semen, a new sexually transmitted pathogen? *Lancet Infect Dis.* 2016;16(4):405.

Marano G, Pupella S, Vaglio S, Liumbruno GM, Grazzini G. Zika vírus and the never-ending story of emerging pathogens and transfusion medicine. *Blood Transfus.* 2016;14(2):95-100.

Martines RB, Bhatnagar J, Keating MK, Silva-Flannery L, Muehlenbachs A, Gary J, Goldsmith C, Hale G, Ritter J, Rollin D, Shieh WJ, Luz KG, Ramos AM, Davi HP, Kleber de Oliveria W, Lanciotti R, Lambert A, Zaki S. Notes from field: evidence of Zika virus infection in brain and placental tissues from two congenitally infected newborns and two fetal losses – Brazil, 2015. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep.* 2016;65(6):159-60.

McCarthy M. Zika related microcephaly may appear after birth, study finds. *BMJ.* 2016;355:i6333.

Meaney-Delman D, Hills SL, Williams C, Galang RR, Iyengar P, Hennenfent AK, Rabe IB, Panella A, Oduyebo T, Honein MA, Zaki S, Lindsey N, Lehman JA, Kwit N, Bertolli J, Ellington S, Igbinosa I, Minta AA, Petersen EE, Mead P, Rasmussen SA, Jamieson DJ. Zika virus infection among U.S. pregnant travelers – August 2015 – February 2016. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep.* 2016;65(8):211-4.

Mécharles S, Herrmann C, Poullain P, Tran TH, Deschamps N, Mathon G, Landais A, Breurec S, Lannuzel A. Acute myelitis due to Zika virus infection. *Lancet.* 2016;387(10026):1481.

Mehrijardi MZ, Poretti A, Huisman TAGM, Werner H, Keshavarz E, Araujo Junior E. Neuroimaging findings of congenital Zika virus infection: a pictorial essay. *Jpn J Radiol.* 2017;35(3):89-94.

Mlakar J, Korva M, Tul N, Popović M, Poljšak-Prijatelj M, Mraz J, Kolenc M, Resman Rus K, Vesnaver Vipotnik T, Fabjan Vodusek V, Vizjak A, Pižem J, Petrovec M, Avšič Županc T. Zika virus associated with microcephaly. *N Engl J Med.* 2016;374(10):951-8.

Miranda-Filho Dde B, Martelli CM, Ximenes RA, Araújo TV, Rocha MA, Ramos RC, Dhalia R, França RF, Marques Júnior ET, Rodrigues LC. Initial description

of the presumed congenital Zika syndrome. *Am J Public Health*. 2016;106(4):598-600.

Ministério da Saúde (Brasil). Protocolo de atenção à saúde e resposta à ocorrência de microcefalia relacionada à infecção pelo vírus Zika. V.1.1. Brasília: Ministério da Saúde, Secretaria de Atenção à Saúde; 2015a.

Ministério da Saúde (Brasil). Protocolo de Atendimento: mulheres em idade fértil, gestantes, puérperas e bebês com microcefalia; 2015b [cited 12.02.16]. In: <http://portalsaude.saude.gov.br/images/pdf/2015/dezembro/14/Protocolo-de-Atendimento.pdf>.

Ministério da Saúde (Brasil). Monitoramento dos casos de microcefalia no Brasil. Informe epidemiológico nº 13. 2016a Feb 13 [cited 2016 Feb 20]. In: Centro de Operações de Emergências em Saúde Pública sobre Microcefalias. In: <http://portalsaude.saude.gov.br/images/pdf/2016/fevereiro/17/coes-microcefalia-inf-epi-13-se06-2016.pdf>.

Ministério da Saúde (Brasil). COES. Microcefalias Atualizações: entrevista coletiva sobre microcefalia. 2016b, 20 Janeiro.

Ministério da Saúde (Brasil). Boletim epidemiológico 2016c [cited 12.02.16]. In: <http://portalsaude.saude.gov.br/index.php/cidadao/principal/agencia-saude/21890-ministerio-da-saude-atualiza-casos-de-microcefalia-2>.

Ministério da Saúde (Brasil). Boletim epidemiológico 2016d [cited 12.02.16]. In: <http://portalsaude.saude.gov.br/index.php/cidadao/principal/agencia-saude/21890-ministerio-da-saude-investiga-3-448-casos-suspeitos-de-microcefalia>

Moreira MEL, 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. *N Engl J Med*. 2018;379(24):2377-9.

Muenchhoff M, Goulder, PJ. Sex differences in pediatric infectious diseases. *J Infect Dis*. 2014;209 Suppl 3:S120-6.

Mulkey SB, Vezina G, Bulas DI, Khademian Z, Blask A, Kousa Y, Cristante C, Pasacreta L, du Plessis AJ, DeBiasi RL. Neuroimaging findings in normocephalic newborns with intrauterine Zika virus exposure. *Pediatr Neurol*. 2018;78:75-8.

Musso D, Nilles EJ, Cao-Lormeau VM. Rapid spread of emerging Zika virus in the Pacific area. *Clin Microbiol Infect*. 2014;20:O595-6.

Mutlu A, Einspieler C, Marschik PB, Livanelioglu A. Intraindividual consistency in the quality of neonatal general movements. *Neonatology*. 2008;93:213-6.

Nielsen-Saines K, Brasil P, Kerin T, Vasconcelos Z, Gabaglia CR, Damasceno L, Pone M, Abreu de Carvalho LM, Pone SM, Zin AA, Tsui I, Salles TRS, da Cunha DC, Costa RP, Malacarne J, Reis AB, Hasue RH, Aizawa CYP, Genovesi FF, Einspieler C, Marschik PB, Pereira JP, Gaw SL, Adachi K, Cherry JD, Xu Z, Cheng G, Moreira ME. Delayed childhood neurodevelopment and neurosensory alterations in the second year of life in a prospective cohort of ZIKV-exposed children. *Nat Med*. 2019a;25(8):1213-7.

Nielsen-Saines K. Perinatal HIV as an infectious cause of developmental regression. *Neurosci Biobehav Rev*. 2019b;102:417-23.

Noble Y, Boyd RN. Neonatal assessments for the preterm infant up to 4 months corrected age: a systematic review. *Dev Med Child Neurol*. 2012;54:129-39.

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. *Euro Surveill.* 2014;19(9). pii:20720.

Pessoa A, van der Linden V, Yeargin-Allsopp M, Carvalho MDCG, Ribeiro EM, Braun KVN, Durkin MS, Pastula DM, Moore JT, Moore CA. Motor abnormalities and epilepsy in infants and children with evidence of congenital Zika virus infection. *Pediatrics.* 2018;141(Suppl 2):S167-S179.

Petersen LR, Jamieson DJ, Powers AM, Honein MA. Zika Virus. *N Engl J Med.* 2016;374(16):1552-63.

Phagava H, Muratori F, Einspieler C, Maestro S, Apicella F, Guzzetta A, Prechtl HF, Cioni G. General Movements in infants with autism spectrum disorders. *Georgian Med News.* 2008 Mar;(156):100-5.

Pires P, Jungmann P, Galvão JM, Hazin A, Menezes L, Ximenes R, Tonni G, Araujo Júnior E. Neuroimaging findings associated with congenital Zika virus syndrome: case series at the time of first epidemic outbreak in Pernambuco State, Brazil. *Child's Nervous System.* 2018;34(5):957-63.

Pool KL, Adachi K, Karnezis S, Salamon N, Romero T, Nielsen-Saines K, Pone S, Boechat M, Aibe M, Gomes da Silva T, Ribeiro CTM, Boechat MI, Brasil P, Zin A, Tsui I, Gaw SL, Daltro P, Ribeiro BG, Fazecas T, Hygino da Cruz LC, Nogueira R, Vasconcelos Z, Pereira JP Jr, Saad Salles T, Barbosa CN, Chen W, Foo SS, Jung J, Moreira ME, Pone M. Association between neonatal neuroimaging and clinical outcomes in Zika-exposed infants from Rio de Janeiro, Brazil. *JAMA Network Open.* 2019;2(7):e198124.

Prechtl HF. The behavioural states of the newborn infant (a review). *Brain Res.* 1974;76(6):185-212.

Prechtl HFR, Einspieler C, Cioni G, Bos AF, Ferrari F, Sontheimer D. An early marker for neurological deficits after perinatal brain lesions. *Lancet*. 1997;349:1361-3.

Romeo DM, Guzzeta A, Scoto M, Cioni M, Patusi P, Mazzone D, Rome MG. Early neurological assessment in preterm-infants: integration of traditional neurological examination and observation of general movements. *Eur J Paediatr Neurol*. 2008;12(3):183-9.

Roth A, Mercier A, Lepers C, Hoy D, Duituturaga S, Benyon E, Guillaumot L, Souares Y. Concurrent outbreaks of dengue, chikungunya and Zika virus infections – an unprecedented epidemics wave of mosquito-borne viruses in the Pacific 2012-2014. *Euro Suveill*. 2014;19(41). pii:20929.

Rozé B, Najioullah F, Fergé JL, Apetse K, Brouste Y, Cesaire R, Fagour C, Fagour L, Hochedez P, Jeannin S, Joux J, Mehdaoui H, Valentino R, Signate A, Cabié A; GBS Zika Working Group. Zika virus detection in urine from patients with Guillain-Barré syndrome on Martinique. *Euro Suveill*. 2016; 21(9):30154.

Saad T, PennaeCosta AA, de Góes FV, de Freitas M, de Almeida JV, de Santa Ignêz LJ, Amancio AP, Alvim RJ, Kramberger LAA. Neurological manifestations of congenital Zika virus infection. *Childs Nerv Syst*. 2018;34(1):73-8.

Sameroff AJ. Environmental context of child development. *J Pediatr*. 1986;109(1):192-9.

Satterfield-Nash A, Kotzky K, Allen J, Bertolli J, Moore CA, Pereira IO, Pessoa A, Melo F, Santelli ACFS, Boyle CA, Peacock G. 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 Zikavirus outbreak – Brazil, 2017. *MMWR Morb Motal Wkly Rep*. 2017;66(49):1347-51.

Schuler-Faccini L, Ribeiro EM, Feitosa IM, Horovitz DD, Cavalcanti DP, Pessoa A. Possible association between Zika virus infection and microcephaly – Brazil, 2015. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep.* 2016;65:59-62.

Soares-Marangoni DA, Tedesco NM, Nascimento AL, Almeida PR, Santos Pereira CND. General movements and motor outcomes in two infants exposed to Zika virus: brief report. *Dev Neurorehabil.* 2018;22(1):71-4.

Spittle AJ, Spencer-Smith MM, Eeles AL, Lee KJ, Loreface LE, Anderson PJ, Doyle LW. Does the Bayley-III motor scale at 2 years predict motor outcome at 4 years in very preterm children? *Dev Med Child Neurol.* 2013;55(5):448-52.

Stanelle-Bertram S, Walendy-Gnirß K, Speiseder T, Thiele S, Asante IA, Dreier C, Kouassi NM, Preuß A, Pilnitz-Stolze G, Müller U, Thanisch S, Richter M, Scharrenberg R, Kraus V, Dörk R, Schau L, Herder V, Gerhauser I, Pfankuche VM, Käufer C, Walzl I, Moraes T, Sellau J, Hoenow S, Schmidt-Chanasit J, Jansen S, Schattling B, Ittrich H, Bartsch U, Renné T, Bartenschlager R, Arck P, Cadar D, Friese MA, Vapalahti O, Lotter H, Benites S, Rolling L, Gabriel M, Baumgärtner W, Morellini F, Hölter SM, Amarie O, Fuchs H, Hrabe de Angelis M, Löscher W, Calderon de Anda F, Gabriel G. Male offspring born to mildly ZIKV-infected mice are at risk of developing neurocognitive disorders in adulthood. *Nat Microbiol.* 2018;3(10):1161-74.

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(5):587-90.

Tognarelli J, Ulloa S, Villagra E, Lagos J, Aguayo C, Fasce R, Parra B, Mora J, Becerra N, Lagos N, Vera L, Olivares B, Vilches M, Fernández J. A report on the outbreak of Zika virus on Easter Island, South Pacific, 2014. *Arch Virol.* 2016;161(3):665-8.

van der Linden V, Pessoa A, Dobyns W, Barkovich AJ, Júnior HV, Filho EL, Ribeiro EM, Leal MC, Coimbra PP, Aragão MF, Verçosa I, Ventura C, Ramos RC, Cruz DD, Cordeiro MT, Mota VM, Dott M, Hillard C, Moore CA. Description of 13 infants born during October 2015-January 2016 with congenital Zika virus infection without microcephaly birth - Brazil. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep*. 2016;65(47):1343-8.

Valentin T, Uhl K, Einspieler C. The effectiveness of training in Prechtl's method on the qualitative assessment of general movements. *Early Hum Dev*. 2005;81:623-7.

Vohr BR, Stephens BE, Higgins RD, Bann CM, Hintz SR, Das A, Newman JE, Peralta-Carcelen M, Yolton K, Dusick AM, Evans PW, Goldstein RF, Ehrenkranz RA, Pappas A, Adams-Chapman I, Wilson-Costello DE, Bauer CR, Bodnar A, Heyne RJ, Vaucher YE, Dillard RG, Acarregui MJ, McGowan EC, Myers GJ, Fuller J; Eunice Kennedy Shriver National Institute of Child Health and Human Development Neonatal Research Network. Are outcomes of extremely preterm infants improving? Impact of Bayley assessment on outcomes. *J Pediatr*. 2012;161(2):222-8.e3.

Weaver SC, Costa F, Garcia-Blanco MA, Ko AI, Ribeiro GS, Saade G, Shi PY, Vasilakis N. Zika virus: History, emergence, biology, and prospects for control. *Antiviral Res*. 2016;130:69-80.

World Health Organization (WHO). Zika virus microcephaly and Guillain-Barré syndrome. Geneva: World Health Organization, March 17, 2016 Available from:

(http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/204633/1/zikasitrep_17Mar2016_eng.pdf).

Yang H, Einspieler C, Shi W, Marschik PB, Wang Y, Cao Y, Li H, Liao Yan-Gui, Shao Xiao-Mei. Cerebral palsy in children: movements and postures

during early infancy, dependent on preterm vs. full term birth. *Early Hum Dev.* 2012;88:837-43.

Zahed-Cheikh M, Brévaut-Malat V, Busuttil M, Monnier AS, Roussel M, Gire C. Comparative analysis of perinatal and postnatal factors, and general movement in extremely preterm infants. *Brain Dev.* 2011;33(8):656-65.

Zang FF, Yang H, Han Q, Cao JY, Tomantschger I, Kriebler M, Shi W, Luo DD, Zhu M, Einspieler C. Very low birth weight infants in China: the predictive value of the motor repertoire at 3 to 5 months for the motor performance at 12 months. *Early Hum Dev* 2016;100:27-32.

Anexos

ANEXOS

ANEXO 1 - "Avaliação do repertório motor concomitante dos três aos cinco meses de idade" - MOS – *Motor Optimality Score***Assessment of Motor Repertoire - 3 to 5 Months**

Christa Einspieler and Arie Bos, the GM Trust 2000

Ref: Einspieler C, Prechtl HFR, Bos AF, Ferrari F, Cioni G. Prechtl's Method of the Qualitative Assessment of General Movements in Preterm, Term and Young Infants. Clin Dev Med 167. London: MacKeith Press 2004, page 26.

Name:

born: PMA: BW:

Recording Date: Age:

Observed movement patterns:

Number (excl. fidgety mov.)

☐ normal ☐ abnormal

N A fidgety movements

N A swipes	N A hand-mouth contact	N A arching
N A wiggling-oscillating	N A hand-hand contact	N A rolling to side
N A kicking	N A fiddling / cloths, blanket	N A visual scanning
N A excitement bursts	N A reaching	N A hand regard
N A smiles	N A foot-foot contact	N A head antelexion
N A mouth movements	A asym segm movements	A arm movements in circles
A tongue movements	N A legs lift	A absent leg movements
N A head rotation	N A hand-knee contact	A

Observed postural patterns:☐ normal ☐ abnormal

N A head in midline (20 °)	N variable finger postures	A hyperextension of the neck
N A symmetrical	A predominant fisting	A hyperextension of trunk
N A spontaneous ATNR absent or could be overcome	A finger spreading	A extended arms / on / above surface
A body and limbs 'flat' on surface	A few finger postures	A extended legs
	A synchronised opening and closing	

Movement character (global score):

N smooth and fluent	A stiff	A predominantly slow speed
A jerky	A cramped-synchronized	A predominantly fast speed
A monotonous		A predominantly large ampl.
A tremulous		A predominantly small ampl.

Motor Optimality List:

1. Fidgety Movements	normal	☐	12
	abnormal	☐	4
	absent / sporadic	☐	1
± + ++ * **			
2. Repertoire of co-existent other movements	age-adequate	☐	4
	reduced	☐	2
	absent	☐	1
3. Quality of other movements	N > A	☐	4
	N = A	☐	2
	N < A	☐	1
4. Posture	N > A	☐	4
	N = A	☐	2
	N < A	☐	1
5. Movement character	smooth and fluent	☐	4
	abnormal but not CS	☐	2
	cramped-synchronized	☐	1

Motor Optimality Score:

from 28 to 5

ANEXO 2 - Aprovação do Comitê de Ética – CEP/FMUSP 135/16

APROVAÇÃO

O Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, em sessão de 11/05/2016, APROVOU o Protocolo de Pesquisa nº 135/16 intitulado: “CARACTERIZAÇÃO DOS RISCOS PARA DANOS NEUROLÓGICOS E DO DESENVOLVIMENTO NEUROPSICOMOR DE FILHOS DE GESTANTES EXPOSTAS AO VÍRUS ZIKA.” apresentado pelo Departamento de FISIOTERAPIA, FONOAUDIOLOGIA E TERAPIA OCUPACIONAL

Cabe ao pesquisador elaborar e apresentar ao CEP-FMUSP, os relatórios parciais e final sobre a pesquisa (Resolução do Conselho Nacional de Saúde nº 466/12, inciso IX.2, letra "c").

Pesquisador (a) Responsável: Profa. Dra. Renata Hydee Hasue

Pesquisador (a) Executante: Carolina Yuri Panvequio Aizawa

CEP-FMUSP, 11 de Maio de 2016.

Profa. Dra. Maria Aparecida Azevedo Koike Folgueira
Coordenador
Comitê de Ética em Pesquisa

ANEXO 3 – Declaração de colaboração entre o Laboratório de Doenças Febris e Agudas do Instituto Nacional de Infectologia Evandro Chagas, Fiocruz, Rio de Janeiro e o Laboratório de Avaliação Neurofuncional da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, São Paulo

Ministério da Saúde

FIOCRUZ

Fundação Oswaldo Cruz

Instituto Nacional de Infectologia Evandro Chagas

DECLARAÇÃO

Declaro para os devidos fins que o Laboratório de Doenças Febris Agudas do Instituto Nacional de Infectologia Evandro Chagas, Fiocruz, Rio de Janeiro, sob a minha coordenação, colabora com o Laboratório de Avaliação Neurofuncional, de coordenação da Professora Dra. Renata Hydee Hasue, da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.

Com a aprovação do projeto "Caracterização dos riscos para danos neurológicos e do desenvolvimento neuropsicomotor de filhos de gestantes expostas ao vírus Zika", esta colaboração poderá trazer grandes contribuições para a compreensão do espectro de alterações comportamentais decorrentes dos danos neurais relacionados à infecção congênita pelo vírus Zika. Estes resultados serão de fundamental importância para a intervenção oportuna dos lactentes de risco, minimização das futuras deficiências, e de extrema relevância para o delineamento de estratégias de saúde da população.

Rio de Janeiro, 19 de abril de 20 16

Patrícia Brasil
Chefe do Laboratório de Pesquisa Clínica
em Doenças Febris Agudas
INI/FIOCRUZ
Mat. SIAPE 1536499

Patrícia Brasil
Chefe do Laboratório de Pesquisa Clínica em Doenças Febris Agudas
Instituto Nacional de Infectologia Evandro Chagas INI/Fiocruz
(Avenida Brasil 4365, Manguinhos-Rio de Janeiro)

ANEXO 4 – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

FACULDADE DE MEDICINA DA UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO**TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO****DADOS DE IDENTIFICAÇÃO DO SUJEITO DA PESQUISA OU RESPONSÁVEL
LEGAL**

1. NOME:
 DOCUMENTO DE IDENTIDADE Nº : SEXO : .M ☐ F ☐
 DATA NASCIMENTO:/...../.....
 ENDEREÇO Nº APTO:
 BAIRRO:.....CIDADE
 CEP:..... TELEFONE: DDD (.....)
2. RESPONSÁVEL LEGAL
 NATUREZA (grau de parentesco, tutor, curador etc.)
 DOCUMENTO DE IDENTIDADE :.....SEXO: M ☐ F ☐
 DATA NASCIMENTO.:/...../.....
 ENDEREÇO: Nº APTO:
 BAIRRO: CIDADE:
 CEP: TELEFONE: DDD (.....).....

DADOS SOBRE A PESQUISA

1. TÍTULO DO PROTOCOLO DE PESQUISA: **“Caracterização dos riscos para danos neurológicos e do desenvolvimento neuropsicomotor de filhos de gestantes expostas ao vírus Zika”.**
 PESQUISADOR : **Renata Hydee Hasue**
 CARGO/FUNÇÃO: **Professor Doutor** INSCRIÇÃO CONSELHO REGIONAL Nº 21370F
2. AVALIAÇÃO DO RISCO DA PESQUISA:
 RISCO MÍNIMO X RISCO MÉDIO ☐
 RISCO BAIXO ☐ RISCO MAIOR ☐
3. DURAÇÃO DA PESQUISA : 36 meses.....

FACULDADE DE MEDICINA DA UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

Essas informações estão sendo fornecidas para sua participação voluntária neste estudo, que tem como objetivo avaliar o desenvolvimento infantil de bebês durante a gestação e após o nascimento, cujas mães tiveram contato com o vírus Zika.

Serão feitos três exames: 1) durante a gestação, será feito um ultrassom para avaliar se os movimentos dos bebês estão normais ainda durante a gravidez. Este exame será gravado e os movimentos dos bebês dentro da barriga serão analisados por uma equipe especializada; 2) após o nascimento, quando no primeiro e no terceiro mês de idade, o bebê será novamente filmado, deitado, somente de fralda ou com pouca roupa, no próprio consultório médico, por no máximo cinco minutos. Novamente, veremos se os movimentos do bebê estão normais; 3) com 6, 9, 12 e 18 meses de idade, serão feitos alguns testes para saber se o desenvolvimento do bebê está normal. Estes testes são baseados em brincadeiras como argola, boneca, carrinho, quebra-cabeça e outros brinquedos já usados pelos bebês de cada idade para saber se seus movimentos, a inteligência e a fala estão normais. Todos os testes serão realizados com a criança em posição confortável, em uma sala arejada e bem iluminada e ela não será obrigada a realizar os procedimentos caso não queira. Estes testes todos são necessários para saber se estes bebês já têm, ou podem ter, problemas no futuro, e poderemos indicar o tratamento mais adequado para cada criança.

Durante a pesquisa o bebê poderá continuar com todas as suas atividades, e nenhuma atividade que o bebê venha a desenvolver poderá interferir nos resultados. Em qualquer etapa do estudo, o bebê ou responsável terá acesso aos profissionais responsáveis pela pesquisa para esclarecimento de eventuais dúvidas. O principal investigador é a Profa. Dra. Renata Hydee Hasue, que pode ser encontrada no endereço Rua Cipotânea, nº 51, Cidade Universitária. Telefone(s) 3091-8423. Se você tiver alguma consideração ou dúvida sobre a ética da pesquisa, entre em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (CEP-FMUSP): **Av. Dr. Arnaldo, 251 - Cerqueira César - São Paulo - SP -21º andar – sala 36- CEP: 01246-000** Tel: 3893-4401/4407 E-mail: cep.fm@usp.br

A qualquer momento, o bebê ou o responsável está livre para deixar de participar do estudo, sem qualquer prejuízo à continuidade de seu tratamento na Instituição.

As informações obtidas serão analisadas em conjunto com outros pacientes, não sendo divulgada a identificação de nenhum paciente. A criança ou o responsável terá direito de ser atualizado sobre os resultados parciais das pesquisas, quando em estudos abertos, ou de resultados que sejam do conhecimento dos pesquisadores. Não há despesas pessoais para o participante em qualquer fase do estudo, incluindo exames e consultas. Também não há compensação financeira relacionada à sua participação. Se existir qualquer despesa adicional, ela será absorvida pelo orçamento da pesquisa. Os dados e o material coletado somente serão utilizados para esta pesquisa.

Acredito ter sido suficientemente informado a respeito das informações que li ou que foram lidas para mim, descrevendo o estudo **“Caracterização dos riscos para**

danos neurológicos e do desenvolvimento neuropsicomotor de filhos de gestantes expostas ao vírus Zika”.

Eu discuti com a Profa. Dra. Renata Hydee Hasue sobre a minha decisão em participar nesse estudo. Ficaram claros para mim quais são os propósitos do estudo, os procedimentos a serem realizados, seus desconfortos e riscos, as garantias de confidencialidade e de esclarecimentos permanentes. Ficou claro também que minha participação é isenta de despesas e que tenho garantia do acesso a tratamento hospitalar quando necessário. Concordo voluntariamente em participar deste estudo e poderei retirar o meu consentimento a qualquer momento, antes ou durante o mesmo, sem penalidades ou prejuízo ou perda de qualquer benefício que eu possa ter adquirido, ou no meu atendimento neste Serviço.

Assinatura do paciente/representante
legal

Data ____ / ____ / ____

Assinatura da testemunha

Data ____ / ____ / ____

para casos de pacientes menores de 18 anos, analfabetos, semi-analfabetos ou portadores de deficiência auditiva ou visual.

(Somente para o responsável do projeto)

Declaro que obtive de forma apropriada e voluntária o Consentimento Livre e Esclarecido deste paciente ou representante legal para a participação neste estudo.

Assinatura do responsável pelo estudo Data ____ / ____ / ____

ANEXO 5

Original Investigation | Pediatrics

Association of Infants Exposed to Prenatal Zika Virus Infection With Their Clinical, Neurologic, and Developmental Status Evaluated via the General Movement Assessment Tool

Christa Einspieler, PhD; Fabiana Utsch, MD; Patricia Brasil, MD; Carolina Y. Panvequio Aizawa, MS; Colleen Peyton, PhD; Renata Hydee Hasue, PhD; Fernanda França Genovesi, MS; Luana Damasceno, MS; Maria Elisabeth Moreira, MD; Kristina Adachi, MD; Peter B. Marschik, PhD; Karin Nielsen-Saines, MD, MPH; for the GM Zika Working Group

Abstract

IMPORTANCE There is an urgent need to assess neurodevelopment in Zika virus (ZIKV)-exposed infants.

OBJECTIVES To perform general movement assessment (GMA) at 9 to 20 weeks' postterm age and to evaluate whether the findings are associated with neurodevelopmental outcomes at age 12 months in infants prenatally exposed to acute maternal illness with rash in Brazil during the ZIKV outbreak and in age-matched controls.

DESIGN, SETTING, AND PARTICIPANTS In this cohort study, infants prenatally exposed to acute maternal illness with rash were recruited at medical institutions in Rio de Janeiro and Belo Horizonte, Brazil, from February 1, 2016, to April 30, 2017, while infants without any exposure to maternal illness originated from the Graz University Audiovisual Research Database for the Interdisciplinary Analysis of Neurodevelopment. Participants were 444 infants, including 76 infants without congenital microcephaly, 35 infants with microcephaly, and 333 neurotypical children matched for sex, gestational age at birth, and age at GMA.

MAIN OUTCOMES AND MEASURES General movement assessment performed at 9 to 20 weeks' postterm age, with negative predictive value, positive predictive value, sensitivity, and specificity generated, as well as clinical, neurologic, and developmental status (Bayley Scales of Infant and Toddler Development, Third Edition [Bayley-III] scores) at age 12 months. Motor Optimality Scores were generated based on the overall quality of the motor repertoire. Adverse outcomes were defined as a Bayley-III score less than 2 SD in at least 1 domain, a score less than 1 SD in at least 2 domains, and/or atypical neurologic findings.

RESULTS A total of 444 infants were enrolled, including 111 children prenatally exposed to a maternal illness with rash and 333 children without any prenatal exposure to maternal illness (57.7% male and mean [SD] age, 14 [2] weeks for both groups); 82.1% (46 of 56) of ZIKV-exposed infants without congenital microcephaly were healthy at age 12 months. Forty-four of 46 infants were correctly identified by GMA at 3 months, with a negative predictive value of 94% (95% CI, 85%-97%). Seven of 10 ZIKV-exposed children without microcephaly with adverse neurodevelopmental outcomes were identified by GMA. The GMA positive predictive value was 78% (95% CI, 46%-94%), sensitivity was 70% (95% CI, 35%-93%), specificity was 96% (95% CI, 85%-99%), and accuracy was 91% (95% CI, 80%-97%). Children with microcephaly had bilateral spastic cerebral palsy; none had normal movements. The Motor Optimality Score differentiated outcomes: the median Motor Optimality Score was 23 (interquartile range [IQR], 21-26) in children

(continued)

Key Points

Question Is there an association between general movement assessment results and neurodevelopment in infants with vertical Zika virus exposure?

Findings In this cohort study of 444 children, including 111 prenatally exposed to acute maternal illness with rash during the Zika epidemic, general movement assessment was associated with neurodevelopment at age 12 months (94% negative predictive value, 78% positive predictive value, 70% sensitivity, 96% specificity, and 91% accuracy). The Motor Optimality Score was 23 in children with normal development, 12 in children with adverse outcomes, and 5 in children with microcephaly, a significant difference.

Meaning General movement assessment is a helpful tool in the evaluation of neurodevelopment in Zika virus-exposed children.

+ Supplemental content

Author affiliations and article information are listed at the end of this article.

Open Access. This is an open access article distributed under the terms of the CC-BY License.

JAMA Network Open. 2019;2(1):e187235. doi:10.1001/jamanetworkopen.2018.7235

January 18, 2019 1/13

Abstract (continued)

with normal development, 12 (IQR, 8-19) in children with adverse outcomes, and 5 (IQR, 5-6) in children with microcephaly, a significant difference ($P = .001$).

CONCLUSIONS AND RELEVANCE This study suggests that although a large proportion of ZIKV-exposed infants without microcephaly develop normally, many do not. The GMA should be incorporated into routine infant assessments to enable early entry into targeted treatment programs.

JAMA Network Open. 2019;2(1):e187235. doi:10.1001/jamanetworkopen.2018.7235

Introduction

Symptomatic Zika virus (ZIKV) infection of pregnant women is characterized by an acute illness with fatigue and malaise, arthralgia, conjunctivitis, and most characteristically a pruritic rash.¹⁻⁴ Similar symptoms also occur in other mosquito-borne flavivirus infections, such as dengue or chikungunya. Differential diagnosis requires real-time reverse transcriptase-polymerase chain reaction (RT-PCR) assays performed on blood, urine, or both during the acute period of illness.⁵ Serologic testing often poses problems in areas where Zika and dengue viruses cocirculate due to serologic cross-reactivity.

After the 2015-2016 ZIKV epidemic in Brazil, the Americas, and beyond, as well as recognition of the associated neurologic findings in infants with vertical exposure to ZIKV,^{3,6,7} we were confronted with the urgent need to answer multiple questions. What proportion of infants have normal neurologic outcomes after prenatal exposure to maternal Zika infection? At what age can families be reassured that their child will develop normally? Is it possible to anticipate neurologic sequelae? When should early interventions start?

The application of a reliable and valid diagnostic tool, such as the general movement assessment (GMA), to functionally assess the integrity of the developing nervous system may yield particular insights.^{8,9} The GMA, a gestalt-based observational method to classify early motor functions in the first months of life, has shown merits for the prediction of both normal neurodevelopment and adverse outcomes.^{8,10,11}

In this study, we aimed to assess the integrity of the developing nervous system by analyzing the neuromotor repertoire of infants prenatally exposed to ZIKV. In a large multicenter approach, GMA was part of the follow-up protocol of the Zika Rio de Janeiro cohort,² which included infants prenatally exposed to acute maternal illness with rash and/or ZIKV infection. In addition, GMA was used to assess a select sample of infants with microcephaly after congenital ZIKV infection and a large group of age- and sex-matched neurotypical control infants for comparison. Specifically, we aimed (1) to describe global general movement patterns at 3 to 5 months' postterm age (ie, fidgety movements) together with the age-specific concurrent motor repertoire (ie, detailed GMA) and (2) to relate the integrity of neural functions (through global and detailed GMA) to the time of prenatal exposure to maternal illness, preterm birth, and positive vs negative results on RT-PCR assays (for ZIKV infection), as well as relating to the head circumference z score in the case of microcephaly (ie, microcephaly severity) and to outcomes at age 12 months in the case of ZIKV-positive infants (ie, how many infants prenatally exposed to ZIKV were neurotypical developers and how many had adverse findings by age 1 year).

Methods

The study was approved by institutional review boards at the Medical University of Graz (Graz, Austria), the SARAH network of rehabilitation hospitals (Belo Horizonte, Brazil), Fundação Oswaldo Cruz (Fiocruz) (Rio de Janeiro, Brazil), the University of São Paulo (São Paulo, Brazil), the University of

Chicago (Chicago, Illinois), and the University of California (Los Angeles). Written informed consent for recording, storage, and scientific use of audiovisual data was obtained for all infants.

Study Design

This was an observational cohort study composed of 2 groups of children. The study followed the Strengthening the Reporting of Observational Studies in Epidemiology (STROBE) reporting guideline. The first group included children exposed in utero to a maternal exanthematous illness during the ZIKV epidemic in Brazil; the second group included infants without any perinatal ZIKV exposure from the Graz University Audiovisual Research Database for the Interdisciplinary Analysis of Neurodevelopment (GUARDIAN).

Setting

The study was conducted at the SARAH network of rehabilitation hospitals in Belo Horizonte and at Fiocruz in Rio de Janeiro (both in Brazil) and at the Medical University of Graz in Graz, Austria. Infant recruitment for ZIKV-exposed children was from February 1, 2016, and April 30, 2017. Infant follow-up for Bayley Scales of Infant and Toddler Development, Third Edition¹² (Bayley-III) testing was performed until June 2018. Infants without ZIKV exposure were selected from the GUARDIAN database.

Participants

A total of 444 infants were enrolled between February 1, 2016, and April 30, 2017, including 111 children prenatally exposed to an acute maternal illness with rash during the ZIKV epidemic and 333 neurotypical control children (57.7% male and mean [SD] age, 14 [2] weeks for both groups). Seventy-eight infants born to mothers with an acute illness with rash during pregnancy originated from the Rio de Janeiro Zika cohort² (Fiocruz, Rio de Janeiro, Brazil). Two infants had microcephaly at birth; prenatal and perinatal data are published elsewhere.² An additional 33 infants with microcephaly due to congenital Zika syndrome followed up at the SARAH network of rehabilitation hospitals in Belo Horizonte, Brazil, were included. Microcephaly was defined as previously described.² All 35 infants with microcephaly were diagnosed as having disproportionate microcephaly and had clinical and imaging findings consistent with congenital Zika syndrome. Fifty-eight of 78 mothers (74.4%) in Rio de Janeiro tested positive for ZIKV by RT-PCR of blood, urine, or both at the time of rash. The remaining 20 infants were born to mothers with an acute exanthematous illness during pregnancy who tested negative by RT-PCR for ZIKV infection at the time of rash (Figure).

Variables

For infant categorization, infants were enrolled in the exposure category if mothers had an acute illness with rash during pregnancy at the time of the ZIKV outbreak in Brazil. All 111 infants in the exposure category were matched for sex, gestational age at birth, and age at GMA to 3 infants without perinatal ZIKV exposure (n = 333) and with normal Bayley-III scores (Figure). Infants unexposed to ZIKV were randomly selected from the GUARDIAN database, which comprises more than 2000 standardized GMA data sets collected worldwide. Because general movements are endogenously generated motor patterns not influenced by culture or race/ethnicity,⁹ these variables were disregarded as matching criteria.

General Movement Assessment

Details about GMA^{8,9} are provided in the eAppendix in the Supplement. At 9 to 20 weeks' postterm age, infants were videotaped for 4 to 5 minutes of active wakefulness lying in supine position and without manipulation. All children whose mothers tested positive for ZIKV without microcephaly (n = 56) were reassessed at age 12 months. We chose Bayley-III¹² for developmental testing because it is validated cross-culturally for Brazil.¹³ A score below 70 (ie, <2 SD) in the cognitive, language, or

motor domain indicates severe developmental delay.¹² We considered an adverse outcome as (1) a Bayley-III score less than 2 SD in at least 1 developmental domain, (2) a moderate developmental delay (<1 SD) in at least 2 domains (Bayley-III score <85), and/or (3) atypical neurologic findings. Infants of ZIKV-negative mothers (n = 20) did not have Bayley-III performed because they were referred elsewhere for pediatric follow-up once ZIKV infection was excluded. Children with microcephaly (n = 35) could not complete testing due to inability to follow directions. All control infants (n = 333) scored within normal range for all developmental domains (Figure).

Data Sources and Measurement

The GMA and Bayley-III assessments for infants with exposure to maternal illness during pregnancy were conducted prospectively by study personnel in Brazil (F.U., C.Y.P.A., R.H.H., and F.F.G.), with the results recorded in case report forms. Infants without ZIKV exposure were selected from the GUARDIAN database in Graz. The same assessments were performed in both groups of children; study personnel in Brazil were trained by Graz investigators (C.E. and P.B.M.) to perform required study assessments previously obtained for database children.

Bias

Study personnel performing GMA and interpreting the results (C.E., F.U., C.Y.P.A., C.P., R.H.H., F.F.G., and P.B.M.) were masked as to which infants had a confirmed diagnosis of antenatal ZIKV exposure vs maternal rash during pregnancy. Study personnel could not be masked to microcephaly; however, this was taken into consideration. All GMA videotapes were analyzed by at least 2 certified GMA experts (including C.I. and P.B.M.), with interscorer agreements of Cohen or Fleiss κ statistics ranging from 0.88 to 0.96 and intraclass correlation coefficients exceeding 0.90. The GMA experts were masked to the perinatal history, RT-PCR results, and final outcomes of participants. Staff members

Figure. Prospective Cohort of Infants Prenatally Exposed to Acute Maternal Illness With Rash and Neurotypical Controls

Adverse outcomes included neurologic deficits and/or abnormal Bayley Scales of Infant and Toddler Development, Third Edition (Bayley-III) results as defined in the text. Positive and negative for Zika virus by reverse transcriptase-polymerase chain reaction

assay plus infants referred for congenital Zika syndrome. GMFCS indicates Gross Motor Function Classification System.

conducting developmental testing of the ZIKV cohort (C.E., F.U., and M.E.M.) were aware that toddlers were born to ZIKV-infected mothers, but had no information about GMA results. Children with microcephaly did not undergo developmental testing because they all had spastic cerebral palsy Gross Motor Function Classification System level IV, which renders them untestable. Masked assessment was not possible in children with microcephaly.

Study Size

A total of 111 infants were enrolled in the maternal illness exposure cohort; this was the number of infants who came to clinic visits at the participating sites during the age window period necessary for GMA evaluations and whose parents or guardians provided written informed consent. All exposed infants were matched to 3 infants in the database without perinatal ZIKV exposure and with normal Bayley-III scores ($n = 333$), for a total sample size of 444 infants.

Quantitative Variables

Quantitative variables were assessed. These included the Motor Optimality Score (MOS) and number of movement and postural patterns, apart from the core data, such as age, birthweight, and head circumference. The GMA data and Bayley-III scores were analyzed as categorical variables.

Statistical Analysis

Using Pearson χ^2 test or Fisher exact test (2 sided), we compared categorical data (clinical history and GMA) of infants who were prenatally exposed to acute maternal illness with rash (infants of mothers who were ZIKV RT-PCR positive or ZIKV RT-PCR negative and infants with microcephaly after congenital ZIKV infection) vs age-matched controls. To determine whether 2 independent samples (eg, ZIKV positive vs ZIKV negative, infants with congenital ZIKV vs controls, or normal vs adverse outcome) had the same distribution of their continuous variables (eg, MOS⁹), we applied the Mann-Whitney test. Two-sided $P \leq .05$ was considered statistically significant. The sample Pearson product moment correlation coefficient r was applied to calculate the association between head circumference z scores (negative values) and continuous variables obtained through the detailed GMA (MOS and the number of movement or postural patterns). Sensitivity was calculated as $[a / (a + b)]$ and specificity as $[d / (c + d)]$, where a indicates abnormal or absent fidgety movements and adverse outcome (excluding microcephaly), b indicates normal fidgety movements and adverse outcome (excluding microcephaly), c indicates abnormal or absent fidgety movements and normal outcome, and d indicates normal fidgety movements and normal outcome.

Results

While all 333 control infants had normal fidgety movements, none of the 35 infants with microcephaly developed this age-specific motor pattern. Among 76 infants in Rio de Janeiro without microcephaly, 64 (84.2%) had normal fidgety movements, 3 (3.9%) had abnormal exaggerated fidgety movements, and 9 (11.8%) did not show fidgety movements (**Table 1**). The rate of occurrence of aberrant fidgety movements (ie, abnormal or absent) was 15.8% (12 of 76) in infants prenatally exposed to acute maternal illness with rash but without microcephaly (9 infants of ZIKV-positive mothers and 3 infants of ZIKV-negative mothers) (**Table 2**) and 100% (35 of 35) in infants with ZIKV-induced microcephaly.

Infants prenatally exposed to acute maternal illness who did not develop microcephaly (Rio de Janeiro cohort in the Figure) scored significantly lower on the MOS and all 5 subcategories compared with neurotypical controls. Infants with microcephaly (Belo Horizonte cohort and 2 infants with microcephaly from the Rio de Janeiro cohort) scored in the lowest range of the MOS and its 5 subscales (Table 1 and **Table 3**).

Maternal illness occurred in the first trimester of pregnancy (1-12 weeks) in 82.9% (29 of 35) of infants diagnosed as having microcephaly compared with 28.9% (22 of 76) without microcephaly

($P < .001$) (Table 1). Aberrant fidgety movements in children without microcephaly exposed to maternal illness were more frequent after first-trimester exposure (58.3% [7 of 12]) ($P = .04$). The median MOS for infants exposed during the first trimester ranged from 21 (interquartile range [IQR], 11-26) to 24 (IQR, 20-26) when maternal illness occurred during the third trimester ($P = .04$). Five of 10 ZIKV-exposed infants with adverse outcomes at age 12 months were born to mothers with an acute illness and rash during the first trimester of pregnancy (cases 2, 5, 6, 7, and 9 in **Table 4**). Four had no fidgety movements; their MOS was lower (range, 7-17). The ZIKV-positive mothers ($n = 56$) had acute infection with rash more often in the first trimester of pregnancy than the ZIKV-negative mothers ($n = 20$) ($P = .03$) (Table 2). However, the infants' neuromotor repertoire at 3 to 5 months was similar in infants of ZIKV-positive and ZIKV-negative mothers (Table 2).

Table 1. Clinical Characteristics and Motor Behavior at 3 to 5 Months' Postterm Age

Variable	Infants Without Microcephaly (n = 76) ^a	Infants With Microcephaly (n = 35) ^b	Neurotypical Controls (n = 333)	P Value ^c
Male, No. (%)	45 (59.2)	19 (54.3)	192 (57.7)	NA ^d
Preterm birth, No. (%)				
<34 wk gestation	2 (2.6)	0	6 (1.8)	NA ^d
34-36 + 6 wk gestation	8 (10.5)	5 (14.3)	39 (11.7)	
Weeks of gestation at the time of infection, wk, No. (%)				
≤13	22 (28.9)	29 (82.9)	NA	<.001 ^{c,e}
14-28	42 (55.3)	6 (17.1)	NA	
≥29	12 (15.8)	0	NA	
Age at GMA, wk, No. (%)				
9-12	26 (34.2)	17 (48.6)	129 (38.7)	NA ^d
13-16	44 (57.9)	14 (40.0)	174 (52.3)	
17-20	6 (7.9)	4 (11.4)	30 (9.0)	
Fidgety movements, No. (%) ^f				
Normal	64 (84.2)	0	333 (100)	NA
Abnormal exaggerated	3 (3.9)	0	0	
Absent	9 (11.8)	35 (100)	0	
Motor Optimality Score				
Median (IQR) [range]	23 (19-26) [7-28]	5 (5-6) [5-9]	26 (24-28) [21-28]	<.001 ^g
Optimal range of 25-28, No. (%)	22 (28.9)	0	231 (69.4)	<.001 ^e
Reduced ≤24, No. (%)	54 (71.1)	35 (100)	102 (30.6)	
Repertoire, No. (%)				
Age adequate	35 (46.1)	1 (2.9)	246 (73.9)	<.001 ^e
Not age adequate	41 (53.9)	34 (97.1)	87 (26.1)	
Movement patterns, apart from fidgety movements, median (IQR)				
Normal	3 (2-5)	0 (0-1)	5 (4-7)	<.001 ^g
Abnormal	1 (0-2)	4 (3-6)	0 (0-1)	<.001 ^g
Postural patterns, median (IQR)				
Normal	3 (2-3)	1 (1-1)	3 (3-4)	<.001 ^g
Abnormal	2 (1-3)	6 (5-8)	1 (0-2)	<.001 ^g
Movement character, No. (%) ^h				
Smooth and fluent	12 (15.8)	0	149 (44.7)	<.001 ^e
Stiff	22 (28.9)	33 (94.3)	59 (17.7)	<.001 ^e
Monotonous	38 (50.0)	34 (97.1)	89 (26.7)	<.001 ^e
Cramped-synchronized ⁱ	0	19 (54.3)	0	NA

Abbreviations: GMA, general movement assessment; IQR, interquartile range; NA, not applicable.

^a Refers to 76 infants without microcephaly from the Rio de Janeiro cohort who were prenatally exposed to acute maternal illness with rash and whose mothers were referred to Fundação Oswaldo Cruz (Fiocruz) in Rio de Janeiro, Brazil. Prenatal and perinatal data are reported elsewhere.²

^b Refers to 33 infants from the Belo Horizonte cohort plus 2 infants with microcephaly from the Rio de Janeiro cohort.

^c The statistics compare infants without microcephaly vs infants with microcephaly.

^d Matching criteria.

^e Pearson χ^2 test or Fisher exact test.

^f Normal fidgety movements are small movements of moderate speed with variable acceleration of the neck, trunk, and limbs in all directions; abnormal fidgety movements have a greater amplitude, speed, and jerkiness. Whenever fidgety movements are missing altogether from 9 to 20 weeks' postterm age, this abnormality is called *absent fidgety movements*.⁹

^g Mann-Whitney test.

^h Because only the most frequently occurring movement characters are listed here, the percentages do not sum to 100%.

ⁱ A cramped-synchronized movement characteristic denotes stiff movements; limb and trunk muscles contract almost simultaneously and then relax almost simultaneously.⁹

There was no difference in gestational age at birth between infants exposed to acute maternal illness with or without microcephaly (Table 1). Neither the presence of aberrant fidgety movements nor the MOS was associated with preterm birth. However, both infants without microcephaly in the Rio de Janeiro cohort born at less than 34 weeks' gestation (Table 1) had adverse outcomes at age 12 months (cases 4 and 10 in Table 4).

Four infants were diagnosed as having moderate microcephaly (z score <-2); the remaining 31 infants had severe microcephaly (z score <-3). The MOS was not associated with head circumference z scores (Pearson $r = -0.048$, $P = .79$). However, the more negative the z score was (ie, the smaller the head circumference), the more abnormal were the movement patterns (Pearson $r = 0.370$, $P = .03$). One patient developed secondary microcephaly (normocephalic at birth but with subsequent postnatal microcephaly) with absent fidgety movements; the MOS was 8 (case 5 in Table 4).

One infant with microcephaly due to congenital ZIKV infection died at 11 months. All 34 children with congenital microcephaly had bilateral spastic cerebral palsy with Gross Motor Function Classification System¹⁴ level V. They were unable to maintain antigravity head and trunk postures in prone and sitting positions and required caregiver assistance to roll. Twenty-seven of 34 children (79.4%) had epilepsy.

Table 2. Motor Behavior at 3 to 5 Months' Postterm Age in the Rio de Janeiro Cohort (Excluding 2 Infants With Microcephaly) by Maternal Positive vs Negative Real-time RT-PCR Assays

Variable	Positive for ZIKV by RT-PCR Assay (n = 56)	Negative for ZIKV by RT-PCR Assay (n = 20)	P Value
Weeks of gestation at the time of infection, wk, No. (%)			
≤13	20 (35.7)	2 (10.0)	
14-28	26 (46.4)	16 (80.0)	.03 ^a
≥29	10 (17.9)	2 (10.0)	
Fidgety movements, No. (%)			
Normal	47 (83.9)	17 (85.0)	
Abnormal exaggerated	2 (3.6)	1 (5.0)	.93 ^a
Absent	7 (12.5)	2 (10.0)	
Motor Optimality Score			
Median (IQR) [range]	23 (18-26) [7-28]	23 (21-26) [7-27]	.57 ^b
Optimal range of 25-28, No. (%)	16 (28.6)	6 (30.0)	.90 ^a
Reduced ≤24, No. (%)	40 (71.4)	14 (70.0)	

Abbreviations: IQR, interquartile range; RT-PCR, reverse transcriptase-polymerase chain reaction; ZIKV, Zika virus.

^a Pearson χ^2 test or Fisher exact test.

^b Mann-Whitney test.

Table 3. Abnormal Postural Patterns

Variable	No. (%)			P Value ^c
	Infants Without Microcephaly (n = 76) ^a	Infants With Microcephaly (n = 35) ^b	Neurotypical Controls (n = 333)	
Head not kept in midline	22 (28.9)	30 (85.7)	64 (19.2)	.10
Asymmetric body posture	49 (64.5)	32 (91.4)	109 (32.7)	<.001
Persistent asymmetric tonic neck posture	0	9 (25.7)	0	NA
Hyperextension of neck and/or trunk	0	26 (74.3)	1 (0.3)	NA
Long-lasting extension of arms	12 (15.8)	6 (17.1)	38 (11.4)	.29
Long-lasting extension of legs	9 (11.8)	32 (91.4)	26 (7.8)	.26
External rotation and abduction of hips	20 (26.3)	1 (2.9)	11 (3.3)	<.001
Lack of variable finger movements	26 (34.2)	35 (100)	77 (23.1)	.08
Finger spreading	7 (9.2)	18 (51.4)	1 (0.3)	<.001
Spreading of toes	0	18 (51.4)	0	NA

Abbreviation: NA, not applicable.

^a Refers to 76 infants without microcephaly from the Rio de Janeiro cohort who were prenatally exposed to acute maternal illness with rash and whose mothers were referred to Fundação Oswaldo Cruz (Fiocruz) in Rio de Janeiro, Brazil. Prenatal and perinatal data are reported elsewhere.²

^b Refers to 33 infants from the Belo Horizonte cohort plus 2 infants with microcephaly from the Rio de Janeiro cohort.

^c Infants without microcephaly vs neurotypical controls (Pearson χ^2 test or Fisher exact test).

The neurodevelopmental outcomes of 56 children prenatally exposed to ZIKV without congenital microcephaly were abnormal for 10 children (cases 1-10 in Table 4); 82.1% (46 of 56) of ZIKV-exposed infants without congenital microcephaly were healthy at age 12 months. Forty-four of 46 infants (95.7%) whose development was considered normal at age 12 months (Bayley-III scores within normal range or <1 SD in a single domain with normal neurologic findings) had normal fidgety movements ($P < .001$) and were correctly identified by GMA at 3 months. Two children with abnormal exaggerated fidgety movements were considered normal at age 12 months (cases 11 and 12 in Table 4). The negative predictive value was 94% (95% CI, 85%-97%). Seven of 10 ZIKV-exposed children without microcephaly with adverse neurodevelopmental outcomes were identified by GMA. Of 10 ZIKV-exposed children without microcephaly with an adverse outcome at age 12 months, 7 were identified by absent fidgety movements (cases 1-7 in Table 4). The remaining 3 had normal fidgety movements (cases 8-10 in Table 4). The GMA positive predictive value was 78% (95% CI, 46%-94%). Sensitivity was 70% (95% CI, 35%-93%), and specificity was 96% (95% CI, 85%-99%). Accuracy was 91% (95% CI, 80%-97%). The MOS also differentiated between normal and adverse outcomes: children with normal outcomes whose mothers were ZIKV positive had a median MOS of 23 (IQR, 21-26), while children with an adverse outcome had a median MOS of 12 (IQR, 8-19) ($P = .001$). The median MOS in children with microcephaly was 5 (IQR, 5-6).

Discussion

With the exception of a recent case report,¹⁵ our study is the first to perform a detailed functional analysis of the developing nervous system in infants with prenatal ZIKV exposure. We aimed to describe early motor functions and to search for potential markers of the neurodevelopmental outcomes at age 12 months after ZIKV exposure. We observed that infants aged 3 to 5 months prenatally exposed to ZIKV who did not develop congenital microcephaly moved less optimally compared with neurotypical controls. The number of normal age-specific movement patterns was

Table 4. Brain Imaging, Fidgety Movements, and Motor Optimality Score, as Well as Outcome at Age 12 Months in Infants Exposed to ZIKV In Utero (Rio de Janeiro Cohort, Excluding 2 Infants With Microcephaly)

Case No.	Gestational Age at Birth, wk	Weeks of Gestation at the Time of ZIKV Infection, wk	Brain Imaging	Fidgety Movements	Motor Optimality Score	Outcome at Age 12 mo
1	35	27	IVH grade 1, small focus of periventricular cerebritis left, basal ganglia vasculopathy	Absent	10	Bayley-III <2 SD (language), hyperreflexia and hypertonia right > left
2	39	12	Normal	Absent	7	Bayley-III <2 SD (motor)
3	37	18	Normal	Absent	14	Bayley-III <1 SD (motor), dystonia, neurodevelopmental delay by neurologic examination
4	31	30	Normal	Absent	8	Bayley-III not available, neurologic and behavioral deficits
5	39	10	Brain atrophy, calcifications	Absent	8	Bayley-III not available, secondary microcephaly, neurologically impaired, seizures
6	36	11	Hydrocephaly	Absent	12	Bayley-III <1 SD (language), neurologically impaired
7	38	10	Normal	Absent	11	Bayley-III <1 SD (cognition and language)
8	39	38	IVH grade 1	Normal	28	Bayley-III <2 SD (language)
9	39	6	Normal	Normal	17	Bayley-III <2 SD (cognitive, language)
10	32	22	Periventricular calcifications, dolichocephaly	Normal	24	Bayley-III not available, macular hypoplasia, neurodevelopmental delay, hypertonia of lower limbs
11	38	29	Normal	Abnormal	14	Bayley-III <1 SD (language), neurologically normal
12 ^a	37	12	Normal	Abnormal	11	Bayley-III normal, neurologically normal
13-56	NA	NA	Normal (29 of 44), abnormal (10 of 44), not done (5 of 44)	Normal (44 of 44)	17-28	Bayley-III normal (29 of 44), Bayley-III <1 SD in a single domain (10 of 44), Bayley-III not available (5 of 44), neurologically normal (44 of 44)

Abbreviations: Bayley-III, Bayley Scales of Infant and Toddler Development, Third Edition; IVH, intraventricular hemorrhage; NA, not applicable; ZIKV, Zika virus.

^a Fetal development was compromised by oligohydramnios.

reduced, and the quality of movements was altered (eAppendix in the [Supplement](#)). However, a similar observation was made in 20 infants whose prenatal exposure to acute maternal illness with rash could not be attributed to ZIKV and was possibly due to prenatal chikungunya exposure instead. The results of some studies suggest that chikungunya virus may compromise the developing nervous system in a similar but more subtle way.¹⁶

The most predictive movement patterns identified at 3 to 5 months' postterm age are fidgety general movements. Infants with normal, continual fidgety movements are likely to develop neurotypically, whereas the lack of fidgety movements is a reliable marker for later neurologic deficits, most extensively associated with cerebral palsy.^{8,10,11,17-19} Because all 35 children with congenital microcephaly in the present study were diagnosed as having spastic cerebral palsy (Gross Motor Function Classification System level V) at around age 1 year, the lack of fidgety movements in this subgroup reflects the large body of evidence relating the absence of fidgety movements to development of cerebral palsy. Microscopic neuropathological changes described in infants with congenital microcephaly include necrosis-targeting neurons and degenerative changes of glia and neuronal cells, white matter loss, microcalcifications, and microglial aggregates,²⁰ which translate into a lack of fidgety movements. Furthermore, we observed herein an association between head circumference and neurofunctional representation: the smaller the head circumference was, the more abnormal were the movement patterns noted. Apart from the absence of fidgety movements, infants with microcephaly had few normal movement patterns.

There were 9 infants among 76 in the nonmicrocephalic cohort (11.8%) who did not develop fidgety movements. Seven of them had confirmed prenatal exposure to ZIKV and an adverse outcome at age 12 months (cases 1-7 in Table 4). In 4 cases, the absence of fidgety movements identified infants at high risk of developing adverse outcomes, even with normal brain imaging results.

It is well known that maternal infections, particularly early in pregnancy, are associated with congenital microcephaly or other central nervous system abnormalities.^{20,21} Our study contributes to the discussion on the timing of maternal ZIKV infection because absent fidgety movements occurred more often when infants were exposed to maternal infection in the first trimester. Infants with a lack of fidgety movements attracted our attention because of their long-lasting wiggling-oscillating arm and/or leg movements, sometimes even wiggling neck movements, and occurring repetitive and/or long-lasting tongue protrusion.

To date, few studies have demonstrated that neurologic development of infants with congenital ZIKV infection can be abnormal in children without microcephaly.^{22,23} Cardoso and colleagues²³ described neurologic signs in 19 infants born to mothers infected with ZIKV who did not develop microcephaly; 13 (68.4%) were initially seen with hypertonia. We observed stiff movements in one-third of the Rio de Janeiro cohort, including most infants with microcephaly. A stiff and/or monotonous movement characteristic also occurred in neurotypical controls, although less frequently. Ten-year outcomes of preterm infants demonstrated that children with monotonous, jerky, and/or stiff movement at 3 to 5 months have reduced cognitive functioning at school age.²⁴ Eighty-six percent of infants (96 of 111) in our cohort were born at term, so it is unknown if a less optimal movement characteristic would be associated with school performance years later.

Apart from 333 neurotypical controls with normal fidgety movements at 3 to 5 months and a Bayley-III score exceeding 85 at their follow-up assessment (100% specificity), normal fidgety movements in the Rio de Janeiro cohort were associated with normal development at age 12 months, with a specificity of 96%. Conversely, the absence of fidgety movements was associated with an adverse outcome at age 12 months, with a sensitivity of 70%. Whereas the specificity coincides with that of previous studies^{8,10,11} irrespective of the outcome assessment age, the sensitivity in the present study is lower than the summary estimate (98%) for outcomes at 2 to 3 years^{10,11} but is in line with other studies reporting outcome assessments at age 12 months. With sensitivity ranging from 60% to 80%, the absence of fidgety movements was similar to that in our study and was related to lower scores in various developmental tests in a convenience high-risk sample in the United States,²⁵

among infants after neonatal surgery in Australia,²⁶ and in very low-birth-weight infants in China²⁷ and India,²⁸ as well as to any pathological findings in the 12-month neurologic examination.^{19,29} We acknowledge that an outcome at such a young age may be preliminary; some disorders might be diagnosed later in childhood, and milder forms of dysfunction may subsequently resolve. The predictive power of abnormal fidgety movements is known to be low,^{8,9} although a considerable number of infants with abnormal fidgety movements were described among individuals prenatally exposed to maternal opiate abuse and/or HIV who ultimately developed various neurodevelopmental and psychiatric impairments.³⁰

Considering that ZIKV is strongly neurotropic, targeting not only neural progenitor cells but also neurons and other brain cells,²⁰ our proportion of infants with normal fidgety movements at 3 to 5 months and normal neurodevelopment at age 12 months (78.6% [44 of 56]) was reassuring. We confirmed that GMA provides an opportunity to identify children with normal development. The high specificity of GMA is useful because it may help limit unnecessary referral of infants to heavily burdened rehabilitation services, especially in low- and middle-income countries. Implementing GMA may also facilitate prompt referral to such services, which can optimize development, prevent secondary complications, and enhance family well-being. In this context, we emphasize that GMA is easy to apply and is a cost-effective method, especially for low- and middle-income countries.^{9,28}

Limitations

Given the study complexity, there were limitations related to data availability. For our comprehensive assessment of endogenously generated motor behavior during the first months of life, we assessed 44.8% (56 of 125) of the original Zika Rio de Janeiro cohort.² The main reason for the reduced sample size is that infants were followed up at different sites throughout Rio de Janeiro, which reduced patient availability for GMA assessments. In addition, GMA evaluations were performed at strict intervals, and often infants were either too young or too old within the time frame for this assessment. Another study limitation is that many mothers with negative ZIKV RT-PCR results opted not to continue long-term developmental follow-up of their infants. For this reason, Bayley-III assessments were not available for infants of ZIKV-negative mothers.

Conclusions

Our study provides insight into the spectrum of both neurologic sequelae and normal outcomes observed from age 3 to 12 months in children prenatally exposed to maternal ZIKV infection. Most ZIKV-exposed children without microcephaly (82.1% [46 of 56]) were classified as healthy at age 12 months. Because the true rate of transmission of ZIKV from mother to child is unknown, the association of GMA with sequelae due to ZIKV could actually be superior to the results reported herein if the population of infants evaluated was composed solely of infected infants rather than exposed. Further investigation of long-term sequelae in ZIKV-exposed infants, such as late presenting developmental disorders, is required. Our findings demonstrate that children with adverse outcomes can be reliably identified by GMA, which is a valid complementary assessment tool. We recommend its incorporation for routine assessment of infants prenatally exposed to acute maternal illnesses. General movement assessment will help identify infants who may benefit from targeted intervention programs.

ARTICLE INFORMATION

Accepted for Publication: November 29, 2018.

Published: January 18, 2019. doi:10.1001/jamanetworkopen.2018.7235

Open Access: This is an open access article distributed under the terms of the [CC-BY License](#). © 2019 Einspieler C et al. *JAMA Network Open*.

Corresponding Author: Karin Nielsen-Saines, MD, MPH, Division of Pediatric Infectious Diseases, Department of Pediatrics, David Geffen School of Medicine, University of California, Los Angeles, Marion Davies Children's Clinic, Room 22-442, 10833 LeConte Ave, Los Angeles, CA 90095 (knielsen@mednet.ucla.edu).

Author Affiliations: Interdisciplinary Developmental Neuroscience-iDN, Medical University of Graz, Graz, Austria (Einspieler, Marschik); Rede SARAH de Hospitais de Reabilitação, Reabilitação Infantil, Belo Horizonte, Brazil (Utsch); Laboratório de Doenças Febris Agudas, Instituto Nacional de Infectologia Evandro Chagas (INI), Fundação Oswaldo Cruz (Fiocruz), Rio de Janeiro, Brazil (Brasil, Damasceno); Department of Physical Therapy, Communication Sciences & Disorders, and Occupational Therapy, Faculty of Medicine, University of São Paulo, São Paulo, Brazil (Panvequio Aizawa, Hydee Hasue, Françoso Genovesi); Department of Physical Therapy and Human Movement Science, Northwestern University, Chicago, Illinois (Peyton); Department of Pediatrics, University of Chicago, Chicago, Illinois (Peyton); Department of Pediatrics, Instituto Fernandes Figueira, Fiocruz, Rio de Janeiro, Brazil (Moreira); Division of Pediatric Infectious Diseases, Department of Pediatrics, David Geffen School of Medicine, University of California, Los Angeles (Adachi, Nielsen-Saines); Interdisciplinary Developmental Neuroscience-iDN, Department of Child and Adolescent Psychiatry and Psychotherapy, University Medical Center Göttingen, Göttingen, Germany (Marschik); Center of Neurodevelopmental Disorders (KIND), Department of Women's and Children's Health, Karolinska Institutet, Stockholm, Sweden (Marschik).

Author Contributions: Dr Einspieler had full access to all of the data in the study and takes responsibility for the integrity of the data and the accuracy of the data analysis. Drs Einspieler and Utsch contributed equally to this work. Drs Marschik and Nielsen-Saines are co-senior authors.

Concept and design: Einspieler, Utsch, Brasil, Hydee Hasue, Marschik, Nielsen-Saines.

Acquisition, analysis, or interpretation of data: All authors.

Drafting of the manuscript: Einspieler, Brasil, Peyton, Françoso Genovesi, Marschik, Nielsen-Saines.

Critical revision of the manuscript for important intellectual content: Einspieler, Utsch, Brasil, Panvequio Aizawa, Peyton, Hydee Hasue, Damasceno, Moreira, Adachi, Marschik, Nielsen-Saines.

Statistical analysis: Einspieler.

Obtained funding: Françoso Genovesi, Moreira, Marschik.

Administrative, technical, or material support: Einspieler, Utsch, Panvequio Aizawa, Peyton, Hydee Hasue, Françoso Genovesi, Damasceno, Moreira, Marschik, Nielsen-Saines.

Supervision: Brasil, Hydee Hasue, Moreira, Marschik, Nielsen-Saines.

Conflict of Interest Disclosures: Dr Einspieler reported being a certified tutor of the Prechtl General Movement Assessment. Dr Peyton reported receiving support from the General Movements Trust. Dr Moreira reported receiving grants from Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (grant 441098), Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro, and Wellcome Trust and the United Kingdom's Department for International Development (grant 205377/Z/16/Z) and reported receiving grants and personal fees from Fundação Oswaldo Cruz (Fiocruz) Ministério da Saúde and from the European Union's Horizon 2020 research and innovation programme under Zika Preparedness Latin American Network (ZikaPLAN) grant 734584. Dr Adachi reported receiving grants from the Thrasher Research Foundation. Dr Marschik reported receiving grants from the Bill and Melinda Gates Foundation. No other disclosures were reported.

Funding/Support: Drs Brasil, Moreira, and Nielsen-Saines were supported by grants AI28697 and AI259534-01 from the National Institute of Allergy and Infectious Diseases of the National Institutes of Health (NIH), by grant AI29847-01 from the National Eye Institute of the NIH, and by the Thrasher Foundation. Dr Marschik was supported by the Bill and Melinda Gates Foundation Grand Challenges Explorations (grant OPP 1128871).

Role of the Funder/Sponsor: The funding sources had no role in the design and conduct of the study; collection, management, analysis, and interpretation of the data; preparation, review, or approval of the manuscript; and decision to submit the manuscript for publication.

Group Information: The GM Zika Working Group members are Katrin D. Bartl-Pokorny, Iris Kriebler-Tomantschger, Magdalena Kriebler-Tomantschger, Laura Langmann, Robert Peharz, Florian B. Pokorny, and Dajie Zhang (Interdisciplinary Developmental Neuroscience-iDN, Medical University of Graz, Graz, Austria); Cinthia Ramos, Diniz Silva, Alberto Reis, Elaine Alves, Sandra Alvarenga Passos, and Roberto Velloso Filho (Rede SARAH de Hospitais de Reabilitação, Reabilitação Infantil, Belo Horizonte, Brazil); and Felicitas Dobaja, Jasmin Pansy, and Anna Scheuchengger (Department of Pediatrics, Medical University of Graz, Graz, Austria).

REFERENCES

1. Rice ME, Galang RR, Roth NM, et al. *Vital Signs: Zika-associated birth defects and neurodevelopmental abnormalities possibly associated with congenital Zika virus infection: U.S. territories and freely associated states*. 2018. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep*. 2018;67(31):858-867. doi:10.15585/mmwr.mm6731e1

2. Brasil P, Pereira JP Jr, Moreira ME, et al. Zika virus infection in pregnant women in Rio de Janeiro. *N Engl J Med*. 2016;375(24):2321-2334. doi:10.1056/NEJMoa1602412
3. Adachi K, Nielsen-Saines K. Zika clinical updates: implications for pediatrics. *Curr Opin Pediatr*. 2018;30(1):105-116. doi:10.1097/MOP.0000000000000582
4. Rasmussen SA, Jamieson DJ, Honein MA, Petersen LR. Zika virus and birth defects: reviewing the evidence for causality. *N Engl J Med*. 2016;374(20):1981-1987. doi:10.1056/NEJMs1604338
5. Lanciotti RS, Kosoy OL, Laven JJ, et al. Genetic and serologic properties of Zika virus associated with an epidemic, Yap State, Micronesia, 2007. *Emerg Infect Dis*. 2008;14(8):1232-1239. doi:10.3201/eid1408.080287
6. Wu S, Zeng Y, Lerner A, Gao B, Law M. Nervous system injury and neuroimaging of Zika virus infection. *Front Neurol*. 2018;9:227. doi:10.3389/fneur.2018.00227
7. Solomon T, Baylis M, Brown D. Zika virus and neurological disease: approaches to the unknown. *Lancet Infect Dis*. 2016;16(4):402-404. doi:10.1016/S1473-3099(16)00125-0
8. Prechtl HF, Einspieler C, Cioni G, Bos AF, Ferrari F, Sontheimer D. An early marker for neurological deficits after perinatal brain lesions. *Lancet*. 1997;349(9062):1361-1363. doi:10.1016/S0140-6736(96)10182-3
9. Einspieler C, Prechtl HF, Bos AF, Ferrari F, Cioni G. *Prechtl's Method on the Qualitative Assessment of General Movements in Preterm, Term and Young Infants*. London, United Kingdom: MacKeith Press; 2004. Series of Clinics in Developmental Medicine.
10. Bosanquet M, Copeland L, Ware R, Boyd R. A systematic review of tests to predict cerebral palsy in young children. *Dev Med Child Neurol*. 2013;55(5):418-426. doi:10.1111/dmnc.12140
11. Novak I, Morgan C, Adde L, et al. Early, accurate diagnosis and early intervention in cerebral palsy: advances in diagnosis and treatment. *JAMA Pediatr*. 2017;171(9):897-907. doi:10.1001/jamapediatrics.2017.1689
12. Bayley N. *Bayley Scales of Infant and Toddler Development*. 3rd ed. San Antonio, TX: Harcourt Assessment Inc; 2006.
13. Madaschi V, Pontrelli Mecca T, Countinho Macedo E, Silvestre Paula C. Bayley-III scales of infant and toddler development: transcultural adaptation and psychometric properties. *Paidéia*. 2016;26(64):189-197. doi:10.1590/1982-43272664201606
14. Palisano RJ, Rosenbaum P, Bartlett D, Livingston MH. Content validity of the expanded and revised Gross Motor Function Classification System. *Dev Med Child Neurol*. 2008;50(10):744-750. doi:10.1111/j.1469-8749.2008.03089.x
15. Soares-Marangoni DA, Tedesco NM, Nascimento AL, Almeida PR, Santos Pereira CN. General movements and motor outcomes in two infants exposed to Zika virus: brief report [published online February 16, 2018]. *Dev Neurorehabil*.
16. Mehta R, Gérardin P, de Brito CA, Soares CN, Ferreira ML, Solomon T. The neurological complications of chikungunya virus: a systematic review. *Rev Med Virol*. 2018;28(3):e1978. doi:10.1002/rmv.1978
17. Burger M, Louw QA. The predictive validity of general movements: a systematic review. *Eur J Paediatr Neurol*. 2009;13(5):408-420. doi:10.1016/j.ejpn.2008.09.004
18. Darsaklis V, Snider LM, Majnemer A, Mazer B. Predictive validity of Prechtl's Method on the Qualitative Assessment of General Movements: a systematic review of the evidence. *Dev Med Child Neurol*. 2011;53(10):896-906. doi:10.1111/j.1469-8749.2011.04017.x
19. Morgan C, Crowle C, Goyen TA, et al. Sensitivity and specificity of General Movements Assessment for diagnostic accuracy of detecting cerebral palsy early in an Australian context. *J Paediatr Child Health*. 2016;52(1):54-59. doi:10.1111/jpc.12995
20. Alvarado MG, Schwartz DA. Zika virus infection in pregnancy, microcephaly, and maternal and fetal health: what we think, what we know, and what we think we know. *Arch Pathol Lab Med*. 2017;141(1):26-32. doi:10.5858/arpa.2016-0382-RA
21. França GV, Schuler-Faccini L, Oliveira WK, et al. Congenital Zika virus syndrome in Brazil: a case series of the first 1501 livebirths with complete investigation. *Lancet*. 2016;388(10047):891-897. doi:10.1016/S0140-6736(16)30902-3
22. van der Linden V, Pessoa A, Dobyns W, et al. Description of 13 infants born during October 2015-January 2016 with congenital Zika virus infection without microcephaly at birth: Brazil. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep*. 2016;65(47):1343-1348. doi:10.15585/mmwr.mm6547e2
23. Cardoso TF Jr, Santos RS, Corrêa RM, et al. Congenital Zika infection: neurology can occur without microcephaly [published online June 1, 2018]. *Arch Dis Child*.

24. Einspieler C, Bos AF, Libertus ME, Marschik PB. The General Movements Assessment helps us to identify preterm infants at risk for cognitive dysfunction. *Front Psychol*. 2016;7:406. doi:10.3389/fpsyg.2016.00406
25. Ricci E, Einspieler C, Craig AK. Feasibility of using General Movements Assessment of infants in the United States. *Phys Occup Ther Pediatr*. 2018;38(3):269-279. doi:10.1080/01942638.2017.1395380
26. Crowle C, Galea C, Walker K, Novak I, Badawi N. Prediction of neurodevelopment at one year of age using the General Movements Assessment in the neonatal surgical population. *Early Hum Dev*. 2018;118:42-47. doi:10.1016/j.earlhumdev.2018.02.001
27. Zang FF, Yang H, Han Q, et al. Very low birth weight infants in China: the predictive value of the motor repertoire at 3 to 5 months for the motor performance at 12 months. *Early Hum Dev*. 2016;100:27-32. doi:10.1016/j.earlhumdev.2016.03.010
28. Adde L, Thomas N, John HB, et al. Early motor repertoire in very low birth weight infants in India is associated with motor development at one year. *Eur J Paediatr Neurol*. 2016;20(6):918-924. doi:10.1016/j.ejpn.2016.07.019
29. Soleimani F, Badv RS, Momayezi A, Biglarian A, Marzban A. General movements as a predictive tool of the neurological outcome in term born infants with hypoxic ischemic encephalopathy. *Early Hum Dev*. 2015;91(8):479-482. doi:10.1016/j.earlhumdev.2015.05.007
30. Palchik AB, Einspieler C, Evstafeyeva IV, Talisa VB, Marschik PB. Intra-uterine exposure to maternal opiate abuse and HIV: the impact on the developing nervous system. *Early Hum Dev*. 2013;89(4):229-235. doi:10.1016/j.earlhumdev.2013.02.004

SUPPLEMENT.**eAppendix.** Supplemental Appendix

ANEXO 6

The new england journal of medicine

Correspondence

Neurodevelopment in Infants Exposed to Zika Virus In Utero

To the Editor: During the Zika virus (ZIKV) epidemic in Rio de Janeiro from September 2015 through June 2016, a prospective cohort study involving symptomatic pregnant women who had ZIKV infection confirmed by reverse-transcriptase–polymerase-chain-reaction assay was established.¹ The study was approved by the institutional review boards at Fundação Oswaldo Cruz in Rio de Janeiro and the University of California, Los Angeles, and all the women provided written informed consent for themselves and their children.

A total of 182 children who were exposed to ZIKV in utero were followed longitudinally with specialized testing (Fig. S1 in the Supplementary Appendix, available with the full text of this letter at NEJM.org). Of these children, 131 (72%) were brought by their parents for at least one of the following evaluations: brain imaging (in 115 children), complete eye examinations (in 112),² assessment with the Bayley Scales of Infant and Toddler Development, third edition (Bayley-III)³ (in 104), and assessment of brain-stem auditory evoked response (in 49). Brain-imaging studies consisted of transfontanelle cerebral ultrasonography (in 98 children), computed tomography (in 25), magnetic resonance imaging (MRI) (in 47), or all of these tests; 45 children who underwent brain imaging (39%) underwent more than one type of study. Transfontanelle cerebral ultrasonography was usually performed first, and further imaging was performed according to clinical discretion.

Trained personnel assessed 104 children who were between 12 months and 18 months of age and who had similar socioeconomic backgrounds. Bayley-III, a developmental tool validated cross-culturally in Brazil,⁴ was used to assess three domains (cognitive, language, and motor functions). A total of 94 children underwent both Bayley-III and neuroimaging assess-

ments. Abnormal findings on neuroimaging were identified in 39 of 115 children (34%) overall and in 35 of 94 children (37%) who also underwent neuropsychological testing. Among 94 children who underwent both neuroimaging and Bayley-III testing, neuroradiologists found that 10 (11%) had structural abnormalities, 5 (5%) had nonstructural abnormalities, and 20 (21%) had abnormal results that were limited to a non-specific T₂-weighted hypersignal on MRI.

As shown in Figure 1, and in Table S1 in the Supplementary Appendix, of the 94 children who had undergone neuroimaging and Bayley-III testing, 59 (63%) had Bayley-III scores above 85 for all three domains (1 SD below the mean [$\pm$ SD] score of 100 $\pm$ 15 [scores range from 55 to 145, with lower scores indicating a greater degree of developmental delay]); 24 (26%) had one or more Bayley-III scores between 85 and 71 (1 to 2 SD below the mean [$\pm$ SD] score); and 11 (12%) had one or more scores below 70 (2 SD below the mean [$\pm$ SD] score). No microcephaly was detected and findings on brain imaging were normal in 44 children (47%) with Bayley scores higher than 85, in 13 (14%) with scores between 85 and 71, and in 2 (2%) with scores of 70 or

this week's letters

- 2377 Neurodevelopment in Infants Exposed to Zika Virus In Utero
- 2379 Mutation Clearance after Transplantation for Myelodysplastic Syndrome
- 2380 Heat-Stable Carbocin to Prevent Postpartum Hemorrhage
- 2381 A Man with Epistaxis, Pain and Erythema of the Forearm, and Pancytopenia

less in any domain. Conversely, results of brain imaging were abnormal in 15 children (16%) with Bayley-III scores higher than 85, in 11 (12%) with scores between 85 and 71, and in 9 (10%) with scores of 70 or less in any domain.

Children with normal brain imaging were 20% less likely to have a Bayley-III score that was 2 SD below the mean ($\pm$ SD) score than those with abnormal brain imaging (odds ratio, 0.80, 95% confidence interval, 0.70 to 0.91). Among children with abnormal findings on brain imaging, 7 of 112 (6%) had an abnormal eye examination and 6 of 49 (12%) had an abnormal hearing assessment. Among 131 children who were exposed to ZIKV in utero and who underwent imaging, neurodevelopmental assessment, sensory organ assessment, or all of these tests, 19 (14%) were found to have severe neurodevelopmental delay (2 SD below the mean [$\pm$ SD] score), sensory organ dysfunction, or both; this rate is higher than that reported in previous studies.⁵ Although a significant association was noted between normal results on brain imaging and higher Bayley-III scores, neuroimaging did not predict developmental delay in 2% of children and normal development in 16% of children.

M. Elisabeth Lopes Moreira, M.D.

Fundação Oswaldo Cruz
Rio de Janeiro, Brazil

Karin Nielsen-Saines, M.D.

David Geffen School of Medicine at the University of California, Los Angeles (UCLA)
Los Angeles, CA
knielsen@mednet.ucla.edu

Patricia Brasil, M.D.

Fundação Oswaldo Cruz
Rio de Janeiro, Brazil

Tara Kerin, Ph.D.

David Geffen School of Medicine at UCLA
Los Angeles, CA

Luana Damasceno, M.S.

Marcos Pone, M.D.

Liege M.A. Carvalho, M.D.

Sheila M. Pone, M.D.

Zilton Vasconcelos, Ph.D.

Ieda P. Ribeiro, Ph.D.

Andrea A. Zin, M.D.

Fundação Oswaldo Cruz
Rio de Janeiro, Brazil

Irena Tsui, M.D.

Kristina Adachi, M.D.

David Geffen School of Medicine at UCLA
Los Angeles, CA

CORRESPONDENCE

Stephanie L. Gaw, M.D.

University of California, San Francisco, School of Medicine
San Francisco, CA

Umme-Aiman Halai, M.D.

David Geffen School of Medicine at UCLA
Los Angeles, CA

Tania S. Salles, M.D.

Denise C. da Cunha, M.D.

Myrna C. Bonaldo, Ph.D.

Fundação Oswaldo Cruz
Rio de Janeiro, Brazil

Claudia Raja Gabaglia, M.D.

Biomedical Research Institute of Southern California
Oceanside, CA

Leticia Guida, Ph.D.

Jociele Malacarne, Ph.D.

Roozemerie P. Costa, B.S.

S. Clair Gomes, Jr., Ph.D.

A. Beatriz Reis, M.S.

Fernanda V.M. Soares, Ph.D.

Fundação Oswaldo Cruz
Rio de Janeiro, Brazil

Renata H. Hasue, Ph.D.

Carolina Y.P. Aizawa, M.S.

Fernanda F. Genovesi, M.S.

University of São Paulo
São Paulo, Brazil

Mitsue Aibe, M.D.

Fundação Oswaldo Cruz
Rio de Janeiro, Brazil

Christa Einspieler, Ph.D.

Peter B. Marschik, Ph.D.

Medical University of Graz
Graz, Austria

J. Paulo Pereira, Jr., M.D.

Elyzabeth A. Portari, M.D.

Fundação Oswaldo Cruz
Rio de Janeiro, Brazil

Carla Janzen, M.D.

James D. Cherry, M.D.

David Geffen School of Medicine at UCLA
Los Angeles, CA

Supported by grants from the Departamento de Ciência e Tecnologia (DECIT) do Ministério da Saúde do Brasil (25000.072811/2016-17); Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) (88887.116627/2016-01); Brazilian National Council for Scientific and Technological Development (CNPq) (441098/2016-9); Fundação Carlos Chagas Filho de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro (FAPERJ) (E_18/2015TXB); ZIKAlliance; the Thrasher Research Fund (20164370); the National Institute of Allergy and Infectious Diseases of the National Institutes of Health (NIH) (AI28697 and AI1259534-01); the National Eye Institute of the NIH (AI129847-01); the Wellcome Trust and the United Kingdom Department for International Development (205377-Z16-Z); and the European Union Horizon 2020 research and innovation program (ZikaPLAN grant agreement no. 734584).

Disclosure forms provided by the authors are available with the full text of this letter at NEJM.org.

1. Brasil P, Pereira JP Jr, Moreira ME, et al. Zika virus infection in pregnant women in Rio de Janeiro. *N Engl J Med* 2016;375:2321-34.
2. Zin AA, Tsui I, Rossetto J, et al. Screening criteria for ophthalmic manifestations of congenital Zika virus infection. *JAMA Pediatr* 2017;171:847-54.
3. Bayley N. Bayley scales of infant and toddler development: administration manual. 3rd ed. San Antonio, TX: Harcourt Assessment, 2006.
4. Madaschi V, Macedo EC, Mecca TP, Pauls CS. Bayley-III scales of infant and toddler development: transcultural adaptation and psychometric properties. *Paideia (Ribeirão Preto)* 2016; 26:189-97.
5. Reynolds MR, Jones AM, Petersen EE, et al. Vital signs: update on Zika virus—associated birth defects and evaluation of all U.S. infants with congenital Zika virus exposure — U.S. Zika Pregnancy Registry, 2016. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 2017; 66:366-73.

DOI: 10.1056/NEJMc1800098

Mutation Clearance after Transplantation for Myelodysplastic Syndrome

TO THE EDITOR: Duncavage and colleagues (Sept. 13 issue)¹ address the molecular predictors of disease progression and survival among patients with myelodysplastic syndrome (MDS) who underwent allogeneic hematopoietic stem-cell transplantation. With the use of enhanced exome sequencing, they found that detection of at least one mutation with a maximum variant allele frequency of at least 0.5% at day 30 after transplantation was associated with a higher risk of progression than the absence of such a mutation.

The article offers a new perspective on the understanding of the biologic properties of MDS that may be further explored in the context of the unique immunologic milieu observed after transplantation. In fact, it is well known that most of the therapeutic efficacy of allogeneic hematopoietic stem-cell transplantation relies on the graft-versus-leukemia effect,² which is also observed in patients with MDS³ and which often occurs in parallel with graft-versus-host disease (GVHD). In this context, it would be crucial to

ANEXO 7

nature
medicine

LETTERS

<https://doi.org/10.1038/s41591-019-0496-1>

Delayed childhood neurodevelopment and neurosensory alterations in the second year of life in a prospective cohort of ZIKV-exposed children

Karin Nielsen-Saines^{1*}, Patrícia Brasil², Tara Kerin¹, Zilton Vasconcelos², Claudia Raja Gabaglia³, Luana Damasceno², Marcos Pone², Liege M. Abreu de Carvalho², Sheila M. Pone², Andrea A. Zin², Irena Tsui¹, Tania Regina S. Salles², Denise Cotrim da Cunha², Roozemerie Pereira Costa², Jocielle Malacarne², Ana Beatriz Reis², Renata Hydee Hasue⁴, Carolina Y. P. Aizawa⁴, Fernanda F. Genovesi⁴, Christa Einspieler⁵, Peter B Marschik^{5,6}, José Paulo Pereira², Stephanie L. Gaw⁷, Kristina Adachi¹, James D. Cherry¹, Zhiheng Xu^{8,9}, Genhong Cheng¹ and Maria Elisabeth Moreira^{1,2*}

We report neurodevelopmental outcomes in 216 infants followed since the time of PCR-confirmed maternal Zika virus (ZIKV) infection in pregnancy during the Rio de Janeiro epidemic of 2015–2016 (refs. 1,2). Neurodevelopment was assessed by Bayley Scales of Infant and Toddler Development, third edition (Bayley-III; cognitive, language and motor domains) in 146 children and through neurodevelopment questionnaires/neurological examinations in 70 remaining children. Complete eye exams ($n = 137$) and hearing assessments ($n = 114$) were also performed. Below-average neurodevelopment and/or abnormal eye or hearing assessments were noted in 31.5% of children between 7 and 32 months of age. Among children assessed by Bayley-III, 12% scored below -2 s.d. (score < 70 ; a score of 100 ± 2 s.d. is the range) in at least one domain; and 28% scored between -1 and -2 s.d. in any domain (scores $< 85-70$). Language function was most affected, with 35% of 146 children below average. Improved neurodevelopmental outcomes were noted in female children, term babies, children with normal eye exams and maternal infection later in pregnancy ($P = 0.01$). We noted resolution of microcephaly with normal neurodevelopment in two of eight children, development of secondary microcephaly in two other children and autism spectrum disorder in three previously healthy children in the second year of life.

During the 2015–2016 Zika virus (ZIKV) epidemic in Rio de Janeiro, Brazil, we established a prospective cohort of symptomatic pregnant women with reverse-transcription PCR (RT-PCR)-confirmed ZIKV infection. We reported fetal ultrasound findings for the first 88 women enrolled during the epidemic (until February 2016)¹ and subsequently described gestational and infant outcomes for 125 pregnancies until July 2016 (ref. 2). All pregnancies had reached completion by December 2016. We report neurodevelopmental results obtained for children aged 7–32 months from our prospective cohort.

Between September 2015 and June 2016 we enrolled 244 pregnant symptomatic women who presented with a rash and tested positive for ZIKV by qualitative RT-PCR of serum or urine. Figure 1 depicts enrollment flow. Among 223 live births, the prematurity rate was 13% and ten infants (4.6%) were small for gestational age (Table 1). Microcephaly was identified in eight of 216 infants with follow-up (3.7%), including two with secondary microcephaly. Two of the eight cases of microcephaly resolved: one infant with proportionate microcephaly developed normal head circumference as he grew, while another developed normal head circumference following surgery for cranial synostosis. Both infants had normal neurodevelopmental outcomes, audiometric evaluations and eye exams in the second year of life.

The present report focuses on 216 infants who had prospective follow-up. All had clinical and neurologic evaluations; 146 infants (67.6%) had Bayley Scales of Infant and Toddler Development, third edition (Bayley-III) assessments. Sixty-seven of 70 remaining children (96%) had normal neurodevelopment questionnaires and neurological examinations (HINE). All children were offered Bayley-III assessments, but these were not performed if parents declined lengthier neurodevelopmental evaluations (that is, parents did not wish to spend additional time in the clinic or return another day for Bayley-III assessments). In that case, neurodevelopment was evaluated through HINE/neurodevelopmental questionnaires. The age range at the time of the final neurodevelopmental assessment was 7–32 months (median, 18 months). Only five children had Bayley-III assessments < 12 months of age. All HINE assessments were performed in the second year of life.

As seen in Table 1 and Fig. 2, 71.3% of children ($n = 154$) had normal neurodevelopmental assessments by Bayley-III or HINE evaluation. Fifty-nine of 146 children (40%) had Bayley-III results ≤ -1 s.d. in at least one of three functional domains. When children assessed through HINE and neurodevelopmental

¹David Geffen UCLA School of Medicine, CA, Los Angeles, USA. ²Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, Brazil. ³Biomedical Research Institute of Southern California, CA, Oceanside, USA. ⁴Faculty of Medicine, University of São Paulo, São Paulo, Brazil. ⁵Medical University of Graz, Graz, Austria. ⁶University Medical Center, Göttingen, Germany. ⁷UCSF School of Medicine, CA, San Francisco, USA. ⁸State Key Laboratory of Molecular Developmental Biology, CAS Center for Excellence in Brain Science and Intelligence Technology, Institute of Genetics and Developmental Biology, Chinese Academy of Sciences, Beijing, China. ⁹Parkinson's Disease Center, Beijing Institute for Brain Disorders, Beijing, China. *e-mail: knielsen@mednet.ucla.edu; bebethiff@gmail.com

LETTERS

NATURE MEDICINE

Fig. 1 | Flow diagram of mother-infant pair enrollment and follow-up in the Rio de Janeiro Zika cohort.

questionnaires were included, 62 of 216 antenatally ZIKV-exposed children (28.7%) scored below average in at least one assessment. Among 146 children with Bayley-III results, 28.1% had below-average performance (-1 to -2 s.d.) and 12.3% performed well below average (below -2 s.d.) in cognitive and/or motor and/or language domains. Language development was most affected, with 34.9% of children showing Bayley-III results below -1 s.d.; 9.6% had delays in cognitive development and 16.4% in motor development. Bayley-III results had a skewed distribution towards lower scores; only 10% of children were above 1 s.d. in any domain, and none had scores >2 s.d. In contrast, 30% of children had below-average scores.

Although 4.6% of infants were small for gestational age at birth, only 2 of 216 infants (1%) showed failure to thrive on follow-up (Z -score <-2). Eye exams were abnormal in 9 of 137 infants (7%) and included chorioretinal atrophy, macular hypoplasia, optic nerve hypoplasia, optic nerve pallor, pigment mottling and increased optic cup. Hearing deficits were noted in 13 of 114 infants (12%). Sixty-eight of 216 children (31.5%) had neurodevelopment below average in at least one domain and/or eye and/or hearing abnormalities (Figs. 1 and 2 and Table 1).

Among 18 children with well below-average performance (12%), six were microcephalic and three (2.1%) developed autism spectrum disorder (ASD). The two children with resolving microcephaly had average scores on Bayley-III assessments in the second year. Three children with ASD were normal initially and developed ASD in year 2.

Parameters associated with a Bayley-III score <-1 s.d. in 146 children included prematurity (odds ratio, 5.41; 95% confidence interval, 1.66–20.56; $P < 0.01$) and an abnormal funduscopic exam (odds ratio, 20.35; 95% confidence interval, 3.02–412.72). Female gender was a protective risk factor (odds ratio, 0.36; 95% confidence interval, 0.16–0.78) against a below-average Bayley-III score (Supplementary Tables 1 and 2). An abnormal funduscopic exam was associated with a Bayley-III score <-2 s.d. (odds ratio, 7.92; 95% confidence interval, 1.24–48.89). Statistically significant associations with maternal age, education, mode of delivery, infant birth weight and hearing function were not seen.

Table 1 | Characteristics of ZIKV-exposed neonates and neurodevelopmental and neurosensory assessments

Demographics at birth	n (out of 216)	Percentage
Mean maternal age at birth (years) and s.d.	30.3	± 6.3
Infant gender		
Female	106	49.1
Male	110	50.9
Preterm infants	28	13.0
<37 to ≥ 35 weeks	18	8.3
<35 weeks	10	4.6
Small for gestational age	10	4.6
Microcephaly	8	3.7
Primary	4	1.9
Secondary ^a	2	0.9
Resolved ^b	2	0.9
Interviews and Bayley-III neurodevelopmental assessments at 7–32 months of age (n = 216) ^c	Normal	Abnormal
	n	%
	154	71.3
	62	28.7
Bayley-III assessments (n = 146)		
	Between -1 and -2 s.d.	Below -2 s.d.
	n	%
	n	%
All (n = 146)	87	59.6
Cognitive (n = 146)	132	90.4
Language (n = 146)	95	65.1
Motor (n = 146)	122	83.6
Other neurosensory assessments		
Hearing (n = 114)	101	89
Funduscopic eye exam (n = 137)	128	94

^a Two infants born with normal head circumference developed microcephaly in the first year of life. ^b One infant born with proportionate microcephaly developed normal head circumference over time and one infant born with cranial synostosis showed improved head circumference after surgery. ^c Neurodevelopmental interviews evaluated time of achievement of developmental stages by an adaptation of the HINE scheme, evaluating neurological exam, motor function and state of behavior in infants from 2 to 36 months. For Bayley-III, The 'All' category depicts the lowest score observed in one of the three functional domains. One s.d. below normal corresponds to a Bayley-III composite score <85 ; 2 s.d. below normal corresponds to a Bayley-III composite score <70 .

Fig. 2 | Bayley-III assessments in 146 children between the ages of 7 and 32 months. Well above average: >2 s.d., score >131 ; above average: $1-2$ s.d., score $116-130$; average: -1 to 1 s.d., score $85-115$; below average: -1 to -2 s.d., score $84-70$; well below average: <-2 s.d., score <70 . Population percentages are shown at the top of each bar.

NATURE MEDICINE

LETTERS

Fig. 3 | Gestational age at time of maternal Zika virus infection in 244 pregnancies. Adverse pregnancy and infant outcomes by week of maternal ZIKV infection during gestation. Adverse pregnancy outcome is fetal loss. Infant outcomes include below-average/abnormal neurodevelopment and/or abnormal eye and/or abnormal hearing assessments between 7 and 32 months of age.

An earlier gestational age at the time of ZIKV infection was a significant predictor of below-average neurodevelopment (Supplementary Table 2 and Fig. 3). Later gestational age at the time of ZIKV infection was less likely to be associated with below-average neurodevelopment, fetal loss and microcephaly (Supplementary Table 2). For each trimester by which ZIKV infection was delayed, risk for below-average development decreased by 46% (odds ratio, 0.54, adjusted; 95% confidence interval, 0.34–0.86). Eye and hearing abnormalities were not associated with gestational age of ZIKV infection. Fetal loss was noted in women infected as late as 25 weeks' gestation (Fig. 3).

Infants were followed from the time of maternal antenatal infection until the second and third years of life, allowing investigation of longer-term neurodevelopmental outcomes than previously recorded. We noted eight cases of microcephaly (3.7%): two developed postnatally and two resolved over time, one spontaneously and the other following corrective surgery for craniosynostosis. Congenital ZIKV has been associated with early fusion of sutures⁷.

A concern following in utero ZIKV exposure was whether infants born without obvious structural brain abnormalities would have normal development^{2,4–14}. It appears that this is not a safe assumption. Nearly one-third of infants had findings impacting future development regardless of head size. A Bayley-III score <-2 s.d. (<70) in any functional domain is the accepted cut-off value for severe developmental delay¹⁵. A Bayley-III score between -1 and -2 s.d. (70–84) is the cut-off value associated with risk of developmental delay¹⁶. In the general population, a normal distribution of neurodevelopmental scores would be expected when using a standardized tool such as Bayley-III. We did not see a bell-shaped curve when we plotted results for ZIKV in utero-exposed children. Instead, there was a skewed distribution to the right: no children had scores >2 s.d. from the norm, whereas 12% had scores <-2 s.d. A higher rate of below-average performance on the Bayley-III language scale as compared to the cognitive scale was noted; this is consistent with studies performed in preterm and very low-birth weight infants, where the Bayley-III scale seriously underestimated developmental delay by age 2 years in one study¹⁷ and underdiagnosed developmental delay when compared to Bayley-II (ref. 18). If this is the case in our population, neurodevelopmental results could actually be worse than reported.

In a previous report comparing neuroimaging findings to neurodevelopmental performance in 94 children, we noted a significant association between normal results on brain imaging and higher Bayley-III scores¹⁹. Nevertheless, neuroimaging failed to predict

severe developmental delay in 2% of children and normal development in 16% (ref. 19). We surmise that non-structural or non-specific findings identified in brain imaging in the first month of life following in utero ZIKV exposure are not necessarily predictive of subsequent suboptimal development, nor are poor growth measures or non-specific early clinical findings. In our original report of 125 pregnancies, 42% of children had abnormal clinical and/or imaging findings around the time of birth². In the present analysis of 216 children evaluated as late as 32 months of age, 31.5% had below-average performance in developmental assessments and/or abnormal neurosensory function.

Interestingly, 24 of 49 children (49%) with abnormal findings in early infancy in our previous report² had normal assessments in their second or third years of life. This includes children with early functional abnormalities such as seizures and hypotonia, as well as non-specific neuroimaging findings in the neonatal period. Conversely, a normal exam at birth did not guarantee future normal development; 17 of 68 children (25%) with normal assessments in infancy in our earlier report² had below-average neurodevelopmental assessments and/or abnormal hearing or ophthalmologic assessments on follow-up. This includes three children who developed ASD in the second year of life. Autism has been reported to have higher prevalence in congenital infections; ASD was as high as 5% in children with congenital rubella syndrome²⁰ and is more prevalent in children with congenital cytomegalovirus²¹. It has been postulated that neuroimmune modulation may play a role in the genesis of autism in infants exposed to congenital ZIKV infection²².

In our analyses attempting to identify potential predictors of abnormal development, we found significant associations with abnormal eye exams, prematurity, male gender and gestational age at infection. Female infants are known to have improved outcomes following serious perinatal infections as compared to males²³. Women infected in later periods of pregnancy were less likely to have fetal loss, or to have infants with structural brain defects or below-normal development. In a previous study we did not find associations between abnormal infant findings following in utero ZIKV exposure and maternal disease severity during pregnancy, but it is worthy of mention that all infants in our cohort were born to women with symptomatic ZIKV infection²⁴. Since there is no evidence to suggest that children of women with asymptomatic ZIKV infection have better outcomes than those of symptomatic women, close follow-up of all antenatally ZIKV-exposed children is warranted.

The longitudinal nature of our unique infant cohort with RT-PCR-confirmed maternal ZIKV infection during pregnancy allows

LETTERS

NATURE MEDICINE

us to estimate the frequency of specific clinical features in ZIKV-exposed infants. The frequency of eye manifestations was 7% and hearing deficits 12%. Previous studies, including our own^{25–30}, reported higher rates of ophthalmic findings in infants with congenital ZIKV infection. It is important to remember that some studies were not prospective in design and were subject to referral bias.

One of our study limitations is that parents of children who appear healthy are often reluctant to consent to further evaluations. Zika virus can be a highly stigmatizing diagnosis. Thirty-two percent of the children in this study had neurologic/developmental functions assessed through an adapted version of the HINE scheme, which included a detailed neurodevelopmental questionnaire in lieu of Bayley-III. Another study limitation is that we did not have a control group of children who underwent neurodevelopmental testing in parallel. Because ZIKV was highly epidemic in Rio de Janeiro, and because of the diagnostic challenges in detection of antenatal ZIKV exposure (asymptomatic/unidentified maternal infection), we could not establish a control group in which we could confidently demonstrate absence of antenatal ZIKV exposure. Nevertheless, since the ZIKV epidemic has subsided, there are not many cohort studies of children with PCR-confirmed antenatal ZIKV exposure with extended longer-term follow-up. Our data demonstrate that there are subtle, but nevertheless important, neuro-repercussions of antenatal ZIKV exposure arising over time beyond the severe structural brain defects and microcephaly noted at birth. These children need to be monitored far beyond early infancy. In our opinion, all children born to mothers with ZIKV infection during pregnancy should be followed longitudinally in the first 3 years of life by a multidisciplinary team, with biannual neurodevelopmental, ophthalmologic and auditory evaluations even if early evaluations were normal. As Zika is a recently recognized congenital infection, it remains to be seen whether future repercussions such as learning disabilities, further hearing loss or other problems can affect exposed children during school-age years, so yearly assessments until age 7 years should be performed.

Our neurodevelopmental findings in children have been corroborated by animal studies, including a recent study by Zhao et al. (personal communication) demonstrating abnormal neurologic functions in mice following ZIKV infection, including features of ASD. These mice had perturbations in social interaction and showed signs of depression, impaired learning and memory, in addition to severe motor defects. Similar to the children in our study, following infection with an Asian strain of ZIKV, mice demonstrated significant impairment of visual cortical function, circuit organization and experience-dependent plasticity. Long-term outcomes may be influenced by more subtle inflammation-immune responses mediated by ZIKV, raising the possibility that early interventions could improve the neurodevelopmental trajectory of children exposed to ZIKV in utero, a possibility that requires further investigation.

Online content

Any methods, additional references, Nature Research reporting summaries, source data, statements of code and data availability and associated accession codes are available at <https://doi.org/10.1038/s41591-019-0496-1>.

Received: 8 March 2019; Accepted: 22 May 2019;

Published online: 08 July 2019

References

- Brasil, P. et al. Zika virus infection in pregnant women in Rio de Janeiro—preliminary report. *N. Engl. J. Med.* <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1602412> (2016).
- Brasil, P. et al. Zika virus infection in pregnant women in Rio de Janeiro. *N. Engl. J. Med.* **375**, 2321–2334 (2016).
- Moore, C. A. et al. Characterizing the pattern of anomalies in congenital Zika syndrome for pediatric clinicians. *JAMA Pediatr.* **171**, 288 (2017).
- Kapogiannis, B. G., Chakhtoura, N., Hazra, R. & Spong, C. Y. Bridging knowledge gaps to understand how Zika virus exposure and infection affect child development. *JAMA Pediatr.* **171**, 478 (2017).
- Honein, M. A. et al. Birth defects among fetuses and infants of US women with evidence of possible Zika virus infection during pregnancy. *JAMA* **317**, 59–68 (2017).
- Rice, M. E. et al. Vital signs: Zika-associated birth defects and neurodevelopmental abnormalities possibly associated with congenital Zika virus infection – U.S. territories and freely associated states, 2018. *MMWR Morb. Mortal. Wkly Rep.* **67**, 858–867 (2018).
- Pacheco, O. et al. Zika virus disease in Colombia—preliminary report. *N. Engl. J. Med.* <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1604037> (2016).
- Barcellos, C. et al. Increased hospitalizations for neuropathies as indicators of Zika virus infection, according to health information system data, Brazil. *Emerg. Infect. Dis.* **22**, 1894–1899 (2016).
- Nogueira, M. L. et al. Adverse birth outcomes associated with Zika virus exposure during pregnancy in São José do Rio Preto, Brazil. *Clin. Microbiol. Infect.* **24**, 646–652 (2018).
- Meneses, J. et al. Lessons learned at the epicenter of Brazil's congenital Zika epidemic: evidence from 87 confirmed cases. *Clin. Infect. Dis.* **64**, 1302–1308 (2017).
- Melo, A. S. et al. Congenital Zika virus infection: beyond neonatal microcephaly. *JAMA Neurol.* **73**, 1407–1416 (2016).
- van der Linden, V. et al. Description of 13 infants born during October 2015–January 2016 with congenital Zika virus infection without microcephaly at birth – Brazil. *MMWR Morb. Mortal. Wkly Rep.* **65**, 1343–1348 (2016).
- Reynolds, M. R. et al. Vital signs: update on Zika virus-associated birth defects and evaluation of all U.S. infants with congenital Zika virus exposure – U.S. Zika Pregnancy Registry, 2016. *MMWR Morb. Mortal. Wkly Rep.* **66**, 366–373 (2017).
- Moura da Silva, A. A. et al. Early growth and neurologic outcomes of infants with probable congenital Zika virus syndrome. *Emerg. Infect. Dis.* **22**, 1953–1956 (2016).
- Bayley, N. Comparisons of mental and motor test scores for ages 1–15 months by sex, birth order, race, geographical location, and education of parents. *Child Dev.* **36**, 379–411 (1965).
- Ballot, D. E. et al. Use of the Bayley Scales of Infant and Toddler Development, third edition, to assess developmental outcome in infants and young children in an urban setting in South Africa. *Int. Sch. Res. Notices* **2017**, 1631760 (2017).
- Anderson, P. J. et al. Underestimation of developmental delay by the new Bayley-III Scale. *Arch. Pediatr. Adolesc. Med.* **164**, 352–356 (2010).
- Vohr, B. R. et al. Are outcomes of extremely preterm infants improving? Impact of Bayley assessment on outcomes. *J. Pediatr.* **161**, 222–228.e3 (2012).
- Lopes Moreira, M. E. et al. Neurodevelopment in infants exposed to Zika virus in utero. *N. Engl. J. Med.* **379**, 2377–2379 (2018).
- Cherry, J., Demmler-Harrison, G. J., Hotez, P. J., Kaplan, S. L. & Steinbach, W. J. *Feigin and Cherry's Textbook of Pediatric Infectious Diseases* (Saunders, 2018).
- da Cunha, R. D. E. S., Lamy Filho, F., Rafael, E. V., Lamy, Z. C. & de Queiroz, A. L. G. Breast milk supplementation and preterm infant development after hospital discharge: a randomized clinical trial. *J. Pediatr.* **92**, 136–142 (2016).
- Vianna, P. et al. Zika virus as a possible risk factor for autism spectrum disorder: neuroimmunological aspects. *Neuroimmunomodulation* **25**, 320–327 (2018).
- Muenchhoff, M. & Goulder, P. J. R. Sex differences in pediatric infectious diseases. *J. Infect. Dis.* **209** (Suppl. 3), S120–S126 (2014).
- Halai, U.-A. et al. Maternal Zika virus disease severity, virus load, prior dengue antibodies, and their relationship to birth outcomes. *Clin. Infect. Dis.* **65**, 877–883 (2017).
- Zin, A. A. et al. Screening criteria for ophthalmic manifestations of congenital Zika virus infection. *JAMA Pediatr.* **171**, 847–854 (2017).
- Tsui, I. et al. Eye findings in infants with suspected or confirmed antenatal Zika virus exposure. *Pediatrics* **142**, e20181104 (2018).
- Rossetto, J. D. et al. Visual function assessment in children with congenital Zika virus infection. *J. AAPOS* **22**, e60 (2018).
- Ventura, C. V. et al. Risk factors associated with the ophthalmoscopic findings identified in infants with presumed Zika virus congenital infection. *JAMA Ophthalmol.* **134**, 912–918 (2016).
- Ventura, C. V. et al. Ophthalmological findings in infants with microcephaly and presumable intra-uterus Zika virus infection. *Arq. Bras. Oftalmol.* **79**, (2016).
- Yepez, J. B. et al. Ophthalmic manifestations of congenital Zika syndrome in Colombia and Venezuela. *JAMA Ophthalmol.* **135**, 440–445 (2017).

Acknowledgements

This study was supported by the Departamento de Ciência e Tecnologia do Ministério da Saúde do Brasil (DECIT/25000.072811/2016-19, to P.B. and M.E.M.); Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES 001/88887.116627/2016-01

NATURE MEDICINE

LETTERS

to PB); Brazilian National Council for Scientific and Technological Development (CNPq/441098/2016-9 to M.E.M. and CNPq307282/2017-1 to P.B.); Fundação Carlos Chagas Filho de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro (FAPERJ, No. E-18/2015TXB to M.E.M., No. 239224/E-032018 to M.E.M. and No. E-26/202.862/2018 to P.B.); Fondation Christophe e Rodolphe Mérieux to P.B.; ZikAlliance, 734548 to P.B.; the Thrasher Research Fund (No. 20164370 to K.N.S. and K.A.); the Bill and Melinda Gates Foundation Grand Challenges Explorations (No. OPP112887 to P.B.M.); the National Institute of Allergy and Infectious Diseases (NIAID) of the National Institutes of Health (No. AI28697 to K.N.S., No. AI1259534-01 to K.N.S. and G.C., No. AI140718-01 to K.N.S. and P.B.); the National Eye Institute (NEI) of the National Institutes of Health (No. AI129847-01 to K.N.S., I.T. and P.B.); the United Kingdom's Department for International Development (to M.E.M.); and the ZikaPlan (Preparedness Latin American Network, to M.E.M.). We thank the women who enrolled in this study, the Fiocruz Zika Field Team who rendered our work possible, and P.F. Augusto and C.B. de Souza (Federal University of São Paulo), who assisted with neurodevelopmental assessments.

Author contributions

K.N.-S., P.B., C.R.G., J.P.P. and M.E.M. conceived and designed the study. K.N.-S., P.B., T.K., Z.V., L.D., M.P., L.M.A.d.C., S.M.P., A.A.Z., I.T., T.R.S.S., D.C.d.C., R.P.C., J.M., A.B.R., R.H.H., C.Y.P.A., F.E.G., J.P.P., S.L.G. and M.E.M. were responsible for data collection and accuracy checking of data. K.N.-S., P.B., T.K. and Z.V. were responsible for

data analysis. K.N.-S., P.B., T.K., Z.V., K.A., C.R.G., L.D., A.A.Z., I.T., C.E., P.B.M., J.D.C., Z.X., G.C. and M.E.M. were responsible for interpreting the data. K.N.-S., P.B., Z.V., T.K. and M.E.M. drafted the manuscript. All authors critically revised the manuscript and gave final approval of the version to be published.

Competing interest

The authors declare no competing interests.

Additional information

Supplementary information is available for this paper at <https://doi.org/10.1038/s41591-019-0496-1>.

Reprints and permissions information is available at www.nature.com/reprints.

Correspondence and requests for materials should be addressed to K.N. or M.E.M.

Peer review information: Alison Farrell was the primary editor on this article and managed its editorial process and peer review in collaboration with the rest of the editorial team.

Publisher's note: Springer Nature remains neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.

© The Author(s), under exclusive licence to Springer Nature America, Inc. 2019

LETTERS

NATURE MEDICINE

Methods

Study population. In this cohort study, pregnant women at any week of gestation who presented to the acute febrile illness clinic at the Fundação Oswaldo Cruz with a rash as previously described were enrolled¹. Infants from PCR-confirmed³¹ ZIKV-positive mothers were followed prospectively.

Study oversight. The study protocol was approved by the institutional review boards at Fundação Oswaldo Cruz (Fiocruz) and the University of California, Los Angeles. Participants provided written informed consent. The authors vouch for the accuracy and completeness of the data and the analyses and for the fidelity of the study to the protocol.

Infant clinical assessments. Anthropometric measures at birth were obtained for all live births and subsequent visits as previously described¹. Microcephaly at birth (primary) was defined as head circumference Z-score <−2 (moderate) and <−3 (severe). Secondary microcephaly developed postnatally³². Detailed eye exams were performed by pediatric ophthalmologists as previously described^{15–17}. Hearing assessments were performed through brainstem evoked response audiometry^{21,19}.

Neurodevelopmental assessments. All infants had detailed neurologic assessments with accompanying neurodevelopmental interviews performed concurrently. Bayley-III³³ was performed by trained personnel for three domains: cognitive, language (receptive and expressive) and motor (fine and gross). Bayley-III was chosen as the developmental tool, validated cross-culturally in Brazil³⁴. Reported results are for the latest Bayley-III assessment performed for each child, ranging from 7 to 32 months of age. A Bayley-III score within 1 s.d. above or below the norm of 100 was considered normal for that specific domain. A score of 1–2 s.d. above the norm (116–130) was considered above average and 1–2 s.d. below the norm (<85 to 70) moderately below average. A score >2 s.d. from the norm (>130) was considered well above average and 2 s.d. below the norm well below average (<70). The scoring system is consistent with previously published developmental studies^{15,21,35–37}. In the absence of Bayley-III, time of achievement of developmental stages was investigated by an adaptation of the HINE scheme to evaluate neurological exam, motor function and state of behavior in infants from 2 to 36 months^{38–40}. Key psychomotor milestones were included in our interview. Gross motor skills included emergence of head control, onset of sitting free, standing and walking freely. Time of appearance of babbling, single words (for single words, at least 5–10 words with a semantic role), responsive smiling and index finger pointing towards an object were obtained from parental interview and patient observation.

Statistical analysis. A multivariate logistic regression was used to examine the associations between development ($n = 146$) and medical predictors (prematurity, sex, size for gestational age and cesarean delivery), clinical outcomes (ZIKV hearing and eye abnormalities) and demographic predictors (mother's age at delivery and education level). Associations between gestational age at infection and clinical outcomes, including hearing ($n = 114$), neurodevelopment ($n = 216$), fetal loss ($n = 233$), microcephaly ($n = 216$) and fundoscopic evaluation ($n = 137$), were explored by multivariate logistic regression. Covariates (including maternal age at delivery, prematurity, birth weight, cesarean delivery, mother's education level, child's gender, hearing abnormality and eye abnormality) were examined

for collinearity, using chi-square for nominal covariates and correlation analysis for two continuous variables. Potential confounding variables were individually examined for the association of both the outcome and predictive factor, then evaluated by stepwise regression analysis. Covariates that demonstrated an association with both the outcome and predictive variable, and changed the crude beta regression by 10% from the unadjusted analysis in at least one analysis, were included in all models. These included maternal age at birth, child's gender, prematurity, size for gestational age, cesarean section and mother's educational level. When examining developmental delay as an outcome, analyses were further adjusted for hearing and eye abnormalities. Odds ratios, 95% confidence intervals and two-sided P values were reported. Analyses were conducted using the statistical package R (v.3.0.1, The R Foundation for Statistical Computing, www.r-project.org).

Reporting Summary. Further information on research design is available in the Nature Research Reporting Summary linked to this article.

Data availability

The data sets generated during and/or analysed during the current study are available from the corresponding author upon reasonable request.

References

- Lanciotti, R. S. et al. Genetic and serologic properties of Zika virus associated with an epidemic, Yap State, Micronesia, 2007. *Emerg. Infect. Dis.* **14**, 1232–1239 (2008).
- von der Hagen, M. et al. Diagnostic approach to microcephaly in childhood: a two-center study and review of the literature. *Dev. Med. Child Neurol.* **56**, 732–741 (2014).
- Bayley, N. *Bayley Scales of Infant and Toddler Development: Administration Manual* (Harcourt Assessment, 2006).
- Madaschi, V., Mecca, T. P., Macedo, E. C. & Paula, C. S. Bayley-III Scales of Infant and Toddler Development: transcultural adaptation and psychometric properties. *Paidéia (Ribeirão Preto)* **26**, 189–197 (2016).
- Souza, C. T. et al. Assessment of global motor performance and gross and fine motor skills of infants attending day care centers. *Rev. Bras. Fisioter.* **14**, 309–315 (2010).
- Johnson, S., Moore, T. & Marlow, N. Using the Bayley-III to assess neurodevelopmental delay: which cut-off should be used? *Pediatr. Res.* **75**, 670–674 (2014).
- Jary, S., Knita, G. & Whitelaw, A. Differentiating developmental outcome between infants with severe disability in research studies: the role of Bayley Developmental Quotients. *J. Pediatr.* **159**, 211–4.e1 (2011).
- Haataja, L. et al. Optimality score for the neurologic examination of the infant at 12 and 18 months of age. *J. Pediatr.* **135**, 153–161 (1999).
- Romeo, D. M. M. et al. Neuromotor development in infants with cerebral palsy investigated by the Hammersmith Infant Neurological Examination during the first year of age. *Eur. J. Paediatr. Neurol.* **12**, 24–31 (2008).
- Romeo, D. M., Ricci, D., Brogna, C. & Mercuri, E. Use of the Hammersmith Infant Neurological Examination in infants with cerebral palsy: a critical review of the literature. *Dev. Med. Child Neurol.* **58**, 240–245 (2016).

Apêndice

APÊNDICE 1 – Ficha de avaliação inicial e acompanhamento (inclui curvas do perímetro cefálico)

FICHA DE AVALIAÇÃO – DADOS DO PARTICIPANTE

IDENTIFICAÇÃO DO RECÉM-NASCIDO / LACTENTE:

Nome: _____
 Data de nascimento: ____/____/____ Sexo: () feminino () masculino
 Matrícula HU/Número de registro: _____
 Hipótese diagnóstica: _____

Nome dos pais/responsáveis: _____
 Data de nascimento: ____/____/____ Número de telefone: _____
 Endereço: _____

SOBRE A GESTAÇÃO:

Foi realizado pré-natal? () Sim () Não
 Número de consultas: _____ Local: _____

Houve complicações durante a gestação? Marque as opções positivas:
 () Hipertensão () Diabetes mellitus () Infecções
 () Sangramento vaginal () Bolsa rota () Oligodrâmio
 () Nascimento prematuro
 () Ruptura prematura de membranas
 () Outros: _____

Houve tentativa de aborto da gestação? () Sim () Não

Fez uso de alguma dessas substâncias durante a gestação?
 Medicação: () Sim, qual? _____ () Não
 Alcool: () Sim, que frequência? _____ () Não
 Cigarro: () Sim, que frequência? _____ () Não
 Drogas: () Sim, que frequência e qual? _____ () Não

Houve exposição a inseticidas? () Sim, qual? _____
 () Não

Fez uso de repelente? () Sim, que frequência? _____

() Não

Sorologias:

TRIMESTRE	POSITIVO	OBS.	NEGATIVO
Primeiro Trimestre			
(IG)			(IG)
HIV			
Sífilis		VDRL Trepon	
ZIKV		IgG	
Toxoplasmose		IgG IgM	
CMV (Citomegalovirus)		IgG IgM	

Segundo Trimestre			
HIV			
Sífilis		VDRL Trepon	
ZIKV		IgG	
Toxoplasmose		IgG IgM	
CMV (Citomegalovirus)		IgG IgM	
Terceiro Trimestre			
HIV			
Sífilis		VDRL Trepon	
ZIKV		IgG	
Toxoplasmose		IgG IgM	
CMV (Citomegalovirus)		IgG IgM	
<i>Streptococcus agalactiae</i>			

SOBRE O NASCIMENTO:

- Tipo de parto? () Normal () Cesárea () Fórceps
 Tempo de trabalho de parto: _____
 Complicações maternas durante o parto: _____

SOBRE O RECÉM-NASCIDO / LACTENTE:

Idade gestacional: _____ 40 semanas (para RNPT): ____/____/____
 Peso ao nascimento: _____ Tamanho ao nascimento: _____
 () Extremo baixo peso () Muito baixo peso () Baixo peso
 () Pequeno para idade gestacional () Adequado para idade gestacional
 () Grande para idade gestacional

Perímetro cefálico ao nascimento: _____ cm (____%) () adequado () inadequado
 Perímetro cefálico com 40 semanas _____ cm (____%) () adequado () inadequado

- Intercorrências do RN / lactente durante a gestação e parto: Marque as opções positivas:
 () Restrição de Crescimento Intra-uterino () Tocotrauma
 () Sofrimento Fetal Agudo () Eliminação de mecônio
 () Asfixia perinatal () Parada cardiorrespiratória
 () Outros _____

- APGAR: 1º min: _____ 5º min: _____ 10º min: _____
 Outros: _____

- Houve necessidade de suporte ventilatório?
 VPP: () Sim, quantos ciclos: _____ () Não
 O2: () Sim, quanto tempo: _____ () Não
 CPAP: () Sim, quanto tempo: _____ () Não
 TOT: () Sim, quanto tempo: _____ () Não

· Diagnósticos médicos já existentes:

() Prematuridade
 () Displasia Broncopulmonar () Enterocolite necrozante
 () Leucomalácia () HPIV: I () II () III () IV ()
 () Isquemia encefálica () Atrofia cortical () Hidrocefalia
 () Asfixia neonatal () Convulsão
 () Meningite () Sífilis () Citomegalovírus
 () Bronquiolite () Pneumonia
 () Restrição do crescimento intra-uterino () calcificações ventriculares
 () Microcefalia () outras alterações do SNC
 () Outros: _____

***Zika Virus: () Positivo () Negativo**

EXAMES COMPLEMENTARES:

Ultrassonografia transfontanelar:

1- ____/____/____ - _____
 2- ____/____/____ - _____
 3- ____/____/____ - _____
 Outros:
 1- ____/____/____ - _____
 2- ____/____/____ - _____
 3- ____/____/____ - _____

AVALIAÇÃO SOCIOECONÔMICA:

Pais são casados (união estável)? () Sim () Não
 Possui irmãos/irmãs? () Sim, quantos: _____ () Não
 Condições de moradia: () Casa () Apartamento / () Própria () Alugada
 Número de cômodos/área útil da residência: _____

· Escolaridade:

Mãe: () Fundamental I () Fundamental II () Médio () Superior () Completo
 Pai: () Fundamental I () Fundamental II () Médio () Superior () Completo

A mãe trabalhou durante a gestação? () Sim () Não

Se sim, até que fase e em qual função? _____

Já retornou ao trabalho? () Sim () Não

O pai trabalha? () Sim, qual função: _____ () Não

· Qual a renda familiar?

() menos que 1 salário mínimo () de 3 a 4 salários mínimos
 () de 1 a 2 salários mínimos () de 4 a 5 salários mínimos
 () de 2 a 3 salários mínimos () mais que 5 salários mínimos

Quem será o cuidador principal do recém-nascido/lactente? _____

Região de moradia? _____

UBS de referência? _____

AVALIAÇÃO – 1 MÊS

Idade atual: _____

Data ____/____/____

Idade gestacional corrigida: _____ semanas

Peso atual: _____

Comprimento atual: _____

Perímetro cefálico: ____ cm (____%) () adequado () inadequado

Distância Biauricular: _____ () adequado () inadequado

Distância Anteroposterior: _____ () adequado () inadequado

General Movements Assessment:

() Normal
 () Repertório Pobre () Cramped Synchronized () Caótico

Outros exames:

BAER OD () Normal () Alterado
 OE () Normal () Alterado

Tônus:

	DIREITO			ESQUERDO		
	Hipotônico	Normal	Hipertônico	Hipotônico	Normal	Hipertônico
MMSS						
Adutores						
Abdutores						
Rotadores internos						
Rotadores externos						
Flexores de cotovelo						
Extensores de cotovelo						
Flexores de punho						
Extensores de punho						
MMII						
Flexores de quadril						
Extensores de quadril						
Adutores						
Abdutores						
Rotadores internos						
Rotadores externos						
Flexores de joelho						
Extensores de joelho						
Dorsiflexores						
Plantiflexores						

Posturas básicas:

- Decúbito ventral com apoio nos cotovelos: _____
- Decúbito dorsal: _____
- Puxado para sentar: _____
- Decúbito dorsal para sentado com apoio de antebraço: _____
- Sentado com apoio: _____
- Em pé: _____

AVALIAÇÃO – 3 MESES

Idade atual: _____

Data __/__/__

Idade gestacional corrigida: _____ semanas

Peso atual: _____

Comprimento atual: _____

Perímetro cefálico: _____ cm (____%)

() adequado () inadequado

Distância Biauricular: _____

() adequado () inadequado

Distância Anteroposterior: _____

() adequado () inadequado

· *General Movements Assessment:*

- () Normal
() FM ausente () FM anormal

· Outros exames:

Exame oftalmológico: _____

Potencial Evocado Visual (PEV): _____

· Tônus:

	DIREITO			ESQUERDO		
	Hipotônico	Normal	Hipertônico	Hipotônico	Normal	Hipertônico
MMSS						
Adutores						
Abdutores						
Rotadores internos						
Rotadores externos						
Flexores de cotovelo						
Extensores de cotovelo						
Flexores de punho						
Extensores de punho						
MMII						
Flexores de quadril						
Extensores de quadril						
Adutores						
Abdutores						
Rotadores internos						
Rotadores externos						
Flexores de joelho						
Extensores de joelho						
Dorsiflexores						
Plantiflexores						

· Posturas básicas:

- Decúbito ventral com apoio nos cotovelos: _____

- Decúbito dorsal: _____

- Puxado para sentar: _____

- Decúbito dorsal para sentado com apoio de antebraço: _____

- Sentado com apoio: _____

- Em pé: _____

AValiação – 6 MESES

Idade atual: _____

Data __/__/__

Idade gestacional corrigida: _____

Peso atual: _____

Comprimento atual: _____

Perímetro cefálico: _____ cm (____%) () adequado () inadequado

Distância Biauricular: _____ () adequado () inadequado

Distância Anteroposterior: _____ () adequado () inadequado

Bayley:

Escore	Desfecho	Cognição	Comunicação Receptiva	Comunicação Expressiva	Motor Fino	Motor Grosso
0 a 3	Extremamente baixo					
4 a 6	Limitrofe					
7 a 13	Média					
14 a 19	Superior					

Outros exames:

Tônus:

	DIREITO			ESQUERDO		
	Hipotônico	Normal	Hipertônico	Hipotônico	Normal	Hipertônico
MMSS						
Adutores						
Abdutores						
Rotadores internos						
Rotadores externos						
Flexores de cotovelo						
Extensores de cotovelo						
Flexores de punho						
Extensores de punho						
MMII						
Flexores de quadril						
Extensores de quadril						
Adutores						
Abdutores						
Rotadores internos						
Rotadores externos						
Flexores de joelho						
Extensores de joelho						
Dorsiflexores						
Plantiflexores						

Posturas básicas:

- Decúbito ventral com apoio nos cotovelos: _____

- Decúbito dorsal: _____

- Puxado para sentar: _____

- Decúbito dorsal para sentado com apoio de antebraço: _____

- Sentado com apoio: _____

- Em pé: _____

AValiação – 9 MESES

Idade atual: _____

Data __/__/__

Idade gestacional corrigida: _____

Peso atual: _____

Comprimento atual: _____

Perímetro cefálico: _____ cm (____%) () adequado () inadequado

Distância Biauricular: _____ () adequado () inadequado

Distância Anteroposterior: _____ () adequado () inadequado

Bayley:

Escore	Desfecho	Cognição	Comunicação Receptiva	Comunicação Expressiva	Motor Fino	Motor Grosso
0 a 3	Extremamente baixo					
4 a 6	Limítrofe					
7 a 13	Média					
14 a 19	Superior					

Outros exames:

Tônus:

	DIREITO			ESQUERDO		
	Hipotônico	Normal	Hipertônico	Hipotônico	Normal	Hipertônico
MMSS						
Adutores						
Abdutores						
Rotadores internos						
Rotadores externos						
Flexores de cotovelo						
Extensores de cotovelo						
Flexores de punho						
Extensores de punho						
MMII						
Flexores de quadril						
Extensores de quadril						
Adutores						
Abdutores						
Rotadores internos						
Rotadores externos						
Flexores de joelho						
Extensores de joelho						
Dorsiflexores						
Plantiflexores						

Posturas básicas:

- Decúbito dorsal para sentado com apoio de antebraço: _____

- Sentado: _____

- Quatro apoios: _____

- Em pé: _____

AValiação – 12 MESES

Idade atual: _____

Data __/__/__

Idade gestacional corrigida: _____

Peso atual: _____ Comprimento atual: _____

Perímetro cefálico: _____ cm (____%) () adequado () inadequado

Distância Biauricular: _____ () adequado () inadequado

Distância Anteroposterior: _____ () adequado () inadequado

Bayley:

Escore	Desfecho	Cognição	Comunicação Receptiva	Comunicação Expressiva	Motor Fino	Motor Grosso
0 a 3	Extremamente baixo					
4 a 6	Limítrofe					
7 a 13	Média					
14 a 19	Superior					

Outros exames:

Tônus:

	DIREITO			ESQUERDO		
	Hipotônico	Normal	Hipertônico	Hipotônico	Normal	Hipertônico
MMSS						
Adutores						
Abdutores						
Rotadores internos						
Rotadores externos						
Flexores de cotovelo						
Extensores de cotovelo						
Flexores de punho						
Extensores de punho						
MMII						
Flexores de quadril						
Extensores de quadril						
Adutores						
Abdutores						
Rotadores internos						
Rotadores externos						
Flexores de joelho						
Extensores de joelho						
Dorsiflexores						
Plantiflexores						

Posturas básicas:

- Sentado: _____

- Quatro apoios: _____

- Em pé: _____

- Marcha: _____

AVALIAÇÃO – 18 MESES

Idade atual: _____

Data __/__/__

Idade gestacional corrigida: _____

Peso atual: _____

Comprimento atual: _____

Perímetro cefálico: _____ cm (____%) () adequado () inadequado

Distância Biauricular: _____ () adequado () inadequado

Distância Anteroposterior: _____ () adequado () inadequado

Bayley:

Escore	Desfecho	Cognição	Comunicação Receptiva	Comunicação Expressiva	Motor Fino	Motor Grosso
0 a 3	Extremamente baixo					
4 a 6	Limítrofe					
7 a 13	Média					
14 a 19	Superior					

Outros exames:

Tônus:

	DIREITO			ESQUERDO		
	Hipotônico	Normal	Hipertônico	Hipotônico	Normal	Hipertônico
MMSS						
Adutores						
Abdutores						
Rotadores internos						
Rotadores externos						
Flexores de cotovelo						
Extensores de cotovelo						
Flexores de punho						
Extensores de punho						
MMII						
Flexores de quadril						
Extensores de quadril						
Adutores						
Abdutores						
Rotadores internos						
Rotadores externos						
Flexores de joelho						
Extensores de joelho						
Dorsiflexores						
Plantiflexores						

Posturas básicas:

- Em pé: _____

- Marcha: _____

?

?

?

?

?

?

CURVAS – Perímetro cefálico

2

2

Reference: <https://intergrowth21.tghn.org/>