

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE MEDICINA DE RIBEIRÃO PRETO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE DA CRIANÇA E DO ADOLESCENTE

JUANNICELLE TENÓRIO ALBUQUERQUE MADRUGA GODOI

**Infecção pelo vírus Zika em gestantes e consequências para o desenvolvimento
neuropsicomotor de crianças nascidas sem microcefalia**

RIBEIRÃO PRETO

2022

JUANNICELLE TENÓRIO ALBUQUERQUE MADRUGA GODOI

**Infecção pelo vírus Zika em gestantes e consequências para o desenvolvimento
neuropsicomotor de crianças nascidas sem microcefalia**

Tese apresentada à Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Mestre em Ciências.

Área de Concentração: Saúde da Criança e do Adolescente

Orientadora: Profa. Dra. Marisa Márcia Mussi

Versão Corrigida

RIBEIRÃO PRETO

2022

Autorizo a reprodução e divulgação total ou parcial deste trabalho, por qualquer meio convencional ou eletrônico, para fins de estudo e pesquisa, desde que citada a fonte.

Godoi, Juannicelle Tenório Albuquerque Madruga

Infecção pelo vírus Zika em gestantes e consequências para o desenvolvimento neuropsicomotor de crianças nascidas sem microcefalia. Ribeirão Preto, 2022.

78 p.: il.; 30 cm

Dissertação de Mestrado, apresentada à Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto/USP. Área de concentração: Saúde da Criança e do Adolescente.

Orientadora: Mussi, MM

1. Desenvolvimento neuropsicomotor. 2. Microcefalia. 3. Vírus Zika.
4. Bayley III.

Nome: GODOI, Juannicelle Tenório Albuquerque Madruga

Título: Infecção pelo vírus Zika em gestantes e consequências para o desenvolvimento neuropsicomotor de crianças nascidas sem microcefalia.

Tese apresentada à Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Mestre em Ciências.

Aprovado em:

Banca Examinadora

Prof. Dr. _____

Instituição: _____

Julgamento: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____

Julgamento: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____

Julgamento: _____

AGRADECIMENTOS

Aos Meus Pais, pelo amor incondicional, pelo suporte, pelo exemplo de caráter, honestidade e respeito ao próximo. Por conseguirem me dar todos os subsídios e incentivos necessários para que eu me dedicasse à vida acadêmica e profissional. Pelo acolhimento de volta a Recife, com tantos percalços, mas sempre guiados por Deus, sabendo que não há tempestade que não passe e que tem que ter fé nesta vida.

Aos Meus Irmãos, que são como ídolos para mim. Exemplos de Pais, de profissionais, que colocam dedicação e sacrifício em tudo que se predispõem a fazer e o fazem com maestria.

A minha Mãe e minha Irmã, que sempre foram minhas referências na área acadêmica e me apresentaram ao mundo da Medicina. Minha mãe que dedica sua vida, ativamente, à Medicina, aos pacientes, aos alunos e à UFPE.

Aos meus sobrinhos: Paulinho, Emanuel, Tidinho e Manuela. Pelo amor incondicional e por trazerem alegria a nossas vidas.

À Amora, por ser minha companhia em todos os momentos, pelo mais puro e sincero amor e por ser luz na minha vida.

A Eduardo, pelo companheirismo, cuidado, incentivo, amor e compreensão durante esta jornada.

À toda equipe da Pós-graduação, pelo acolhimento, pelo aprendizado, pelas grandes amizades feitas. Por cada um que cuidou para que tudo saísse da melhor forma e nos despertasse o gosto pela pesquisa.

À Vera, pelo carinho, atenção, cuidado e por tanta gentileza com cada aluno que passa por esta Pós-graduação.

A Junior e Luís, da TI, que sempre me receberam com um sorriso no rosto e me incentivaram a cada conquista na pós-graduação.

A Davi, meu estatístico, que se tornou um amigo. Pela paciência, disponibilidade, pelas conversas, histórias de vida compartilhadas, risadas e choros, pelos sermões e por sempre me dar força para concluir este projeto.

À Stephani, uma grande amiga que o NATZIG me deu, TO que realizou grande parte dos Testes de Triagem de Bayley III, os quais foram fundamentais para realização deste projeto.

Ao HCFMRP-USP, sobretudo, Ao HC Criança, por ter me permitido desfrutar dos conhecimentos e atuar no ambulatório como uma das Pediatras deste Projeto.

À cada criança e mãe participantes deste Projeto, pela preocupação e por quererem o melhor atendimento para seus filhos, que, com certeza, lhes foi garantido.

À Prof. Dra. Heloísa Bettiol e a todos os membros do Projeto Brisa, pela contribuição, suporte, pela colaboração e disponibilidade, não só fornecendo os dados que formaram o grupo controle do nosso Estudo, mas sobretudo nas discussões enriquecedoras e na preocupação com nosso Projeto.

À Sílvia, pelo acolhimento no NEIMP, pela ajuda e disponibilidade neste Projeto, por ter sido figura chave para que tudo se tornasse real e possível no NATZIG.

À Dra. Marisa, primeiramente, por me acolher como Pediatra NATZIG, por me convidar para atuar no grupo de pesquisa “NEIMP”, e por me convidar para ser sua aluna de Mestrado. Ela me abriu várias portas, até que todas as etapas do processo da pós-graduação fossem concluídas. Pela confiança, carinho, cuidado, preocupação, atenção e disponibilidade, conversas, reflexões sobre a vida, sermões, coisas de mãe mesmo! Porque ela sempre foi muito mais do que uma Orientadora e sempre fiz questão de que ela soubesse. Eu criei um laço afetivo que extrapolou as barreiras da Profa. Doutora Marisa Mussi, que para mim sempre foi uma referência de dedicação à pesquisa, de caráter e postura, um ser humano incrível, que tive a honra de conhecer e até pude dar uns bons abraços. Uma orientadora nata. Ela nasceu para a pesquisa e o ensino.

Agradeço por nunca desistir. Por minha resiliência com a vida e com as circunstâncias que ela me impõe, por acreditar que com muito esforço e dedicação eu consigo ir além dos meus limites. Por saber que meu papel não é só com a Medicina e a Pesquisa, por possuir uma enorme empatia, sobretudo com as crianças, que são os maiores presentes que a Medicina me deu, e por saber respeitá-las, cuidá-las e protegê-las, já que por trás de cada uma delas existem sonhos.

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

RESUMO

GODOI, J.T.A.M. **Infecção pelo vírus Zika em gestantes e consequências para o desenvolvimento neuropsicomotor de crianças nascidas sem microcefalia.** Tese (Mestrado) Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2022.

Introdução: O vírus Zika (ZIKV) é neurotrópico. A criança infectada pode apresentar microcefalia, lesões no Sistema Nervoso Central e suas consequências. A Síndrome Congênita do ZIKV é definida como o espectro mais grave da doença. Há dificuldades em se confirmar o diagnóstico da infecção em recém-nascidos. Entretanto, aqueles que não manifestarem características evidentes da doença ao nascimento também podem apresentar consequências da infecção materna. **Objetivo:** Identificar se existiram alterações no desenvolvimento neuropsicomotor (DNPM) de crianças nascidas de mães com infecção pelo ZIKV confirmada na gestação, mas não portadoras de microcefalia ao nascimento, quando comparadas a crianças não expostas à infecção gestacional pelo ZIKV. **Métodos:** Estudo de Coorte Prospectivo Observacional Longitudinal no qual foram comparadas 338 crianças expostas à infecção materna pelo vírus Zika - NATZIG (*“História natural da infecção pelo vírus Zika em gestante e consequências para gestação, o feto e a criança”*), com um grupo controle constituído por 990 crianças não expostas participantes do projeto maior BRISA (*“Brazilian Birth Cohort Studies Ribeirão Preto and São Luís”*). O Instrumento para avaliação do DNPM foi o Teste de Triagem de Bayley III aplicado às crianças por volta dos 24 meses de vida. Comparou-se a diferença entre as médias dos escores obtidos entre crianças expostas e não expostas à infecção materna pelo vírus Zika e foi calculado o Risco Relativo de se obter categorização em Risco e Emergente em cinco domínios do desenvolvimento neuropsicomotor entre elas. **Resultados:** Identificaram-se diferenças entre os escores médios do Teste de Triagem de Bayley III em torno do valor de uma unidade, sendo maiores os escores em crianças expostas nos domínios Cognitivo, Comunicação Expressiva, Motor Fino e Motor Grosso e menor no domínio Comunicação Receptiva do que aqueles de crianças não expostas. Crianças expostas foram classificadas como em Risco ou Emergente pelo Teste de Triagem de Bayley III em pelo menos dois de cinco domínios avaliados do que crianças do grupo controle, com Risco Relativo ajustado de 0.71 (IC95% 0.52; 0.95). Crianças expostas com avaliação periódica até os dois anos de idade tiveram desenvolvimento similar do que aquelas avaliadas uma única vez até aos dois anos de idade. **Conclusão:** Crianças normocefálicas expostas ao vírus Zika na gestação têm risco menor de apresentarem provável anormalidade no DNPM do que crianças não expostas.

Palavras-chave: Desenvolvimento neuropsicomotor, Microcefalia, Vírus Zika, Bayley III

ABSTRACT

GODOI, J.T.A.M. **Zika virus infection in pregnant women and consequences for the neuropsychomotor development of children born without microcephaly.** Thesis (MSc) Faculty of Medicine of Ribeirão Preto, University of São Paulo, Ribeirão Preto, 2022.

Introduction: The ZIKA virus (ZIKV) is neurotropic. The infected child may have microcephaly, lesions in the Central Nervous System, and its consequences. Congenital ZIKV Syndrome is defined as the most severe spectrum of the disease. There are difficulties in confirming the diagnosis of infection in newborns. However, those who do not show clear characteristics of the disease at birth may still have consequences of the maternal infection. **Objective:** To identify whether there are abnormalities in the neuropsychomotor development (NPMD) of non-microcephalic children born to mothers with confirmed ZIKV infection during pregnancy as compared to children not exposed to gestational ZIKV infection. **Methods:** Longitudinal Observational Prospective Cohort Study in which 338 children exposed to maternal ZIKV-infection (NATZIG “Natural history of Zika virus infection in pregnant women and consequences for pregnancy, fetus, and child”) were compared with a control group consisting of 990 children participating in the BRISA project (“Brazilian Birth Cohort Studies Ribeirão Preto and São Luís”). DNPM assessment was done with the Bayley Screening Test III applied to children around 24 months of age. The differences between the average scores obtained by exposed and unexposed children were tested. Relative Risks of the Bayley’s categories Risk and Emerging in five domains of neuropsychomotor development were calculated. **Results:** Differences were identified between the average scores of the Bayley III Screening Test around the value of one unit, with higher scores in exposed children in the Cognitive, Expressive Communication, Fine Motor and Gross Motor domains and lower in the Receptive Communication domain than those of unexposed children. Exposed children were classified as at Risk or Emerging by the Bayley III Screening Test in at least two of five domains assessed than children in the control group, with an adjusted Relative Risk of 0.71 (95%CI 0.52; 0.95). Children exposed with periodic assessment up to two years of age had similar development to those assessed only once up to two years of age. **Conclusion:** Normocephalic children exposed to the Zika virus during pregnancy have a lower risk of having a probable NPMD abnormality than non-exposed children.

Keywords: Neuropsychomotor development, Microcephaly, Zika virus, Bayley III

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Esquema de avaliações da Coorte Materna do Estudo NATZIG.....	30
Tabela 2 - Avaliações clínicas e laboratoriais de Recém-Nascidos e Crianças das COORTES do NATZIG (Coortes 1 e 2).....	33
Tabela 3 - Descrição das variáveis sociodemográficas maternas e dados das crianças de acordo com a exposição ou não ao ZIKV nos grupos de estudo.....	44
Tabela 4 - Descrição dos escores absolutos dos domínios do Teste de Triagem de Bayley III obtidos pelas crianças expostas e não expostas à infecção materna pelo ZIKV.....	46
Tabela 5 - Comparações entre médias dos escores absolutos do Teste de Triagem de Bayley III, entre os grupos do estudo (modelo de regressão linear sob abordagem Bayesiana).....	48
Tabela 6 - Descrição dos escores de acordo com os domínios do Teste de Triagem de Bayley III (%) obtidos por crianças expostas e não expostas à infecção materna pelo vírus ZIKA.....	49
Tabela 7 - Riscos Relativos para a ocorrência de classificação nas categorias Risco/Emergente em cada domínio do Teste de Triagem de Bayley III em crianças expostas e não expostas à infecção materna pelo ZIKV.....	51
Tabela 8 - Subconjunto de 105 crianças expostas ao ZIKV que submetidos ao Teste de Bayley III completo aos 12 meses de vida.....	52
Tabela 9 - Riscos Relativos das crianças para categoria “Risco/Emergente” do Teste de Triagem de Bayley III, considerando-se a presença de, pelo menos, UMA alteração, em CINCO domínios, de acordo com a exposição à infecção materna pelo ZIKV.....	54
Tabela 10 - Riscos Relativos das crianças para categoria “Risco/Emergente” do Teste de Triagem de Bayley III, considerando-se a presença de, pelo menos, DUAS alterações, em CINCO domínios, de acordo com a exposição à infecção materna pelo ZIKV.....	55
Tabela 11 - Riscos relativos para categoria “Risco/Emergente” do Teste de Triagem de Bayley III, para crianças expostas à infecção materna pelo vírus ZIKA considerando-se a presença de, pelo menos, DUAS alterações, em CINCO domínios, de acordo com o seguimento clínico.....	56
Tabela 12 - Sumário de Estudos de Coorte de crianças expostas à infecção materna confirmada ou presumida pelo ZIKV.....	60

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Inclusão das crianças nas Coortes 1 e 2 do NATZIG (Grupo de Expostos).....	34
Figura 2 - Inclusão de crianças na Coorte BRISA (Grupo de Não-Expostos).....	35
Figura 3 - Box Plots dos escores absolutos obtidos nos domínios do Teste de Triagem de Bayley III segundo a exposição materna ao vírus ZIKA (NATZIG - exposto, em vermelho e BRISA - não exposto, em azul).....	45
Figura 4 - Histogramas dos escores do Teste de Triagem de Bayley III (%), de acordo com os grupos dos expostos (NATZIG em vermelho) e não expostos (BRISA em azul) ao ZIKV.....	48

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AIG - Adequado para idade gestacional

AIMS - Alberta Infant Motor Scale

ANATZIG - Ambulatório de Infecções pelo ZIKV em Gestantes de Ribeirão Preto

ASQ - Ages and Stages Questionnaire

BRISA - Brazilian Birth Cohort Studies, Ribeirão Preto and São Luís

CAT - Cardiff Visual Acuity Test

CCT - Cardiff Contrast Test

CDC - Centers for Disease Control and Prevention

CHIKV - Chikungunya

Conf – Confirmada

DENV - Dengue

DP - Desvio Padrão

DRS XIII - Departamento Regional de Saúde XIII

DUM - Data da última menstruação

EUA - Estados Unidos da América

FTII - Teste Fagan de inteligência infantil

GMA - General Movement Assessment

HCRP - Hospital das Clínicas de Ribeirão Preto

HCFMRP-USP - Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto

HINE - Hammersmith Infant Neurological Examination

IC95% - Intervalo de confiança de 95%

IFDC - MacArthur Inventory Scales para aquisição da língua francesa

IG - Idade gestacional

IgM - Imunoglobulina M

IgG - Imunoglobulina G

INTERGROWTH21st - The Internacional Fetal and Newborn Growth Consortium for the 21st Century

INTER-NDA - Neurodevelopment Assessment

T - Termo

M-CHAT - Lista de Verificação Modificada para Autismo em Crianças

MS - Ministério da Saúde

MSEL - Escalas de Mullen de aprendizagem precoce

OMS - Organização Mundial de Saúde

PC - Perímetro Cefálico
PIG - Pequeno para idade gestacional
Pres - Presumida
Pros - Prospectivo
PT - Pré-termo
RT-PCR - Reação em cadeia da polimerase via transcriptase reversa
RM - Ressonância Magnética
RN - Recém-nascido
RP - Razão de prevalência
RR - Risco Relativo
Retr - Retrospectivo
S/N - Se Necessário
SCZ - Síndrome Congênita do ZIKV
SNC - Sistema Nervoso Central
SUS - Sistema Único de Saúde
SWYC - Pesquisa de Bem-Estar de Crianças Pequenas
Trans - Transversal
TCLE - Termo de Consentimento Livre e Esclarecido
TEA - Transtorno de Espectro Autista
UPC - Unidade de Pesquisa Clínica
USG - Ultrassonografia
WHO - World Health Organization
WIDEA - Warner Initial Developmental Evaluation of Adaptive and Functional Skills

SUMÁRIO

I INTRODUÇÃO.....	14
I.I Síndrome Congênita do ZIKV.....	15
I.II Desenvolvimento Neuropsicomotor de crianças portadoras de Microcefalia.....	17
I.III Desenvolvimento Neuropsicomotor nos primeiros 1000 dias da criança.....	17
I.IV Instrumentos para avaliar o Desenvolvimento infantil.....	20
II REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	22
III JUSTIFICATIVA E RELEVÂNCIA.....	24
IV HIPÓTESE.....	23
V OBJETIVOS.....	26
V.I Objetivo Primário.....	26
V.II Objetivo Secundário.....	26
VI MÉTODOS.....	27
VI.I PROJETO NATZIG	27
VI.II PROJETO BRISA.....	31
VI. III População e critérios de seleção de participantes deste Estudo.....	32
VI.IV Desenho do Estudo.....	36
VI.V Instrumentos para avaliação do Desenvolvimento Neuropsicomotor.....	37
VI.VI ANÁLISE DE DADOS.....	39
VI.VII ASPECTOS ÉTICOS.....	40
VII RESULTADOS	41
VIII DISCUSSÃO	51
IX CONCLUSÕES.....	63
X REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	64

I INTRODUÇÃO

O vírus Zika é composto por uma cadeia simples de RNA, pertence à família Flaviviridae (Kuno et al., 1998) e ao gênero Flavivírus, tendo sido descoberto em 1947 na floresta de Zika na Uganda, em macacos Rhesus. A identificação em humanos só ocorreu em 1952, na Tanzânia (Dick et al., 1952). Ele é considerado um arbovírus (vírus transmitido por artrópodes). O modo mais importante de transmissão do ZIKV é por meio da picada do mosquito fêmea do *Aedes aegypti* infectado (Musso et al., 2015). Este mosquito também é o vetor dos vírus da Dengue (DENV), Febre Amarela e Chikungunya (CHIKV) (Piersen & Diamond, 2013).

Diferentemente de outros Flavivírus, a transmissão do ZIKV também tem sido descrita por contato entre seres humanos, destacando-se a via sexual, transplacentária e sanguínea (Besnard et al., 2014; Musso et al., 2015; Cunha et al., 2016; Hills et al., 2016; Oster et al., 2016). Foram detectados RNA do vírus em fluidos corporais como sangue, sêmen, líquido amniótico, líquido cefalorraquidiano, urina (Gourinat et al., 2015), saliva (Musso et al., 2015), secreções vaginais, fluidos oculares e no leite materno, porém a transmissão desses fluidos ainda não foi totalmente esclarecida. Acredita-se que vinte por cento das pessoas infectadas cursam com alguma manifestação clínica, sendo a grande maioria assintomática (Duffy et al., 2009; Musso et al., 2014). O período de incubação varia de dois a sete dias (Piersen & Diamond, 2013). Ressalta-se a hiperemia conjuntival (conjuntivite não purulenta), o exantema maculopapular (frequentemente pruriginoso), artralgia, edema das extremidades, febre baixa (< 38,5°C), cefaleia, dor retro ocular, vertigem e mialgia. De forma geral, o quadro agudo desaparece aproximadamente em cinco dias (Duffy et al., 2009; Cardoso et al., 2015). Comparando-se às manifestações clínicas provocadas pelo vírus da DENV ou CHIKV, aquelas decorrentes do ZIKV parecem ser menos graves nos adultos. No entanto, isto não isenta o ZIKV da possibilidade de associar-se com a síndrome de Guillain-Barré e a quadros de Meningoencefalite (Oehler et al., 2014; Carteaux et al., 2016; Ferreira et al., 2016). Os sintomas graves ocasionados por esta infecção não são observados quando a carga viral atinge o seu máximo, mas quando o vírus é eliminado dos tecidos do hospedeiro pela resposta imunológica inata e adaptativa (Whitehorn & Simmons, 2011).

O exame preconizado para confirmação da infecção pelo ZIKV é a reação em cadeia da polimerase via transcriptase reversa (RT-PCR) (Sullivan, 2015). Devido ao período virêmico ser de curta duração (1 a 7 dias após início do exantema), recomenda-se que a amostra sanguínea seja obtida até o 5º dia do surgimento dos sintomas. No entanto, o RT-PCR da urina consegue ser detectado até o 10º-11º dia após o início do quadro virêmico. Não existem ensaios sorológicos comercialmente disponíveis e validados para a detecção de anticorpos específicos para o ZIKV, pois ocorre reação cruzada contra diferentes Flavivírus. Há, no entanto, testes sorológicos de

imunoglobulina M (IgM) contra o ZIKV, liberados emergencialmente, para uso em gestantes pelo Centers for Disease Control and Prevention (CDC, 2016).

O primeiro grande surto de infecção pelo ZIKV foi identificado em 2007 na ilha de Yap, Micronésia (Duffy et al., 2009; Musso et al., 2015). Posteriormente, foram identificadas duas linhagens do ZIKV, uma Africana e outra asiática (Haddock et al., 2012; Baronti et al., 2014; Enfissi et al., 2016). Segundo Freire et al., o surto epidêmico ocorrido em 2015 no Brasil pareceu advir de uma adaptação genética da linhagem Asiática (Faria et al., 2016).

I.I Síndrome Congênita do ZIKV

A transmissão vertical do ZIKV tem maior importância face à sua relação com os potenciais danos ao embrião/feto, a exemplo da microcefalia (Mlakar et al., 2016) e dos defeitos oculares (De Paula Freitas et al., 2016; Ventura et al., 2016).

Durante a epidemia brasileira, a infecção das gestantes pelo ZIKV e a ocorrência de microcefalia em RNs foram inicialmente verificadas nos Estados de Pernambuco, Paraíba e Bahia em outubro de 2015 (ECDC, 2015; MS, 2015; Oliveira et al., 2015; Calvet et al., 2016), cujas comunidades estavam infestadas pelo mosquito *Aedes aegypti* (Oliveira et al., 2015). Após a comprovação de algumas evidências, o Ministério da Saúde do Brasil (MS, 2015) sugeriu a relação entre a infecção na gestante pelo ZIKV e a ocorrência de microcefalia nos RNs, o que aconteceu em 28 de novembro de 2015. Esta associação baseou-se em uma série de dados, resultados e evidências. A seguir serão elencados alguns deles: Identificação de óbitos em RNs com malformações e padrão sugestivo de infecção ocorridos no Rio Grande do Norte; Identificação de dois óbitos em diferentes unidades federadas com resultados negativos para outros vírus e identificação do RNA do ZIKV em vísceras destes fetos mortos; Evidência na literatura de que o ZIKV é neurotrópico e a constatação de que, após a emergência no Brasil, a Polinésia Francesa identificou casos similares em seu território; Identificação do RNA do ZIKV em líquido amniótico de duas gestantes do interior da Paraíba, cujos fetos apresentavam microcefalia; Verificação de que os primeiros meses de gestação das mulheres com crianças microcefálicas corresponderam ao período de maior circulação do ZIKV na região Nordeste; Verificado, após investigação epidemiológica de prontuários e entrevistas com mais de 60 gestantes, associação entre exantema na fase inicial da gravidez e nascimento de crianças com microcefalia, sem histórico de doença genética na família ou exames de imagem sugestivos de processo infeccioso. A evidência epidemiológica deu-se através de um estudo realizado no Rio de Janeiro em 2016, associando a infecção gestacional pelo Zika ao nascimento de crianças microcefálicas ou com outros acometimentos do Sistema Nervoso Central (Brasil et al., 2016, Rasmussen et al., 2016).

A infecção pelo ZIKV durante a gestação está associada a morte fetal, insuficiência placentária, restrição do crescimento fetal, lesões no sistema nervoso central (SNC), microcefalia e calcificações intracranianas. O auge de ocorrência de microcefalia está associado à infecção pelo vírus no primeiro trimestre da gestação. Trata-se de um vírus neurotrópico, que tem afinidade por neurônios em alguns estágios do desenvolvimento embrionário fetal, particularmente no período de mitose neuronal e glial, migração neuronal e formação/organização da microarquitetura do SNC. É importante lembrar o papel dos mediadores e das quimioquinas inflamatórias, que além de serem neurotóxicos, causam edema no tecido cerebral fetal com consequente isquemia/hipóxia provocando apoptose e morte celular (Eklind et al., 2001; Burd et al., 2009).

A microcefalia representa uma disrupção no desenvolvimento neurológico em que a medida do perímetro cefálico (PC) do RN está 2 desvios-padrões (DP) abaixo do limite de normalidade na curva de idade gestacional (IG) e sexo (INTERGROWTH21st). Considera-se microcefalia leve quando a medida do PC está entre 2 a 3 DP abaixo da média e microcefalia grave quando a medida do PC está abaixo de 3 DP. De forma geral, o prognóstico neurológico da criança portadora de microcefalia confirma o óbvio, quanto mais grave e acentuada é a microcefalia, mais comprometido ele será. Nas microcefalias leves é muito difícil prevê-lo (Ashwal et al., 2009; Pihu & Mallinger, 2013; WHO, 2016).

Miranda-Filho et al., 2016, e o “*Microcephaly Epidemic Research Group*”, destacaram a confirmação de uma série de agravos adicionais à saúde perinatal destas crianças, a exemplo da artrogripose e lesões difusas no SNC. Também foram encontradas alterações na retina e coróide, que consistem principalmente em lesões atróficas, com bordas hiperpigmentadas, a maioria localizada no polo posterior (Ventura et al., 2016; de Paula et al., 2016). Além disso, não se sabe a prevalência de lesões oculares em RNs de gestantes infectadas pelo ZIKV nascidos com PC normal.

A ultrassonografia (USG) é o primeiro exame para avaliação encefálica, tanto no período pré-natal como em RNs e lactentes, já que é um exame não invasivo, de baixo custo, pode ser realizado no leito, não apresenta risco de exposição à radiação ionizante, não há contraindicações para sua realização nem há necessidade de sedação (Hess, 2012). Porém, principalmente em casos de infecções conhecidas ou alteração cerebral já estabelecida, como nas microcefalias graves, a USG deve ser complementada com Ressonância Magnética de Encéfalo (RM) (Lanari et al., 2012). Atualmente, a RM é considerada o exame padrão ouro para se confirmar ou avaliar as possíveis alterações identificadas por USG, principalmente do SNC (Hess; Barkovich, 2012; Glenn & Barkovich 2006; Blondiaux; Garel, 2013). Alterações cerebrais relacionadas à infecção congênita por ZIKV vêm sendo descritas em neonatos: microcefalia, anomalias corticais, simplificação giral, ventriculomegalia, calcificações periventriculares, calcificações nos núcleos da base, disgenesia do corpo caloso e hipoplasia cerebelar (Hazin et al., 2016; Oliveira et al., 2016; De Fatima et al., 2016;

Cavalheiro et al., 2016). Cabe ressaltar que nos fetos e neonatos sem microcefalia, oligossintomáticos ou assintomáticos, não foram descritas alterações cerebrais características ou que poderiam levar a um impacto evidente na qualidade de vida deles no futuro.

Apesar de haver alterações fenotípicas da Síndrome Congênita do ZIKV, há dificuldades em se confirmar o diagnóstico da infecção em RNs, pois, os testes sorológicos não são sensíveis ou específicos o bastante (Sullivan, 2015). Sem o diagnóstico confirmatório da infecção na criança, é importante monitorar o desenvolvimento em serviços especializados, que possuam Pediatra, Oftalmologista, Neurologista, Ortopedista, Fonoaudiólogo, Fisioterapeuta e Terapeuta Ocupacional, de todos os neonatos nascidos de gestantes infectadas com algum tipo de comprometimento grosseiro detectável ao exame semiótico. Perde-se, no entanto, a oportunidade de propiciar cuidados de estimulação precoce ou reabilitação para crianças cujo comprometimento não seja tão evidente.

I.II Desenvolvimento Neuropsicomotor de crianças portadoras de Microcefalia

A microcefalia vem acompanhada, na maioria das crianças, de alterações motoras e cognitivas que variam de acordo com o grau de acometimento cerebral. A criança pode apresentar atraso no desenvolvimento neuropsicomotor (DNPM), déficits auditivos, físicos, cognitivos e/ou visuais (Nobert et al., 2016). Por meio da aplicação da escala de Denver II, observa-se uma média de aquisições nos campos de desenvolvimento muito baixa. Também, devido a possíveis transtornos no aparelho locomotor como pés tortos congênitos, luxação de quadril e artrogripose, pode-se haver dificuldades ainda maiores nas aquisições motoras (Alvino et al., 2016), como comprometimento nas competências do rolar, arrastar e engatinhar. A maioria das crianças microcefálicas só têm a vivência das posturas supina e prona, com grande dificuldade em estabilizar a cervical e de manter-se na postura sentada sem apoio. Isso compromete a aquisição de posturas mais altas como ortostase, não havendo perspectiva para a marcha voluntária. Conseqüentemente, não conseguem desenvolver as suas reações de proteção. Apresentam atraso importante no DNPM associado a alterações visuais, auditivas e sensoriais, o que irá impactar na independência funcional e na inserção social dos mesmos (Botelho, 2016).

I.III Desenvolvimento Neuropsicomotor nos primeiros 1000 dias da criança

Os primeiros 1000 dias de vida compreendem desde a concepção até os dois anos de idade da criança. São 270 dias da gestação, 365 dias do primeiro ano somados a 365 dias do segundo ano de vida. Estes primeiros 1000 dias são cruciais para o crescimento e desenvolvimento infantil, pois

trata-se de um período de janela de oportunidades, no qual é possível adotar hábitos e atitudes que irão influenciar no futuro do bebê. Neste período, o cérebro apresenta o mais rápido crescimento e passa por processos fundamentais para obter o desenvolvimento da melhor e mais correta forma. Ao nascer a criança apresenta reflexos primitivos, que possuem uma tendência de ficarem menos evidentes, ao mesmo tempo em que novas habilidades vão se desenvolvendo, como fixar o olhar, acompanhar objetos, demonstrar prazer e desconforto, levantar/sustentar o pescoço, emitir sons (balbuciar), reconhecer as pessoas próximas e diferenciá-las de estranhos, rolar, sentar, arrastar, engatinhar. Contudo, para que a criança consiga atingir pleno potencial, o ambiente em que ela vive deve ser o mais saudável e estimulante possível. A epigenética corrobora que os efeitos do ambiente tais como alimentação, estresse, atividade física, exposição ao fumo e álcool, entre outros hábitos e atitudes, neste período, possam causar um impacto nos indicadores de saúde e doença a curto e longo prazos. Embora mecanismos subjacentes não sejam ainda totalmente esclarecidos, exposições adversas tanto na vida intrauterina como no início do período pós-natal podem afetar a saúde da mãe e do bebê ao longo do ciclo da vida e para gerações futuras por meio de alterações epigenéticas. Isso poderia explicar potenciais mecanismos por meio de modificações de expressões gênicas e fenotípicas que incluem metilação de DNA. O período de desenvolvimento infantil é particularmente sensível a alterações epigenéticas induzidas por exposições adversas na gravidez (Gudsnuk e Champagne, 2011). Portanto, a monitorização do desenvolvimento neuropsicomotor das crianças é fundamental para identificar aquelas em alto risco e garantir-lhes atendimento e suporte adequados.

Problemas no desenvolvimento cognitivo, físico e social são mais frequentes em crianças de países de baixa e média renda, em consequência de possíveis problemas perinatais e da maior frequência de ambientes familiares desfavoráveis, nos quais a estimulação e o suporte social são muitas vezes inadequados. Portanto, nestes primeiros 1000 dias de vida é possível determinar um futuro saudável para todos os indivíduos, e a transdisciplinaridade baseada na prevenção é o caminho para atingir esse alvo. (Matijasevich et al., 2018).

No Brasil, pesquisas de base populacional desenvolvidas com dados da Coorte de Nascimento de Pelotas (Victora et al., 1993) evidenciam que o percentual de crianças com atraso no desenvolvimento neuropsicomotor é elevado, fundamentalmente entre aquelas de maior risco social. Sexo masculino, cor da pele negra e baixa escolaridade materna, assim como baixo nível econômico da família e pobre estimulação da criança apresentaram forte associação com atrasos no desenvolvimento cognitivo, físico e social.

Também, a coexistência de deficiências e excessos nutricionais tem sido descrita como carga dupla de má-nutrição, considerada o desafio atual da agenda de saúde pública global. Gestantes e crianças menores de dois anos de idade estão entre os grupos populacionais de maior

risco para deficiência de micronutrientes que afetam também o desenvolvimento, a imunidade e assegurar o desenvolvimento fetal adequado (Munhoz et al., 2022). Em 2012, a Organização Mundial da Saúde (OMS) destacou a origem da deficiência de múltiplos micronutrientes na gravidez e na infância relacionada a acesso, práticas e consumo alimentares inadequados e à frequência e gravidade de infecções. Para o bebê, o leite materno é o melhor alimento, oferecendo também benefícios à saúde materna (controle de peso após o parto e proteção para câncer de mama). Muitos compostos bioativos do leite humano podem induzir alterações na metilação do DNA e é possível que, sem a exposição a esses fatores, bebês alimentados com fórmulas infantis possam apresentar diferenças na regulação de processos epigenéticos (transcrição de genes e/ou na síntese proteica), contribuindo para um pior perfil de saúde em longo prazo. Esses compostos também podem influenciar na composição da microbiota intestinal na infância, exercendo papel mediador na relação entre alimentação complementar e risco para ganho de peso excessivo, distúrbios do metabolismo ósseo e para doenças cardiovasculares na adolescência e vida adulta. A amamentação é ainda importante na promoção do equilíbrio no desenvolvimento de toda musculatura facial e da cavidade oral do recém-nascido, o que durante seus 1000 dias facilitará a correta articulação dos sons da fala no período de aquisição da linguagem oral (Victora et al., 2015). Este período dos primeiros 1000 dias contribuirá para moldar preferências alimentares futuras as quais são fatores de risco comuns para diferentes agravos de saúde.

Jean Piaget, biólogo que muito influenciou a pedagogia do século XX, investigou o desenvolvimento cognitivo da criança desde o nascimento até a adolescência. Ele demonstrou como a própria criança é agente de seu desenvolvimento. Parte da construção e compreensão surgem de quatro determinantes básicos: a maturação do Sistema Nervoso Central, a estimulação do ambiente físico, a aprendizagem e a tendência do equilíbrio. O desenvolvimento cognitivo começa com o nascimento e evolui acompanhando o crescimento e a maturidade com os conhecimentos possíveis a ela. A inteligência é o mecanismo de adaptação ao mundo exterior, a uma situação nova e implica a construção contínua de novas estruturas. Desta forma, os indivíduos se desenvolvem intelectualmente a partir de exercícios e estímulos oferecidos pelo meio que os cercam. Portanto, a inteligência pode ser exercitada, buscando um aperfeiçoamento, que evolui desde o nível mais primitivo da existência, caracterizado por trocas bioquímicas até o nível das trocas simbólicas. O ser humano somente conhece a realidade atuando sobre ela. Na fase sensório-motor (0 a 2 anos) a criança está explorando o meio físico através de seus esquemas motores, a principal característica desse período é a ausência da função semiótica, isto é, a criança não representa mentalmente os objetos.

De acordo com Piaget (1973), “a Escola desempenha um importante papel no desenvolvimento da criança, pois, proporciona interação e trocas de conhecimentos a partir de sua

realidade. O ambiente escolar deve ser estimulante, devendo estar fundamentado numa proposta que tenha como característica processos dinâmicos para a construção cognitiva”.

O ato de brincar é muito mais do que apenas um momento de diversão. É de grande importância para o desenvolvimento infantil, pois brincando, as crianças conseguem estabelecer relações sociais, entender sua autonomia, organizar emoções, aprender regras e limites, testar as suas limitações físicas, desenvolver o raciocínio, atenção, imaginação, criatividade e aumentar a interação familiar. Além disso, brincar desenvolve a aprendizagem da linguagem e habilidade motora (Cordazzo et al., 2007).

Ao descrever as habilidades por domínios adquiridos no desenvolvimento neuropsicomotor da criança, de forma conceitual, sabe-se que através do processo **cognitivo** o ser humano consegue desenvolver suas capacidades intelectuais e emocionais, de linguagem, pensamento, memória, raciocínio, capacidade de compreensão e percepção. Já a **comunicação expressiva** é a capacidade de se expressar, verbalmente ou não, após adquirir a capacidade de compreensão de conceitos e de adquirir unidades significativas de experiências proporcionando a capacidade de se comunicar com outras pessoas. A expressão pressupõe a recepção. A **comunicação receptiva** compreende o entendimento da entonação, da melodia da voz do outro durante a fala e do significado das palavras em seus diferentes contextos. Muito antes de começar a falar, a criança está habilitada a usar o olhar, a expressão facial e o gesto para comunicar-se com os outros. Sobre o desenvolvimento **motor grosso** define-se as atividades dos grandes músculos do corpo e relaciona-se com as funções de sustentação da cabeça, sentar, andar, correr. E o **Motor fino** define as atividades relacionadas aos movimentos de preensão e relaciona-se com as etapas do movimento de pinça (Sociedade Brasileira de Pediatria, 2014).

I.IV Instrumentos para avaliar o Desenvolvimento Infantil

Um dos mais básicos e eficientes métodos de avaliação do desenvolvimento neuropsicomotor infantil é a ficha de acompanhamento para crianças, preconizada pelo Ministério da Saúde desde 1984, do nascimento aos seis anos de vida, cujos Marcos do Desenvolvimento são registrados a cada consulta pediátrica para avaliar as aquisições de habilidades. Consideram-se quatro principais indicadores: maturação, psicomotor, social e psíquico. É importante salientar que cada marco possui um período com uma margem de variação temporal tida como adequada para o neurodesenvolvimento infantil, com a idade corrigida em casos de prematuridade, demonstrando que essas aquisições não são fixas nem iguais para todas as crianças.

Cada método pode e deve ser complementar na avaliação do DNPM infantil, pois não existe nada absoluto que atinja e contemple de forma universal uma avaliação tão ampla e complexa. A seguir alguns instrumentos para avaliação do DNPM serão citados.

GMA (General Movement Assessment): Trata-se de uma escala de da movimentação generalizada do bebê., que avalia a parte motora. Portanto, ela não foca nas demais áreas de desenvolvimento. Utilizada a partir de 26 semanas de idade pós-menstrual, ou seja intra-útero, até 20 semanas pós-termo. Trata-se do padrão ouro para diagnóstico precoce da Paralisia Cerebral (Novak et al., 2017).

Denver II (Teste de Triage e Desenvolvimento): é um instrumento de triagem rápida, aplicado quando há suspeita de atraso no desenvolvimento ou a exposição a fatores de risco. O teste abrange a faixa etária de um a 24 meses. Avalia as funções motora axial e apendicular, linguagem e aspectos pessoais e sociais, a partir de um *kit* padronizado. É prevista, também, a aplicação de um questionário prévio para os pais. Identifica crianças que necessitam de encaminhamento para serviços de estimulação precoce ou serviços especializados (CAMPOS et al., 2004).

AIMS (Alberta Infant Motor Scale): Escala que avalia a maturação motora global desde o nascimento até 18 meses de vida, uma área específica do desenvolvimento. Identifica risco de atraso motor e possibilita a implementação de programas a partir dos seus resultados (CAMPOS et al., 2004).

ASQ (Ages and Stages Questionnaire): É composto por escalas para crianças de diferentes idades cobrindo o intervalo de 1 mês a 5 anos e meio de idade. Cada escala avalia o desenvolvimento ao longo de cinco dimensões: Comunicação, Motora Ampla, Motora Fina, Resolução de Problemas e Pessoal e Social. A avaliação é realizada com base na resposta a seis quesitos dirigidos aos pais. Os resultados obtidos irão visualizar a possibilidade de realizar ações e políticas para um planejamento estratégico por região, respeitando diferenças e especificidades (Squires et al., 2009).

HINE (Avaliação Neurológica Infantil de Hammersmith): Trata-se de uma avaliação realizada em crianças que aborda aspectos neurológicos, motores e comportamentais dos 2 aos 24 meses de vida. Avalia seis categorias: tônus, tipo de tônus, reflexos, movimentos, sinais anormais e comportamento. Tem respaldo científico, é um exame padronizado, classificável e pode ser usado tanto na prática clínica quanto para pesquisa. É uma avaliação de fácil execução, acessível e com boa confiabilidade. Trata-se de uma das principais ferramentas de diagnóstico precoce das alterações neurológicas da Paralisia Cerebral, contudo, promove uma informação adicional sobre o tipo e a gravidade da seqüela motora, além de identificar alterações relacionadas a outros aspectos das funções neurológicas, como as auditivas, visuais e alimentares (Domenico et al., 2016).

Teste de Triagem de Bayley III: Avalia 5 domínios do desenvolvimento neuropsicomotor infantil, sendo eles: Cognitivo, Comunicação Expressiva e Receptiva, Motor Grosso e Fino, do nascimento aos 42 meses de vida. Reforçando que cada domínio possui uma ficha específica, preenchida pelo examinador, com relevância equivalente, não existindo subdomínios ou subcategorias. Trata-se de um método que avalia a imensidão dessa temática, composto de 135 itens, aplicado por um profissional capacitado e previamente treinado, utilizando um Kit padrão (Bayley, 2006). Este teste será descrito de forma mais minuciosa ao longo desta dissertação.

II REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Segundo Da Silva et al., 2016, ao analisarem 48 crianças maranhenses gravemente acometidas (86,7% microcefálicas e 95,8% com desproporção craniofacial) observaram o crescimento da cabeça com escores-Z cada vez mais negativos, sintomas piramidais/extrapiramidais e epilepsia, o que já era esperado perante a população de estudo.

Marques et al., 2019, realizaram um estudo de Coorte visando avaliar a trajetória motora e a frequência de paralisia cerebral em crianças com Síndrome Congênita do ZIKV, em processo de reabilitação na Rede Sarah do Rio de Janeiro. No total de 39 participantes, 35 crianças (89,7%) preencheram os critérios para o diagnóstico de paralisia cerebral. 25/39 pacientes foram avaliados por meio dos Testes de Triagem de Bayley III aos 12 meses de vida, cujos resultados demonstraram atraso motor grave e um risco aumentado para paralisia cerebral.

Teriam as crianças expostas à infecção materna durante a gestação pelo ZIKV efeitos deletérios sobre o DNPM aos 24 meses de vida, mesmo que nascidas sem microcefalia?

Considerando-se o neurotropismo viral, pode-se supor que mesmo crianças nascidas sem alterações evidentes de acometimento do SNC pelo ZIKV, possam apresentar efeitos decorrentes da exposição viral durante a vida intrauterina. Até o primeiro momento de nossa revisão bibliográfica foram publicados três estudos visando compreender melhor a infecção pelo ZIKV e suas consequências, sobretudo neurológicas, em crianças não portadoras de microcefalia ao nascer.

Moreira et al., 2018, realizaram um estudo prospectivo de coorte com 182 crianças expostas à infecção gestacional confirmada pelo ZIKV. Foi aplicada o Teste de Triagem de Bayley III em 104 crianças aos 12 e 18 meses de idade, sendo que em 19 crianças (14%) foi encontrado atraso grave no desenvolvimento neurológico, disfunção sensorial ou ambos. Não houve um grupo controle, o que limitou o estudo e não pode embasar a ideia de exposição-desfecho desejada.

Cardoso et al., 2019, descreveram 19 crianças cariocas para buscarem sinais precoces de anormalidades. Estas nasceram sem microcefalia, a termo, de mães infectadas com ZIKV durante a gravidez. Foram aplicadas as escalas Alberta, de desenvolvimento motor, Ashworth, de grau de irritabilidade, e Denver II. A maioria das crianças (18/19; 94,7%) tiveram algum sinal de anormalidade no desenvolvimento com um ou sete meses de vida. São limitações desse estudo a se considerar: número de casos relativamente pequeno, ausência de grupo controle, período de análise curto e variável.

Todos os estudos supracitados foram realizados sem que houvesse um grupo controle para avaliar a exposição ao Zika na gestação com o desfecho de algum possível atraso no DNPM. Os estudos de Coorte controlados vão ser descritos na tabela 9, para uma avaliação mais aprofundada.

Einspieler et al., 2019, realizaram um estudo de Coorte composto por dois grupos de crianças para a análise do neurodesenvolvimento: 1) crianças expostas no útero a uma doença exantematosa materna durante a epidemia de ZIKV no Brasil, sem diagnóstico confirmado (FIOCRUZ, Rede Sarah, Belo Horizonte); 2) crianças sem qualquer exposição perinatal ao ZIKV (Banco de dados da Pesquisa Audiovisual da Universidade de Graz - Áustria). Foi realizada uma avaliação geral por meio da escala “*General Moviment Assessment*” (GMA), com 9 a 20 semanas de idade pós-natal, e por meio do Teste de Triagem de Bayley III, aos 12 meses de vida. Comparou-se os grupos de crianças considerando as características de IG, idade cronológica e sexo. Foram avaliadas 444 crianças: 111 expostas (35 com microcefalia) e 333 não expostas. A maioria (82,1%) dos bebês expostos ao ZIKV, sem microcefalia, eram saudáveis aos 12 meses de vida. No entanto, algumas dessas crianças não se desenvolveram adequadamente. Contudo, a comparação foi feita com grupos muito distintos do ponto de vista cultural, ambiental, socioeconômico, e, sobretudo, o nível de escolaridade materna, que são fatores bastante influentes e relevantes no DNPM da criança.

Diante desse cenário, é importante fazer o acompanhamento das crianças que foram expostas ao ZIKV na gestação por especialistas. Devem ser realizadas avaliações periódicas para identificar de forma precoce possíveis alterações, para que elas possam ser tratadas e estimuladas de forma a melhorar o prognóstico, a qualidade de vida, planejar uma possível reabilitação e integração social.

Os demais estudos sobre esta temática serão descritos e analisados posteriormente na sessão VIII - Discussão desta dissertação.

III JUSTIFICATIVAS E RELEVÂNCIA

Considerando os agravos para o desenvolvimento intrauterino do SNC, há anos o processo reprodutivo em humanos não era atingido de forma tão contundente por um microrganismo (Duarte, 2016). A microcefalia associada à recente epidemia do ZIKV é indiscutivelmente o evento sentinela visível de maior gravidade. (Miranda-Filho et al., 2016; Oliveira Melo et al., 2016).

É importante compreender e caracterizar o amplo espectro de manifestações clínicas, neurológicas e não neurológicas da doença, visando providenciar cuidados adequados, planejar sistemas e serviços, melhorar a notificação e suportar a pesquisa. Portanto, são necessários estudos de Coorte prospectivos longitudinais, que caracterizem detalhadamente a evolução destas crianças nascidas de mães com diagnóstico de ZIKV na gestação para avaliar o DNPM, visto que na literatura a maioria dos estudos inclui apenas crianças microcefálicas, nas quais já se espera um atraso significativo. Faltam estudos para avaliar as crianças que foram expostas ao ZIKV na gestação, mas que não manifestaram sinais clínicos evidentes da doença ao nascimento, com um grupo controle suficientemente capaz de embasar a pesquisa.

Este projeto nos permitiu identificar as consequências da infecção pelo ZIKV sobre o DNPM de crianças nascidas sem microcefalia, visando avaliar a magnitude da doença em questão.

IV HIPÓTESE

Supôs-se que a ocorrência de prejuízo no DNPM aos 24 meses de vida em crianças nascidas sem microcefalia, cujas mães tiveram diagnóstico de infecção pelo ZIKV na gestação, fosse mais frequente que o das crianças não expostas ao vírus.

V OBJETIVOS

V.I OBJETIVO PRIMÁRIO

Identificar se existiram consequências/alterações no DNPM, aos 24 meses de idade, de crianças nascidas de mães com infecção confirmada pelo ZIKV na gestação, mas não portadoras de microcefalia ao nascimento, comparadas a crianças não expostas à infecção gestacional pelo ZIKV.

V.II OBJETIVO SECUNDÁRIO

Avaliar se as crianças que foram acompanhadas periodicamente em serviço de referência nos primeiros 12 a 24 meses de idade tiveram melhor desempenho no DNPM que as crianças avaliadas uma única vez em torno de 24 meses de vida.

VI MÉTODOS

Este estudo faz parte do Projeto maior **NATZIG** (*“História natural da infecção pelo vírus Zika em gestante e consequências para gestação, o feto e a criança”*), sendo o grupo controle constituído por crianças participantes do projeto maior **BRISA** (*“Brazilian Birth Cohort Studies Ribeirão Preto and São Luís”*) cujos sumários serão descritos a seguir:

VI.I PROJETO NATZIG

O Estudo NATZIG foi proposto visando conhecer que proporção de mulheres com infecção confirmada pelo ZIKV durante a gestação transmiti-la-iam aos seus filhos e o amplo espectro de consequências. Parte dessas gestantes foram encaminhadas pela Secretaria Municipal de Ribeirão Preto para o Ambulatório de Infecções pelo ZIKV em Gestantes (ANATZIG) do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto (HCFMRP-USP), criado especialmente em abril de 2016 para atendê-las. Essas assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE) e foram submetidas a questionários sobre dados demográficos, obstétricos, doenças sexualmente transmissíveis, alergias, exposição a pessoas com doenças agudas febris e uso de medicamentos. Foram realizados exames físicos e USGs mensais abordando aspectos obstétricos e fetais. Caso houvesse suspeita de microcefalia complementou-se o estudo com a RM de Encéfalo (Papageorghiou et al., 2014; Papageorghiou et al., 2016).

Ao todo, houve 1116 gestantes com sintomas *Zika-like* que foram submetidas a testes diagnósticos para infecção pelo vírus ZIKA. 29,3% (327) testaram positivo por meio da detecção de RNA-ZIKV em sangue dentro de 5 dias após o início dos sintomas; 4,4% (49) testaram positivo através da detecção do vírus na urina dentro de 8 dias após o início dos sintomas e 11,9% (133) tiveram os dois métodos positivos, todos coletados para avaliação pelo Instituto Adolfo Lutz. A infecção por ZIKV foi confirmada em 1 mulher com ZIKV-RNA detectável também no líquido amniótico e 1 em tecido feto-placentário (Coutinho et al., 2020). Portanto, 511 (45,8%) gestantes foram diagnosticadas como portadoras de infecção pelo ZIKV em Ribeirão Preto e no Departamento Regional de Saúde XIII (DRS XIII), formou-se assim a Coorte Materna do NATZIG. Houve oportunidade de seguimento no pré-natal e parto no HCRP de 189/511 (37%) dessas mulheres (Tabela 1).

Tabela 1 - Esquema de avaliações da Coorte Materna do Estudo NATZIG

	Entrada	2º trimestre	3º trimestre	Parto	6 semanas pós-parto
Questionário sobre saúde	X	X	X	X	X
Exame físico	X	X	X	X	X
Ultrassonografia fetal	X	X	X		
Líquido Amniótico (> 16 semanas de gestação)		PCR		PCR	
Sangue- Zika IgG; IgM/ PCR (plasma)	X	X	X	X	X
PCR Saliva, secreções genitais e urina	X	X	X		X
Tecido placentário*				PCR	
Saliva/urina				PCR	PCR
Leite materno				PCR	PCR
Produtos da gestação*					

*Tecido placentário amostrado de 6 locais. A placenta foi fixada e processada para histologia rotineira, sendo a segunda amostra processada para RNA viral.
 *Quaisquer produtos da gestação incluindo espécimes de autópsia, foram obtidos para ensaios virológicos.
 PCR - Reação da polimerase em cadeia; IgG- imunoglobulina G; IgM- imunoglobulina M.

Obs: A inclusão se deu a partir da data que a paciente chegou ao serviço.

Todas as crianças nascidas no HCRP, quanto àquelas nascidas em outras maternidades e encaminhadas para avaliação e seguimento, eram candidatas potenciais para tomar parte das coortes de crianças do NATZIG. Constituíram-se assim duas coortes de acordo com a idade de entrada no estudo. Foram identificadas inicialmente 486 crianças nascidas de mulheres infectadas pelo ZIKV. As diferentes coortes e suas respectivas avaliações estão descritas abaixo e na Figura 1.

Caracterização e avaliações das Coortes de crianças do Estudo NATZIG

COORTE 1 - Coorte de Recém-Nascidos e de Crianças com até 6 meses de idade, nascidas sem microcefalia, cujas mães residiam em Ribeirão Preto, eram usuárias do Sistema Único de Saúde, tiveram infecção comprovada por ZIKV na gestação e foram periodicamente avaliadas.

As crianças pertencentes à **COORTE 1** foram avaliadas pelo Pediatra, com consultas programadas ao nascimento, com 3, 6, 9, 12, 18 e 24 meses de vida. Utilizou-se um formulário padronizado, de acordo com a faixa etária da criança, dirigido à mãe, constando de dados da gravidez e do pré-natal, do parto e do nascimento, características e hábitos de vida materno, escolaridade e dados para contato.

Elas foram submetidas a exame clínico, avaliação antropométrica (peso, perímetro cefálico, comprimento e perímetro torácico). A medida do perímetro cefálico foi realizada com a fita métrica utilizada pela Organização Mundial de Saúde (OMS), de forma padronizada, comparando-se com dados de referência da curva INTERGROWTH21st (Papageorghiou et al., 2014 e 2016). Também foram registradas intercorrências clínicas, uso de medicações, hábitos alimentares, situação vacinal, frequência ou não à creche/escola, morbidades observadas no período, eliminações fisiológicas e os marcos do desenvolvimento infantil.

Quando se identificaram retardos nas aquisições de habilidades para idade, tratamentos de estimulação precoce eram iniciados, para que esforços no campo da reabilitação fossem garantidos. Essas crianças foram encaminhadas para consultas com os especialistas de acordo com a necessidade individual e solicitados seguimento apropriado. Portanto, planejou-se que essas crianças fossem acompanhadas durante dois anos, a partir da idade mais precoce possível e fossem avaliadas periodicamente. A Tabela 2 resume as avaliações planejadas.

COORTE 2 - Crianças com a idade > 6 meses e até 24 meses de vida, nascidas sem microcefalia, do Departamento Regional de Saúde XIII, cujas mães apresentaram infecção confirmada pelo ZIKV na gestação, que não haviam sido acompanhadas no projeto NATZIG e foram avaliadas pelo menos uma vez.

As crianças da **COORTE 2** foram detalhadamente avaliadas e, quando necessário, acompanhadas, visando a confirmação de repercussões e deficiências. Realizou-se triagem inicial composta por avaliações simultâneas semelhantes às realizadas na Coorte 1, que incluiu: assinatura do TCLE, responder a um questionário sobre saúde, dados antropométricos, exame físico geral pelo Pediatra, coleta de sangue - anticorpos ZIKV IgG, ZIKV IgM, exame oftalmológico, exame audiológico, Teste de Triagem de Bayley III, avaliação neurológica completa se necessário (S/N), exame de imagem do SNC (USG Craniana e RM de Encéfalo, S/N). Foram encaminhadas para reabilitação e seguimento crianças que apresentaram alterações no DNPM, na audição e na visão.

Tabela 2: Avaliações clínicas e laboratoriais de Recém-Nascidos e Crianças das COORTES do NATZIG (Coortes 1 e 2)

	Nasc	3-6 sem	3 meses+/- 4 s	6 meses +/-4 s	12 meses+/-4 s	18 meses+/-4 s	24 meses+/-4 s
Exame físico com Peso, Comprimento, Perímetro Craniano	X	X	X	X	X	X	X
Questionário de Saúde (extraído dos arquivos médicos e entrevistas)	X	X	X	X	X	X	X
Avaliação Laboratorial							
Saliva para PCR para ZIKV e CMV	X	X	X	X	X		
Urina para PCR para ZIKV e CMV	X	X	X	X	X		
Sangue (3 ml)							
Sífilis, Toxoplasmose, PCR Parvovírus B19, Herpes 1 e 2, Enterovírus, se necessário (S/N)	X		S/N	S/N	S/N		
IgG para Zika	X			X		X	X
IgM para Zika	X	X	X				
PCR para Zika	X		X	X	X		
Enzimas hepáticas	X						
Hematologia	X						
Avaliação Neurológica							
Exame físico, Marcos do Desenvolvimento e Hammersmith Infant Neurological Examination (HINE)	X		X	X	X	X	
Bayley-III-Teste de Triagem		X	X	X		X	X
Bayley-III – Escala Completa					X		
Avaliação de Imagem SNC							
Ultrassonografia Craniana			Até X				
Ressonância Magnética de Encéfalo			S/N				
Avaliação Audiológica							
Emissões Otoacústicas (EOA) e Potencial Evocado Auditivo de Tronco Encefálico (PEATE) - triagem	X		X				
EOA +Behavioral Observation Audiometry (BOA) ou Audiometria por Reforço Visual (VRA) ou Audiometria Lúdica + (PEATE+ Imitância Acústica)				X	X	X	X
Avaliação Oftalmológica	X (rotina)	X		X	X		X

VI.II PROJETO BRISA

O Estudo BRISA, acrônimo de “*Brazilian Birth Cohort Studies, Ribeirão Preto and São Luís*”, visou avaliar fatores etiológicos do nascimento pré-termo, as consequências desses fatores na saúde da criança, a repercussão da prematuridade, o surgimento de eventos precoces/ao longo da vida, possíveis alterações neurológicas e comportamentais (Da Silva et al., 2014). O projeto BRISA compreendeu duas coortes:

1) **Coorte de Pré-Natal** (amostra de conveniência): iniciada durante a gestação entre 22-25 semanas, de feto único, com um exame de ultrassonografia obstétrica realizado no primeiro trimestre.

2) **Coorte de Nascimento**: Avaliada a partir do nascimento da criança.

No presente estudo serão analisados os dados referentes às mães e crianças da Coorte de Pré-Natal. A primeira fase das avaliações ocorreu entre fevereiro de 2010 e fevereiro de 2011. As gestantes foram identificadas em hospitais e unidades de saúde por uma consulta de pré-natal realizada até o 5º mês de gestação. As de gravidez única e que tivessem um exame de ultrassonografia obstétrica realizado no primeiro trimestre da gestação foram inicialmente incluídas no estudo (DA SILVA et al., 2014). Ao todo, a Coorte de Pré-Natal recrutou 1400 gestantes em Ribeirão Preto. Todas as entrevistadas assinaram o TCLE, responderam a questionário padronizado que incluiu dados referentes à saúde reprodutiva, dados demográficos e socioeconômicos, características da gravidez e hábitos de vida, obtidos por uma equipe previamente treinada. Todas as participantes realizaram exame de USG nesta fase. Estas avaliações ocorreram na Unidade de Pesquisa Clínica (UPC) do HCFMRP-USP.

As participantes foram avaliadas também após o nascimento de seus respectivos filhos. Houve perdas referentes à amostra inicial devido a aborto, recusas em responder à entrevista após o parto, não localização da gestante durante a internação e alta precoce. Ao todo, 1370 (97,9%) puérperas foram reavaliadas nesta segunda fase e mostraram-se elegíveis ao estudo. Dados antropométricos do RN (peso, comprimento e perímetro cefálico) foram registrados.

Previamente ao início do estudo BRISA, a equipe de campo para coleta das informações nas maternidades e todos os funcionários desses locais responsáveis pela realização da antropometria dos RNs foram treinados, bem como os equipamentos (antropômetros, balanças digitais pesa-bebês e fitas métricas) foram avaliados e foram periodicamente calibrados pela equipe.

Identificaram-se natimortos e óbitos ocorridos no primeiro ano de vida, além do aborto já identificado na etapa anterior. Dessa forma, 1357 participantes foram considerados elegíveis para a avaliação no seguimento, sendo 1069 pares de mães e crianças que participaram dessas avaliações. Novas perdas (288 casos) ocorreram devido a recusas e não localização das mães nos endereços e telefones fornecidos nas avaliações anteriores.

Entre 12 e 36 meses de idade, as mães e seus respectivos filhos foram convidados para uma nova avaliação. Nesta fase, para o estudo do desenvolvimento neuropsicomotor das crianças foi realizado o Teste de Triagem de Bayley III, individualmente, em uma sala apropriada da UPC do HCFMRP-USP, por profissionais de saúde previamente treinados e qualificados. Nessa avaliação foram registrados dados antropométricos, de alimentação e de morbidades referidas pelas mães ao longo do período, desde o nascimento.

VI.III POPULAÇÃO E CRITÉRIOS DE SELEÇÃO DE PARTICIPANTES DESTE ESTUDO

Para este estudo, foram selecionadas crianças para as Coortes do NATZIG expostas à infecção materna pelo ZIKV, nascidas em 2016, e da Coorte BRISA de Pré-Natal, nascidas em 2010, recrutadas em Ribeirão Preto, segundo os seguintes critérios:

Crítérios de inclusão das crianças nas Coortes do NATZIG

Filhos de gestantes com o diagnóstico confirmado pela infecção do ZIKV, com ausência de microcefalia ao nascimento, pertencentes às Coortes do NATZIG 1 e 2, e que tivessem sido avaliadas pelo Teste de Triagem de Bayley III próximo à idade de 24 meses.

O peso ao nascer e o perímetro cefálico foram classificados de acordo com as curvas do INTERGROWTH-21st, conforme recomendação da OPAS. Microcefalia foi definida como uma pontuação de perímetro cefálico abaixo do escore Z -2 DP, ou seja, menor que a média apropriada para uma determinada idade e sexo. Microcefalia grave foi definida como uma pontuação de PC abaixo do escore Z -3 DP. Portanto, incluíram-se crianças cujo PC estivesse acima destes escores supracitados.

Não foram incluídas nestas coortes crianças nascidas com outras infecções congênitas que não o ZIKV, portadoras de síndromes genéticas, alterações cromossômicas, malformações maiores ou de alguma alteração neurológica identificada clinicamente ao nascimento. Não foram incluídas crianças de peso ao nascer $\leq 1500g$. Também não foram incluídas crianças diagnosticadas com infecção do Sistema Nervoso Central ou outras doenças neurológicas que

pudessem comprometer o desenvolvimento neuropsicomotor. Assim como, não foram incluídas crianças com condições crônicas graves que comprometessem o estado geral ou de nutrição.

A Figura 1 apresenta um esquema de inclusão das crianças nas Coortes do NATIZIG (Grupo de expostos).

Critérios de inclusão das crianças na Coorte BRISA

Foram selecionadas para esse estudo, as crianças que tivessem realizado o Teste de Triagem de Bayley III entre 12 e 36 meses de idade, que não tivessem sido identificadas com microcefalia de acordo com o critério previamente apresentado, malformações maiores ao nascimento, asfixia neonatal ou pós-natal graves e as de peso ao nascer $\leq 1500\text{g}$. Também não foram incluídas crianças diagnosticadas com infecção do Sistema Nervoso Central ou outras doenças neurológicas que pudessem comprometer o desenvolvimento neuropsicomotor. Assim como, não foram incluídas crianças com condições crônicas graves que comprometessem o estado geral ou de nutrição.

A Figura 2 apresenta um esquema de inclusão das crianças na Coorte BRISA (Grupo de não-expostos).

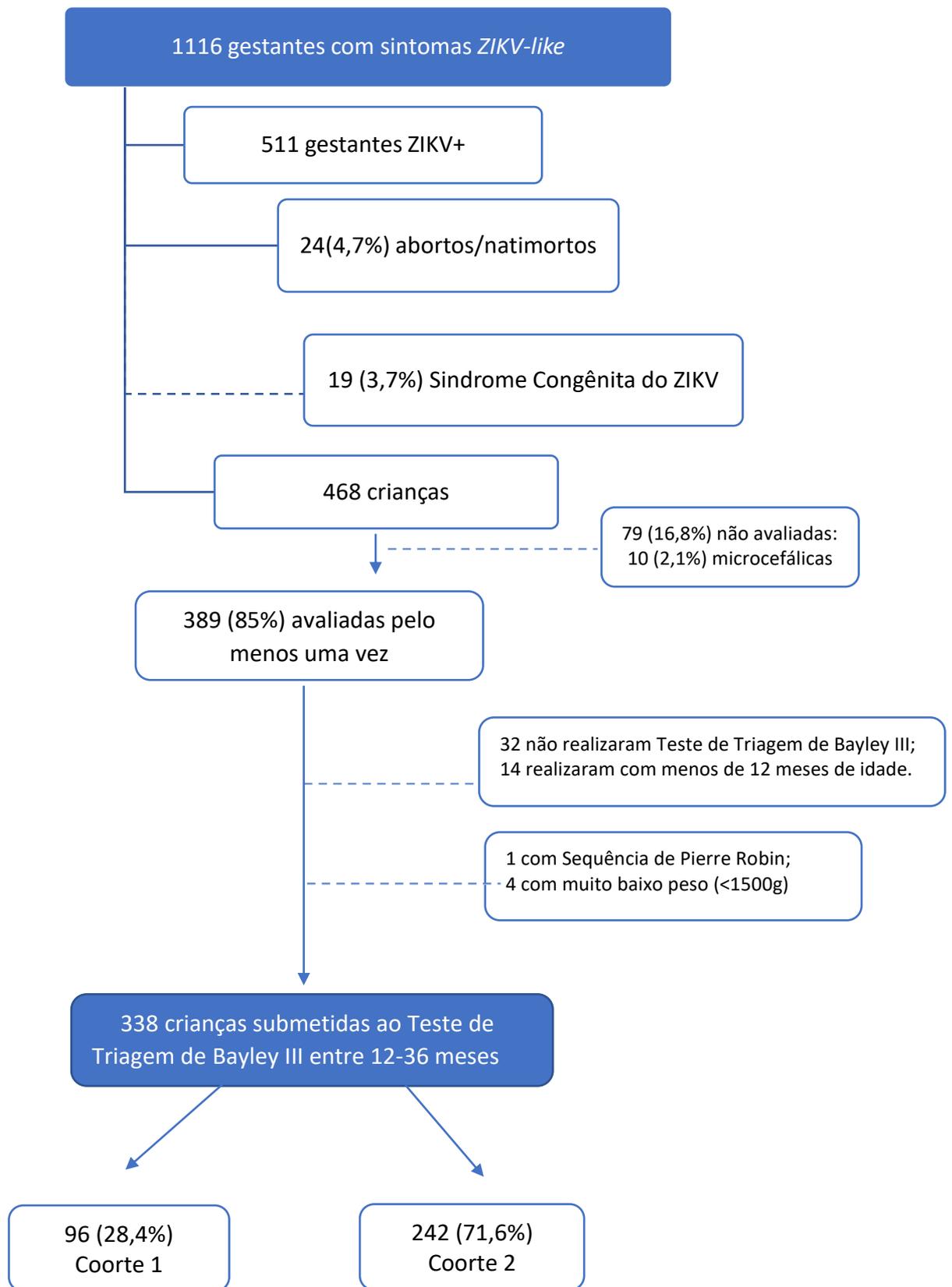


Figura 1 - Inclusão das crianças nas Coortes 1 e 2 do NATZIG (Grupo de Expostos) – Ano 2016

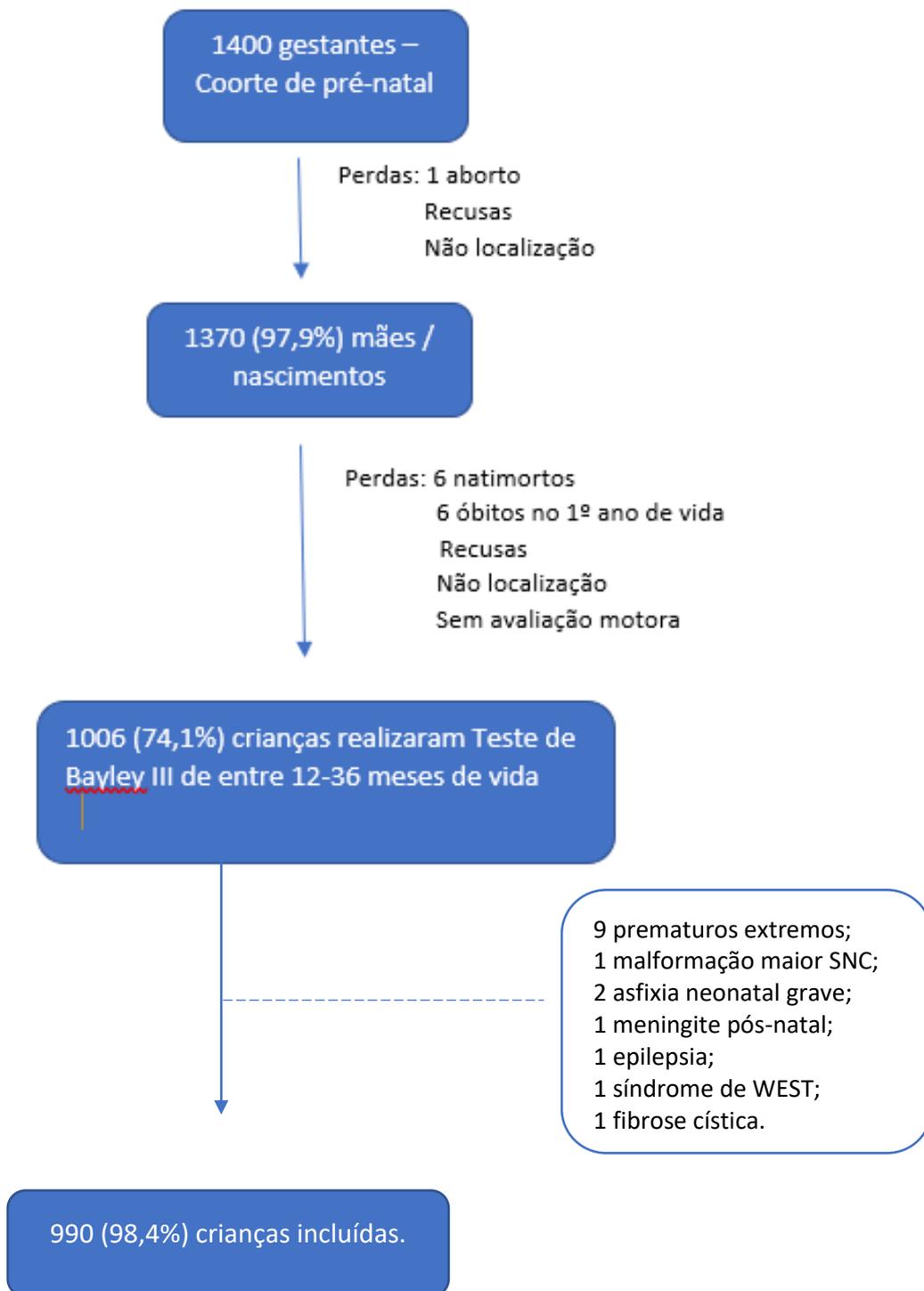


Figura 2 - Inclusão de crianças na Coorte BRISA (Grupo de Não-Expostos) – Ano 2010

VI.IV DESENHO DO ESTUDO

Realizou-se um modelo de Estudo de Coorte Prospectivo Observacional Longitudinal, no qual o grupo de estudo foi constituído de crianças expostas à infecção materna pelo vírus Zika e o grupo controle de crianças provavelmente não expostas à infecção materna pelo mesmo vírus, uma vez que nasceram 6 anos antes de ter sido identificada a circulação do vírus entre nós.

O desfecho principal avaliado em ambos os grupos foi o desenvolvimento neuropsicomotor em torno de 24 meses de idade, avaliado por meio do Teste de Triagem de Bayley III.

Não houve cálculo de tamanho amostral, tendo sido incluídas todas as crianças disponíveis do projeto NATZIG (338 crianças) e do projeto BRISA (990 crianças) que realizaram o Teste de Triagem de Bayley III por volta dos 24 meses de vida, caracterizando-se como amostragem de conveniência.

Foram, então, constituídos os seguintes grupos de participantes:

GRUPO de ESTUDO (NATZIG):

COORTE 1- 96 crianças expostas à infecção materna pelo ZIKV e acompanhadas periodicamente a partir do nascimento até 24 meses de idade

COORTE 2- 242 crianças expostas à infecção materna pelo ZIKV e avaliadas a partir de 6 meses e/ou em torno dos 24 meses de vida.

GRUPO CONTROLE (BRISA):

COORTE 3- 990 crianças nascidas de gestantes não expostas ao ZIKV na gestação avaliadas em torno dos 24 meses de vida

Variáveis para caracterização das crianças estudadas

A partir dos dados obtidos em ambas as coortes originais nas quais este estudo está aninhado, obtiveram-se as variáveis maternas e sociodemográficas, tais como: Idade (anos completos); Escolaridade (anos completos); Consumo de bebida alcoólica (tipo de bebida, frequência e quantidade); Tabagismo (número de cigarros/dia); Uso de drogas ilícitas durante a gestação (tipo de droga, quantidade/dia); Paridade; Realização do pré-natal (número de consultas); Sorologias do pré-natal; Tipo de parto; Local do parto; Presença de doenças prévias ou durante a gestação.

Também foram registrados dados das crianças tais como: Sexo; Raça; índice de Apgar; Dados antropométricos do nascimento e a cada consulta (Peso em gramas, Perímetro Cefálico em cm, Perímetro Torácico em cm e Comprimento em cm); Idade Gestacional (IG) do nascimento (em semanas + dias); Idade atual (em meses); Relação de peso para IG e sexo, de acordo com as curvas de Intergrowth21st (VILLAR et al., 2015), que classifica como: Pequeno para IG (PIG <P10), Adequado para IG (AIG, P10-P90), e Grande para IG (GIG>P90); Idade de desmame (em meses); Alimentação atual e Morbidades.

Em algumas crianças das Coortes do NATZIG foram realizados exames de imagem por meio da ultrassonografia cerebral.

VI.V INSTRUMENTOS PARA AVALIAÇÃO DO DESENVOLVIMENTO NEUROPSICOMOTOR

Ao nascer, as crianças da Coorte 1 foram avaliadas pelo "*Hammersmith Infant Neurological Examination*" (HINE) (Dubowitz et al.,1980; Dubowitz et al.,1998), examinando nervos cranianos, postura, movimentos, tônus e reflexos, bem como marcos do desenvolvimento e comportamento.

O Teste de Triagem de Bayley III é um instrumento administrado individualmente, designado para avaliar as funções de crianças do nascimento até 42 meses de vida. É composto por 135 itens e tem como proposta primária determinar se a criança está progredindo de acordo com a expectativa normal para idade e determinar se uma avaliação mais detalhada é necessária. Avalia cinco domínios do DNPM: Cognitivo, Comunicação Receptiva, Comunicação Expressiva, Motor Grosso e Motor Fino. A pontuação de corte do Teste de Triagem de Bayley III identifica se a criança apresenta ou não risco para atraso no DNPM. A versão utilizada fornece três indicadores a partir de notas de ponto de corte: **Competente** (> 85 pontos), **Emergente** (entre 71-85 pontos) e em **Risco** (< ou = 70 pontos). A categoria Competente enquadra crianças consideradas de baixo risco para apresentarem atraso no DNPM. Na maioria dos casos não precisam de avaliação posterior. A categoria Emergente enquadra crianças que apresentam algum risco para o atraso no DNPM. Nestes casos, a necessidade de uma avaliação mais detalhada deve ser feita à luz de todas as informações sobre a criança. A categoria de Risco enquadra crianças que necessitam de avaliação mais aprofundada. Em casos de nascimento pré-termo a idade gestacional será corrigida, até completar 40 semanas de vida. Caso a criança apresente falhas no teste de triagem, nas idades supramencionadas, ela deve ser submetida a Escala completa de Bayley III, para fins diagnósticos e identificação de intervenções clínicas.

O Teste de Triagem de Bayley III foi utilizado para avaliação do DNPM na Coorte 1 ao nascimento e aos 3, 6, 9, 18 e 24 meses. Aos 12 meses foi utilizada a Escala Bayley de

Desenvolvimento Infantil, 3ª Edição (BSID III) (Bayley, 2006), que cobre funções Cognitivas, de Comunicação e Motoras, tendo sido aplicadas por Terapeutas Ocupacionais previamente treinados e qualificados. Crianças das 3 Coortes foram submetidas ao Teste de Triagem de Bayley III, sendo periodicamente (Coorte 1) ou em um único momento em torno de 24 meses de idade (Coortes 2 e 3).

VI.VI ANÁLISE DE DADOS

O estudo tem o objetivo de comparar crianças expostas e não expostas à infecção materna pelo vírus ZIKA (NATZIG e BRISA, respectivamente) com relação ao desenvolvimento cognitivo, de comunicação expressiva e receptiva e motor grosso e fino. A coorte NATZIG é formada por crianças que tiveram as mães ZIKV positivas na gestação, que nasceram no ano de 2016, mas sem microcefalia. A coorte BRISA é formada por crianças nascidas no ano de 2010, em Ribeirão Preto, cujas mães tiveram informações coletadas desde o pré-natal e não foram expostas ao vírus, pois, naquela época não há nenhuma indicação que o vírus ZIKA estivesse circulando nessa comunidade. A idade de aplicação do teste de triagem de Bayley III, para ambas as coortes, foi entre 12 e 36 meses.

Após uma descrição detalhada das variáveis de interesse do estudo, foram comparadas as médias dos escores do Teste de Triagem de Bayley III em número absoluto (escala original) e em percentual entre os grupos. Devido à presença de pontos discrepantes, optou-se pelo ajuste de um modelo de regressão linear sob abordagem Bayesiana, o qual não possui pressupostos de heterocedasticidade e normalidade dos resíduos, requeridos para o ajuste de um modelo semelhante sob abordagem frequentista. Assim, foram ajustados modelos simples e múltiplos, considerando uso de drogas/álcool, escolaridade materna e adequação do peso da criança para a idade gestacional e sexo ao nascer pela curva Intergrowth-21st como covariáveis. Foram realizadas análises exploratórias demonstradas em Box Plots dos escores absolutos obtidos nos domínios do Teste de Triagem de Bayley III segundo à exposição materna ao ZIKV ou não. Foi utilizado o pacote JAGS do software R 3.5.1.

Para o cálculo dos riscos relativos, quando considerado o Teste de Triagem de Bayley III na forma categórica, foi ajustado um modelo de regressão log-binomial. As mesmas covariáveis, citadas anteriormente, foram consideradas para a obtenção do Risco Relativo ajustado. Foi utilizado o software SAS 9.4.

Foram utilizados os bancos de dados de ambos os estudos NATZIG e BRISA, já consolidados.

VI.VII ASPECTOS ÉTICOS

O projeto NATZIG foi aprovado pelo CEP – FMRP-USP em 24 de junho de 2016. Processo 7404/2016 e todos os participantes assinaram o TCLE. O projeto BRISA foi aprovado pelo CEP – FMRP-USP em 2008. Número do parecer 11157/2008 atendendo aos critérios da Resolução 196/96 do Conselho Nacional de Saúde e todos os participantes assinaram o TCLE. Os objetivos desse estudo de análise do DNPM já estavam previstos nos estudos originais e, portanto, essa análise não foi objeto de nova apreciação do projeto pelo Comitê de Ética.

VII RESULTADOS

As características maternas e dos recém-nascidos participantes desta pesquisa estão descritas abaixo na Tabela 3. Nas gestantes, observa-se que a idade, a frequência de primigestas e do uso de álcool/drogas foi semelhante entre mulheres infectadas ou não pelo ZIKV. Quanto à escolaridade, apesar da frequência de gestantes com menos de 8 anos de estudos ser semelhante, a escolaridade superior a 12 anos foi mais frequente entre as mulheres expostas à infecção pelo Vírus Zika do que nas do grupo controle das não expostas. Observou-se, também, que mulheres portadoras do ZIKV tiveram maior prevalência de morbidades gestacionais, como diabetes e hipertensão, do que aquelas não infectadas pelo Vírus (Tabela 3).

Quanto às crianças, o desenvolvimento neuropsicomotor foi avaliado em idades semelhantes, 24 meses nos expostos ao ZIKV e 22 meses nos não expostos. Os dados antropométricos como peso, perímetro cefálico ao nascer e no momento da avaliação do Teste de Triagem de Bayley III também foram comparáveis. Ligeiramente, houve maior frequência de crianças classificadas como pequenas para idade gestacional (PIGs) e que tiveram aleitamento materno entre as nascidas de mulheres não expostas à infecção pelo Vírus Zika do que nas infectadas (Tabela 3).

Tabela 3 - Descrição das variáveis sociodemográficas maternas e dados das crianças de acordo com a exposição ou não ao ZIKV nos grupos de estudo.

DADOS MATERNOS	Expostos ao ZIKV (NATZIG, n=338)			Não expostos ao ZIKV Grupo controle (BRISA, n = 990)
	Coorte 1 (n=96)	Coorte 2 (n=242)	Total (n=338)	Total (n=990)
Idade materna (anos)	26.83[6.53]	28.14[5.93]	27.77[6.13]	26.10[6.12]
Escolaridade				
>=12 anos	17(17.71)	71(30.21)	88(26.59)	79(7.99)
9 a 11 anos	53(55.21)	100(42.55)	153(46.22)	642(64.91)
<=8 anos	26(27.08)	64(27.23)	90(27.19)	268(27.10)
Primigesta	54(59.34)	148(64.63)	202(63.13)	549(55.45)
Hipertensão/Diabetes	32(33.33)	109(45.80)	141(42.22)	149(15.05)
Drogas/Álcool	25(26.04)	54(22.88)	79(23.80)	305(30.84)
Momento da Infecção pelo ZIKV na gestação				
1º Trimestre	8(8.99)	41(17.98)	49(15.46)	*
2º Trimestre	41(46.07)	82(35.96)	123(38.38)	*
3º Trimestre	40(44.94)	105(46.05)	145(45.74)	*

Frequencia (%); Média [DP]

DADOS DAS CRIANÇAS	Expostos ao ZIKV	NATZIG	Não Expostos BRISA	
	Coorte 1 (n=96)	Coorte 2 (n=242)	Total(n=338)	Total(n=990)
Peso de nascimento (g)	3260.3[403.10]	3196.33[440.48]	3214.34[430.64]	3236.07[472.07]
Sexo Masculino	55(57.29)	128(53.78)	183(54.79)	483(48.79)
Prematuridade	2(2.20)	18(7.89)	20(6.27)	80(8.08)
Crescimento Intrauterino				
AIG/GIG	82(90.11)	219(93.19)	301(92.33)	906(91.89)
PIG	9(9.89)	16(6.81)	25(7.67)	80(8.11)
Perímetro cefálico ao nascer (cm)	34.49[1.13]	34.50[1.98]	34.50[1.76]	34.29[1.63]
Idade na avaliação do Teste de Triagem de Bayley III (meses)	23.09[4.51]	25.04[3.52]	24.48[3.92]	22.41[3.29]
Perímetro cefálico na avaliação TT Bayley III (cm)	47.68[1.43]	47.94[1.74]	47.87[1.66]	48.25[1.78]
Aleitamento materno exclusivo/misto	*	*	150(44.37)	699(70.60)
Ultrassonografia Craniana				
Normal	29(30.20)	39(16.12)	68(20.12)	*
Alterações Leves ¹	27(28.12)	35(14.46)	62(18.34)	*
Não realizado	40(41.68)	168(69.42)	208(61.54)	*
HINE				
Normal (escore >30.5)	42(91.30)	105(91.30)	147(91.30)	*
Alterado	4(8.70)	10(8.70)	14(8.70)	*

Frequencia (%); Média [DP]; AIG=Adequado para a Idade Gestacional, PIG=Pequeno para a idade gestacional, GIG=Grande para a Idade gestacional; HINE- *Hammersmith Infant Neurological Examination*;

¹ Cistos periventriculares/subependimários , Alargamento dos espaços pericerebrais, Vasculopatia Lenticostriada (Teixeira et al., 2021)

A - Comparação dos parâmetros de Desenvolvimento Neuropsicomotor

A distribuição dos escores absolutos obtidos pelas crianças nos cinco domínios avaliados no Teste de Triagem de Bayley III estão demonstrados na Tabela 4 e nos gráficos de Box Plots (Figura 3). As médias e medianas dos dois grupos são muito semelhantes. Contudo, as crianças expostas ao ZIKV obtiveram maiores escores nos domínios Cognitivo, Comunicação Expressiva, Motor Fino e Motor Grosso e menor no domínio Comunicação Receptiva do que aqueles obtidos em crianças não expostas à infecção materna pelo ZIKV. Percebe-se, também que as menores médias e medianas foram vistas no domínio da Comunicação Expressiva em ambos os grupos.

Tabela 4: Descrição dos escores absolutos dos domínios do Teste de Triagem de Bayley III obtidos pelas crianças expostas e não expostas à infecção materna pelo ZIKV

Grupo	N	Variável	N obs	Média	DP	Mínimo	Q1	Mediana	Q3	Máximo
EXPOSTOS (NATZIG)	338	Cognitivo	326	24,07	3,26	5	23	24	26	32
		Receptivo	326	18,13	2,7	3	16	19	20	23
		Expressiva	326	17,37	3,32	0	16	19	20	24
		MotorFino	326	20,92	2,76	7	19	22	23	24
		MotorGrosso	324	21,72	2,3	10	21	22	23	28
NÃO EXPOSTOS (BRISA)	990	Cognitivo	990	23,12	3	4	21	23	25	33
		Receptivo	990	18,79	2,76	3	17	19	20	24
		Expressiva	989	16,06	3,46	3	14	16	19	23
		MotorFino	990	19,69	2,68	2	18	20	21	27
		MotorGrosso	990	21,02	2,27	0	20	21	22	28

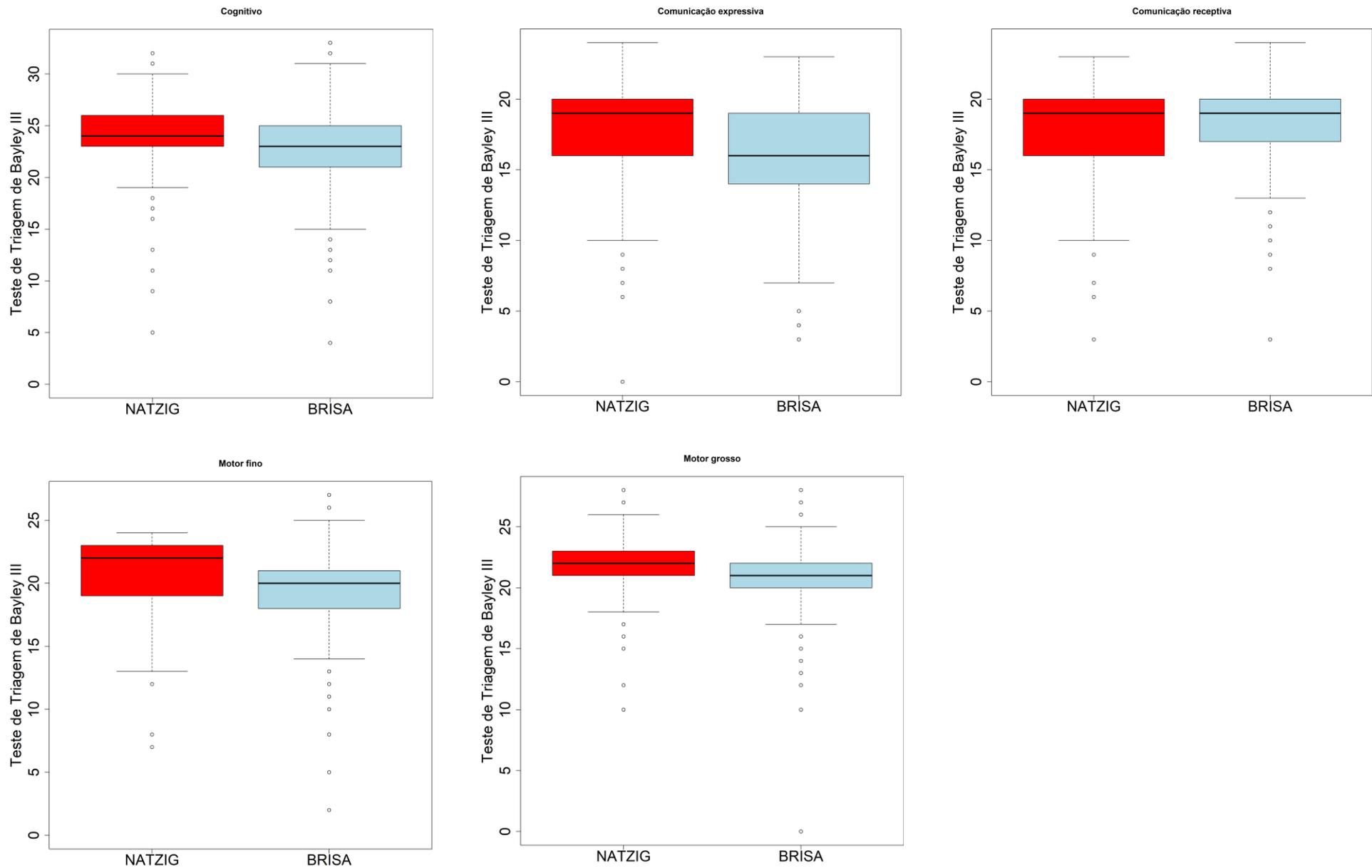


Figura 3- Box Plots dos escores absolutos obtidos nos domínios do Teste de Triagem de Bayley III segundo a exposição materna ao ZIKV (NATZIG-exposto, em vermelho e BRISA – não exposto, em azul)

A comparação entre os grupos de expostos e não expostos ao ZIKV foi testada pela diferença entre as médias dos escores absolutos do Teste de Triagem de Bayley III, em dois modelos, um sem ajuste (Modelo 1) e outro ajustado por uso de drogas/álcool e escolaridade materna e adequação do peso da criança para a idade gestacional e sexo ao nascer pela curva Intergrowth-21st (Modelo 2) demonstrados na Tabela 5. Em ambos modelos, identificam-se diferenças entre as médias dos escores em torno do valor de uma unidade. As crianças expostas apresentando maiores escores nos domínios Cognitivo, de Comunicação Expressiva, Motor Fino e Motor Grosso e menor no domínio Comunicação Receptiva do que aqueles obtidos em crianças não expostas à infecção materna pelo ZIKV.

Tabela 5: Comparações entre médias dos escores absolutos do Teste de Triagem de Bayley III, entre os grupos do estudo (modelo de regressão linear sob abordagem Bayesiana)

Modelo	Variável dependente	Diferença entre Médias	
		NATZIG – BRISA	IC95%
1	Cognitivo	0,95	(0,55; 1,34)
	Receptiva	-0,65	(-0,99; -0,31)
	Expressiva	1,31	(0,90; 1,70)
	Motor Fino	1,22	(0,88; 1,56)
	Motor Grosso	0,69	(0,39; 0,97)
2	Cognitivo	0,79	(0,38; 1,19)
	Receptiva	-0,72	(-1,08; -0,35)
	Expressiva	1,19	(0,72; 1,65)
	Motor Fino	1,21	(0,86; 1,59)
	Motor Grosso	0,69	(0,38; 0,98)

Modelo 1: Sem ajuste;

Modelo 2: ajustado por uso de drogas/álcool e escolaridade materna e adequação do peso da criança para a idade gestacional e sexo ao nascer pela curva Intergrowth-21st

A distribuição dos escores em percentual (%) obtidos nos cinco domínios avaliados no Teste de Triagem de Bayley III segue o mesmo resultado das médias obtidas em números absolutos. Nas medianas, o grupo dos expostos ao ZIKV possui valores maiores nos domínios Cognitivos, de Comunicação Expressiva, Motor Fino, Motor Grosso e iguais na Comunicação Receptiva (Tabela 6). Na distribuição apresentada pelos Histogramas, tem-se a frequência relativa de crianças expostas ou não ao ZIKV durante a gestação (NATZIG e BRISA, respectivamente) em relação aos escores obtidos nos domínios dos Testes de Triagem de Bayley III (Figura 4).

Tabela 6 – Descrição dos escores de acordo com os domínios do Teste de Triagem de Bayley III (%) obtidos por crianças expostas e não expostas à infecção materna pelo ZIKV

Grupo	N	Variável	N obs	Média	DP	Mínimo	Q1	Mediana	Q3	Máximo
EXPOSTOS (NATZIG)	338	Cognitivo	326	72,9	9,9	15,2	69,7	72,7	78,8	97,0
		Receptivo	326	75,5	11,2	12,5	66,7	79,2	83,3	95,8
		Expressiva	326	72,4	13,8	0,0	66,7	79,2	83,3	100,0
		MotorFino	326	77,5	10,2	25,9	70,4	81,5	85,2	88,9
		MotorGrosso	324	77,6	8,2	35,7	75,0	78,6	82,1	100,0
NÃO EXPOSTOS (BRISA)	990	Cognitivo	990	70,1	9,1	12,1	63,6	69,7	75,8	100,0
		Receptivo	990	78,3	11,5	12,5	70,8	79,2	83,3	100,0
		Expressiva	989	66,9	14,4	12,5	58,3	66,7	79,2	95,8
		MotorFino	990	72,9	9,9	7,4	66,7	74,1	77,8	100,0
		MotorGrosso	990	75,1	8,1	0,0	71,4	75,0	78,6	100,0

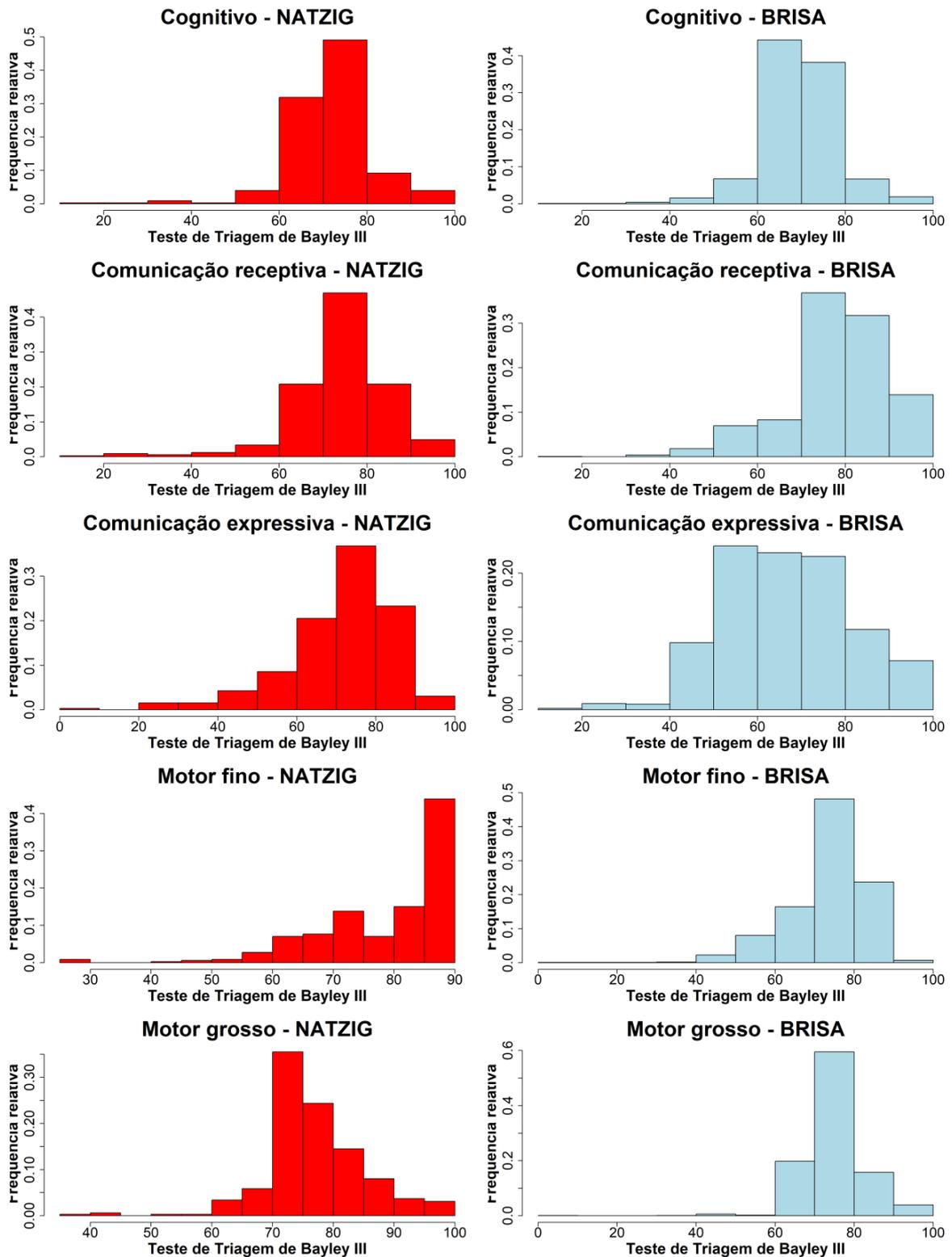


Figura 4: Histogramas dos escores do Teste de Triagem de Bayley III (%), de acordo com os grupos dos expostos (NATZIG em vermelho) e não expostos (BRISA em azul) ao ZIKV

Tabela 7 - Riscos Relativos para a ocorrência de classificação nas categorias Risco/Emergente em cada **domínio** do Teste de Triagem de Bayley III em crianças expostas e não expostas à infecção materna pelo ZIKV

Domínio	ZIKV- Expostos N=338	ZIKV-Não Expostos N=990	RR absoluto (95% CI)
Motor Fino			
Competente	322 (95.27)	905 (91.41)	0.55 (0.32; 0.93)
Emergente/Risco	16 (4.73)	85 (8.59)	
Motor Grosso			
Competente	320 (94.67)	901 (91.01)	0.53 (0.32; 0.89)
Emergente/Risco	16 (4.73)	89 (8.99)	
Cognitivo			
Competente	313 (92.60)	852 (86.06)	0.53 (0.32; 0.80)
Emergente/Risco	25 (7.40)	138 (13.94)	
Comunicação Receptiva			
Competente	299 (88.46)	899 (90.81)	1.26 (0.88; 1.79)
Emergente/Risco	39 (11.54)	91 (9.19)	
Comunicação Expressiva			
Competente	260 (76.92)	506 (51.1)	0.47 (0.38; 0.58)
Emergente/Risco	78 (23.08)	484 (48.89)	
Atraso em pelo menos um domínio			
Competente	250 (73.96)	470 (47.47)	0.49 (0.41; 0.60)
Emergente/risco	88 (26.04)	520 (52.53)	

A Tabela 7 mostra que maioria dos expostos, de 76,92% a 95,27% foram classificados como competentes e foram melhores que os não expostos, exceto na comunicação receptiva. Os não expostos foram classificados em Emergente/Risco, de 4,73% a 23,08%, sendo menos frequentes que os expostos, exceto na comunicação receptiva. O Risco relativo de ser classificado em Emergente/risco para atraso no DNPM e o Risco relativo de atraso em pelo menos 1 domínio é aproximadamente 50% menor nos expostos em relação aos não expostos.

Tabela 8 - Subconjunto de 105 crianças expostas ao ZIKV submetidos ao Teste de Bayley III completo (**Escala de Bayley III**) aos 12 meses de vida

Teste de Bayley III	Domínios	Desempenho no teste	N	%
Escores Compostos	Cognitivo	Adequado	95	92.23
		Atraso leve a moderado	6	5.83
		Atraso Grave	1	0.97
	Linguagem	Adequado	95	92.23
		Atraso leve a moderado	6	5.83
		Atraso Grave	1	0.97
	Motor	Adequado	100	95.24
		Atraso leve a moderado	4	3.81
		Atraso grave	1	0.95
Escores Escalonados	Cognitivo	Adequado	95	93.14
		Atraso leve a moderado	6	5.88
		Atraso grave	1	0.98
	Comunicação Expressiva	Adequado	91	89.22
		Atraso leve a moderado	10	9.80
		Atraso grave	1	0.98
	Comunicação Receptiva	Adequado	93	91.18
		Atraso leve a moderado	8	7.84
		Atraso grave	1	0.98
	Motor Fino	Adequado	97	92.38
		Atraso leve a moderado	7	6.67
		Atraso grave	1	0.95
	Motor Grosso	Adequado	100	95.24
		Atraso leve a moderado	4	3.81
		Atraso grave	1	0.95

A Tabela 8 mostra que a maioria, 92% a 95% dos Expostos apresentou DNPM adequado até os 12 meses de vida. Atrasos leves a moderados foram encontrados em 3,81% a 9,80% desses lactentes em diferentes domínios e poucos (1%) apresentaram atraso grave. Esse valores se aproximam dos resultados obtidos no Teste de Triagem de Bayley III e por ser uma ferramenta diagnóstica reforça os achados anteriores.

B- Riscos Relativos para a ocorrência de classificação nas crianças das categorias Risco/Emergente pelo Teste de Triagem de Bayley III segundo a exposição à infecção materna ao ZIKV.

Nas Tabelas 9 e 10 estão apresentados os Riscos Relativos para a classificação nas categorias de Risco/Emergente em pelo menos um ou dois dos cinco domínios avaliados pelo Teste de Triagem de Bayley III, respectivamente, em bebês expostos ao ZIKV em comparação com o grupo controle de não expostos.

Observa-se que as crianças expostas à infecção materna pelo ZIKV apresentaram risco 50% menor do que as crianças cujas mães não foram expostas à infecção pelo vírus de terem sido classificadas como de Risco/Emergente pelo Teste de Triagem de Bayley III realizado em torno dos 24 meses de idade. Também foi observado que a menor escolaridade materna foi associada a maior risco de serem classificadas como de Risco/Emergente pelo Teste de Triagem de Bayley III. Ressalta-se que os Riscos Relativos para exposição ao ZIKV foram ajustados pela variável escolaridade.

Tabela 9 - Riscos Relativos das crianças para categoria “Risco/Emergente” do Teste de Triagem de Bayley III, considerando-se a presença de, pelo menos, UMA alteração, em CINCO domínios, de acordo com a exposição à infecção materna pelo ZIKV

	Categoria no Teste de Triagem de Bayley III		RR bruto (IC95%)	RR ajustado (IC95%)
	Competente	Risco/Emergente		
Coorte				
EXPOSTO (NATZIG)	250(73.96)	88(26.04)	0,49(0,41; 0,60)	0,54(0,44; 0,65)
NÃO EXPOSTO (BRISA)	470(47.47)	520(52.53)	referência	referência
Escolaridade materna				
>=12 anos	116(69.46)	51(30.54)	referência	*
9 a 11 anos	409(51.45)	386(48.55)	1,58(1,25; 2,02)	*
<=8 anos	188(52.51)	170(47.49)	1,55(1,21; 2,00)	*
Drogas/Álcool				
Não	517(55.18)	420(44.82)	referência	*
Sim	197(51.30)	187(48.70)	1,08(0,96; 1,23)	*
Adequação				
AIG/GIG	656(54.35)	551(45.65)	referência	*
PIG	51(48.57)	54(51.43)	1,12(0,93; 1,37)	*

Tabela 10 - Riscos Relativos das crianças para categoria “Risco/Emergente” do Teste de Triagem de Bayley III, considerando-se a presença de, pelo menos, DUAS alterações, em CINCO domínios, de acordo com a exposição à infecção materna pelo ZIKV

	Categoria no Teste de Triagem de Bayley III		RR bruto (IC95%)	RR ajustado (IC95%)
	Competente	Risco/Emergente		
Coorte				
EXPOSTO (NATZIG)	290 (85.80)	48 (14.20)	0.66 (0.50; 0.88)	0.71 (0.52; 0.95)
NÃO EXPOSTO (BRISA)	777 (78.48)	213 (21.52)	referência	referência
Escolaridade materna				
>=12 anos	145 (86.83)	22 (13.17)	referência	*
9 a 11 anos	637 (80.13)	158 (19.87)	1.51(0.99; 2.28)	*
<=8 anos	277 (77.37)	81 (22.63)	1.72 (1.11; 2.62)	*
Drogas/Álcool				
Não	761 (81.22)	176 (18.78)	referência	*
Sim	299 (77.86)	85 (22.14)	1.18 (0.94; 1.48)	*
Adequação				
AIG/GIG	971 (80.45)	236 (19.55)	referência	*
PIG	78 (78.00)	23 (21.90)	1.12 (0.76; 1.64)	*

RR ajustado: uso de drogas/álcool e escolaridade materna e adequação do peso da criança para a idade gestacional e sexo ao nascer pela curva Intergrowth-21st

C – Riscos Relativos para a ocorrência de classificação nas categorias Risco/Emergente no Teste de Triagem de Bayley III em crianças expostas à infecção materna pelo ZIKV de acordo com o tipo de seguimento clínico.

Como pode ser visto na Tabela 11, crianças nascidas de mães com infecção gestacional pelo vírus Zika que iniciaram o seguimento em idade inferior a seis meses e que tiveram várias avaliações com a equipe multiprofissional do estudo não diferiram quanto à frequência de categoria Risco/Emergente no Teste de Triagem de Bayley III quando comparadas àquelas que foram avaliadas uma única vez, na idade média de 25 meses de idade.

Tabela 11 - Riscos relativos para categoria “Risco/Emergente” do Teste de Triagem de Bayley III, para crianças expostas à infecção materna pelo vírus ZIKA considerando-se a presença de, pelo menos, DUAS alterações, em CINCO domínios, de acordo com o seguimento clínico

	Teste de Triagem de Bayley III		RR bruto (IC95%)	RR ajustado (IC95%)
	Competente	Risco/Emergente		
Coorte				
NATZIG 1*	82(85.42)	14(14.58)	referência	referência
NATZIG 2**	208(85.95)	34(14.05)	0,96(0,54; 1,71)	1,16(0,63; 2,16)
Escolaridade materna				
>=12 anos	74(84.09)	14(15.91)	referência	*
9 a 11 anos	129(84.31)	24(15.69)	0,98(0,54; 1,81)	*
<=8 anos	80(88.89)	10(11.11)	0,70(0,33; 1,49)	*
Drogas/Álcool				
Não	219(86.56)	34(13.44)	referência	*
Sim	65(82.28)	14(17.72)	1,32(0,75; 2,33)	*
Adequação				
AIG/GIG	262(87.04)	39(12.96)	referência	*
PIG	18(72.00)	7(28.00)	2,16(1,09; 4,32)	*
Trimestre da Infecção materna				
Primeiro/Segundo	122 (70.93)	50 (29.07)	1.13 (0.79; 164)	*
Terceiro	108 (74.48)	37 (25.52)	referência	*

*Coorte NATZIG 1 – Inclusão < 6 meses, seguimento prospectivo

**Coorte NATZIG 2 – Avaliadas uma vez em torno de 12 a 36 meses de idade

RR ajustado: uso de drogas/álcool, escolaridade materna e adequação do peso da criança para a idade Gestacional e sexo ao nascer pela curva Intergrowth-21st

VIII DISCUSSÃO

Ao iniciar o presente estudo tornou-se evidente que grande parte dos relatos na literatura tinha como enfoque as crianças nascidas com microcefalia cujas mães haviam adquirido ZIKV durante a gestação (Da Silva et al., 2018; Alves et al., 2018; Carvalho et al., 2018; Marques et al., 2019). Todos esses autores avaliaram a trajetória motora e a frequência de paralisia cerebral em crianças com Síndrome Congênita do ZIKV (SCZ), demonstrando atraso motor grave e risco aumentado para paralisia cerebral, como era esperado. Reiterando esses achados, Raper e colaboradores, em 2021, em revisão ampla sobre bebês com SCZ descreveram que elas podiam desenvolver convulsões, problemas de audição e visão, dificuldades de alimentação e anormalidades motoras grosseiras. Esses estudos tiveram uma repercussão clínica e social muito relevantes, pois não havia até então informações de como as crianças acometidas seriam impactadas, nem do prognóstico ou da infinidade de sintomas e gravidade da doença fetal e neonatal causada pelo vírus Zika.

Embora a microcefalia seja provavelmente a característica mais saliente da síndrome, ela não ocorre em todos os casos de exposição pré-natal. Coutinho et al., em 2020, em Ribeirão Preto e região, realizaram um estudo de coorte prospectivo de 511 mulheres com infecção confirmada por ZIKV. Houve 489 nascidos vivos, 19 (3,9%) (IC95% 2,5-5,9) apresentaram microcefalia ou outras malformações do SNC, quase que exclusivamente antes de 11 semanas de gestação quando o Risco Relativo dos bebês nascerem com SCZ foi 76,2 (IC95% 10,1-576,6) vezes mais provável do que após esse período gestacional, pois, 35,9% dos fetos foram acometidos pela infecção ao ZIKV no primeiro; 2,8% no segundo e 1,9% no terceiro trimestre de gestação. Segundo metanálise realizada por Martins et al., em 2021, que incluiu 21 estudos de coorte totalizando 35.568 mulheres grávidas, a Razão de Prevalência de microcefalia foi de 3% (IC95% 2-5), de perda fetal (aborto e natimorto) 4% (IC95% 2-6), de nascimento PIG 4% (IC95% 0-9) e de Prematuridade 7% (IC95% 4-10).

Considerando-se que o diagnóstico da infecção pelo vírus Zika na criança é complexo, desafiador e dificilmente realizado, pois, diferentemente de outras infecções congênicas, os testes de detecção de ácido nucleico ou sorológicos não foram validados para esse propósito. Somente uma fração de crianças com o fenótipo de SCZ são positivas (de Araújo et al., 2016), sendo que mesmo aquelas crianças francamente sintomáticas não persistem com anticorpos detectáveis durante o seguimento (Coutinho et al., 2021). Conseqüentemente, todas as crianças expostas ao vírus Zika têm sido consideradas como potencialmente de risco para sofrerem conseqüências a longo prazo. Partindo disso, surgiu o interesse em dedicar tempo e esforços

com essas crianças, cujas repercussões no DNPM eram desconhecidas e havia possibilidade de apresentarem alguma seqüela ou dano para a vida futura.

O presente estudo teve como objetivo primário identificar se existiriam consequências/alterações no DNPM, em torno de 24 meses de idade, de crianças normocefálicas nascidas de mães com infecção confirmada pelo ZIKV na gestação, comparadas a crianças não expostas à infecção gestacional pelo ZIKV. Supôs-se que a ocorrência de prejuízo no DNPM das crianças expostas fosse mais frequente que o das não expostas. O objetivo secundário foi avaliar se as crianças que tivessem acompanhamento periódico em serviço de referência nos primeiros 12 a 24 meses de vida teriam melhor desempenho no DNPM que as crianças avaliadas uma única vez em torno de 24 meses de vida.

Após uma descrição detalhada das variáveis de interesse do estudo, foram comparadas as médias dos escores do Teste de Triagem de Bayley III entre as coortes. Para esses cálculos foram considerados uso de drogas/álcool, escolaridade materna e adequação da criança ao nascer como covariáveis e devidamente ajustadas no modelo de análise usado (Tabela 5). As comparações das pontuações obtidas nos diferentes domínios do Teste de Bayley III nas coortes expostas e não expostas à infecção materna pelo vírus Zika, demonstraram haver em todos os domínios uma diferença entre as médias dos escores obtidos entre os grupos de aproximadamente uma unidade do escore (0,69 a 1,21), havendo significância estatística em todos os domínios. Em quatro dos domínios, Cognitivo, Comunicação Expressiva, Motor Fino e Motor Grosso as crianças expostas tiveram maiores escores e no domínio Comunicação Receptiva obtiveram menores escores do que aquelas crianças não expostas à infecção materna pelo vírus Zika. Apesar da significância estatística, seria interessante nos questionarmos se essa diferença de uma unidade entre os escores teria algum significado clínico.

A partir daí, os dados foram adicionalmente explorados, considerando-se os resultados da avaliação do Teste de Triagem de Bayley III na forma categórica, controlando-se as mesmas covariáveis na análise, ou seja, uso de drogas/álcool e escolaridade materna e adequação da criança ao nascer. Como mostra a Tabela 10, crianças expostas à infecção materna pelo vírus Zika apresentaram risco **30% menor** de serem classificadas como de Risco ou Emergente em dois de cinco domínios do que crianças não expostas. Dessa maneira, contrariando a nossa hipótese, identificamos que crianças expostas à infecção materna pelo vírus Zika tem risco em torno de 50% menor do que o grupo controle de apresentar pelo menos uma alteração nos Testes de Triagem de Bayley III.

Desejávamos comparar se haveria melhor desempenho das crianças que foram inscritas precocemente e atendidas periodicamente por uma equipe multiprofissional do que aquelas

que não tiveram a oportunidade desse seguimento. Ao analisarmos os dois grupos de crianças expostas à infecção materna pelo vírus Zika, as que foram acompanhadas precocemente com aquelas avaliadas somente mais tardiamente com a mesma análise citada no parágrafo anterior, não foram observadas diferenças entre elas (Tabela 11). Foram também reveladas maior frequência de alterações em crianças PIG do que naquelas classificadas como AIG ou GIG.

A seguir, apresentaremos uma Tabela 12 contendo os estudos disponíveis na literatura que fizeram seguimento de crianças expostas a mulheres com infecção confirmada/presumida pelo vírus Zika durante a gestação, microcefálicas e/ou normocefálicas ao nascimento.

Tabela 12 - Sumário de Estudos de Coorte de crianças expostas à infecção materna confirmada ou presumida pelo ZIKV

Autor, Ano	Local	Infecção materna	N total	N Microcefálicas expostas	N Normocefálicas expostas	GRUPO CONTROLE Não expostos/ Normocefálicas	Idade na avaliação (mês)	Método de avaliação	Principal Resultado
MOREIRA 2018	Rio de Janeiro	Conf.	104	-	104	Não	12º e 18º	Bayley III	63% Competentes para os 3 domínios; 26% Emergentes; 12% em Risco; 14% atraso grave.
EINSPIELER 2019	Brasil / Áustria	Pres.	444	35	76	333 (austriacas)	2º-5º e 12º	GMA, Teste de Triagem de Bayley III	82,1% dos expostos sem microcefalia eram saudáveis.
FAIÇAL 2019	Salvador	Conf.	29	-	29	Não	-	Teste de Triagem de Bayley III	35% atraso: 31% no domínio da Comunicação, 14% no Cognitivo e 3% no Motor.
NIELSEN-SAINES 2019	Rio de Janeiro	Conf.	216	10	206	Não	18º ou 24º	Bayley III (n=146) / HINE (n=67)	154 tiveram Teste de Triagem de Bayley III ou HINE normais. Teste de Triagem de Bayley III (146): 34,9% alteração no domínio da Comunicação, 9,6% no Cognitivo e 16,4% no Motor. 12,3% Z escore <-2DP (6 microcefálicos; 3 Transtorno de Espectro Autista (TEA); 28,1% Z escore entre -1 e -2 DP.
CARDOSO 2019	Rio de Janeiro	Conf.	19	-	19	Não	1º ou 2º ou 4º ou 7º	Alberta (AIMS), Denver II, Ashworth	1 normal, 2 com hipotonia e 16 com hipertonia.
PEÇANHA 2020	Rio de Janeiro	Conf.	84	-	84	Não	6º e 24º	Escala de Bayley III	Foi relatado atraso em pelo menos um domínio em cerca de 30% das crianças normocefálicas. Não havia grupo controle para associar definitivamente a exposição ao vírus Zika na gestação com o desfecho de atraso no DNPM.
CRANSTON 2020	Rio de Janeiro	Conf.	219	53	166	Não	6º-42º	Escala de Bayley III	Foi relatado atraso em pelo menos um domínio em cerca de 30% das crianças normocefálicas. No mesmo grupo de expostos haviam crianças normocefálicas e microcefálicas. Não havia grupo controle para associar definitivamente a exposição ao vírus Zika na gestação com o desfecho de atraso no DNPM.

Autor, Ano	Local	Infecção materna	N total	N Microcefálicas expostas	N Normocefálicas expostas	GRUPO CONTROLE Não expostos/ Normocefálicas	Idade na avaliação (mês)	Método de avaliação	Principal Resultado
MULKEY 2020	Departamento Atlântico na Colômbia e em Washington	Conf.	77	7	70	Não	4º-8º (n=40) e 9º-18º (n=60)	WIDEA e AIMS	O escore WIDEA (P <0,003) e o escore do domínio autocuidado (P <0,008) mostraram associações curvilíneas de aumento conforme a idade. Os de comunicação (P = 0,001), cognição social (P <0,001) e mobilidade (P <0,001) mostraram declínios lineares com o aumento da idade. As pontuações AIMS foram normais e semelhantes ao longo do tempo. Concluiu-se que bebês expostos ZIKV parecem ter risco aumentado de alterações de DNPM nos primeiros 18 meses de vida.
AIZAWA 2021	Rio de Janeiro	Conf.	31	-	31	Não	36º	Bayley III	8 tiveram atraso em pelo menos 1 domínio: 7 na Comunicação; 1 no Cognitivo e 3 no Motor. 4 foram prematuras e 2 tiveram atraso na Comunicação. A prematuridade mostrou associações significativas com atraso na Comunicação (IC95% 1,53-146,54), no domínio Motor (IC95% 1,55-67,21) e no Motor Grosso (IC95% 1,53-146,54). A infecção no 3º trimestre da gravidez foi associada a maiores escores no domínio Motor (IC95% 0,01-0,45) e Motor Grosso (IC95% 0,01-0,72.)
CARDONA-OSPINA 2021	Colômbia	Conf.	16	-	16	Não	28º	Escala abreviada de neurodesenvolvimento 2 validada para a Colômbia	14 tiveram alteração do crescimento: 5 desenvolveram microcefalia e 6 macrocefalia. Apenas um paciente com microcefalia persistiu com comprometimento do DNPM. Todos com macrocefalia tiveram DNPM normal.
KEY 2021	Ribeirão Preto 2021	Conf.	194	-	194	-	3º-24º	Teste de Triagem de Bayley III	30-35% das crianças expostas aos 18 meses de vida tiveram atraso no DNPM, sobretudo na Comunicação. Mais de 70% foram Competentes. Todos tiveram a função auditiva preservada. Nenhuma criança desenvolveu microcefalia pós-natal. Houve piora no DNPM a cada visita, sobretudo na Comunicação Receptiva (t(8) = 3,27, p = 0,011) e na Expressiva (t(8) = 3,04, p = 0,016). As médias para esses domínios não foram significativamente diferentes (p =0,74). A Comunicação foi identificada como uma área emergente.

Autor, Ano	Local	Infecção materna	N total	N Micro expostas	N Normo expostas	GRUPO CONTROLE Não expostos/normocefálicas	Idade na avaliação (mês)	Método de Avaliação	Principal Resultado
ANDRADE 2021	Rio de Janeiro	Conf.	96	-	96	Não	12º e 18º	Teste de Triagem de Bayley III	35,4% atraso em pelo menos um domínio: 91,2% na Comunicação, Receptiva mais afetada que Expressiva (27% x 19,8%). Análise de Regressão Múltipla identificou associação significativa entre educação materna e motricidade fina, e entre o Z escore do PC ao nascimento e atraso na linguagem.
ABTIBOL-BERNARDIN O 2020	Amazonas	Conf.	26	-	26	-	25º-42º	Escala de Bayley III	Foram observados atraso no DNPM das crianças normocefálicas. Contudo o "N" foi relativamente pequeno, sem grupo controle como parâmetro para associar a exposição com o desfecho.
GERZON 2020	Rio Grande do Sul	Conf.	37	-	17	20	18º	Escala de Bayley III	Uma criança dos expostos apresentou baixo escore cognitivo. Não houve diferenças estatísticas entre os 2 grupos em relação ao desenvolvimento cognitivo, de linguagem e motor.
SOBRAL da SILVA 2020	Recife	Conf.	274	134	94	46 Neurotipicos, mães com RT-PCR- e IgM-	10º-45º	SWYC (triagem)	114 com microcefalia grave: 98,2% atraso, 99,1% "em Risco" pelo SWYC; 20 com microcefalia moderada: 60% atraso, 65% "em Risco"; 94 normocefálicos/expostos: 13,8% "em Risco"; 46 normocefálicos/não expostos: 21,7% risco de diminuição do Perímetro Craniano. Porcentagens de risco de alteração semelhante entre as 94 normocefálicas expostas (13,8%) e 46 não expostas (21,7%).
SOBRAL DA SILVA 2021	Pernambuco	274: (82,1%) conf. / (17,9%) suspeitas.	274	-	235	39 negativos por RT-PCR	6º-42º	Teste de Triagem de Bayley III	Gestantes do grupo controle tinham maior escolaridade e as crianças eram 4 meses mais velhas durante a avaliação. Domínio Cognitivo: atraso de 9,4% nos expostos e nenhum no grupo controle (p=0,052). Não houve diferença na Comunicação entre os expostos e não expostos (p=0,933). Atraso Motor Grosso e Fino nos expostos, sem significância estatística. Nenhuma criança apresentou atrasos graves em qualquer domínio. As gestantes apresentaram erupções cutâneas no 1º (14,9%), no 2º (28,5%) e no 3º (55,7%) trimestres, mas não houve associação com o resultado do Bayley (p=0,802). Havia 30 expostos com anormalidades neurológicas (no tônus muscular, irritabilidade, queixas comportamentais e atraso de linguagem), 46,7% tiveram alterações no Bayley em qualquer domínio. Das 185 crianças sem alterações neurológicas, 17,8% tiveram alterações no Bayley (p=0,001). Anormalidades no exame neurológico foram associadas a atrasos na Linguagem e nos domínios Motores (p=0,003 e p=0,008), mas não mostraram associação no Cognitivo. Nenhum achado anormal oftalmológico/radiológico foi significativamente associado com atraso no Bayley.

Autor, Ano	Local	Infecção materna	N total	N Micro expostas	N Normo expostas	GRUPO CONTROLE Não expostos/normocefálicas	Idade na avaliação (mês)	Método de Avaliação	Principal Resultado
STRINGER 2021	Nicarágua	Conf. Anticorpos	129	-	32	97	6º, 12º, 15º, 18º, 21º e 24º	MSEL / ECL aos 24 meses	Foram relatados escores neurocognitivos mais baixos nos expostas aos 24 meses de vida.
FAMILIAR 2021	México	Conf.	120	-	60	60	6º	MSEL / FTII	Todas as pontuações MSEL, exceto linguagem expressiva, foram significativamente menores entre os expostos que nos controles (80 ± 10 vs. $87 \pm 7,4$, $p < 0,001$). As medidas FTII de rastreamento ocular de fixação e comprimento do olhar estavam na direção esperada, com tempos mais longos entre crianças do grupo controle (maior atenção). Em regressões lineares, o escore de novidade FTII (preferência esperada por um rosto novo) obteve escores motores finos ($p=0,04$) e de linguagem receptiva ($p=0,03$), nenhum com significância estatística.
GRANT 2021	Territórios franceses nas Américas (Guadalupe, Martinica e Guiana Francesa)	Conf.	235	-	156	79	24º	ASQ; M-CHAT; IFDC	ASQ: Comunicação com diferença estatisticamente significativa, expostos maior que os não expostos (49,5 vs 44,0; $P=0,01$) e menor no valor abaixo de -2DP (8,3% vs 20,3%; $P=0,02$). 24 expostos e 20 não expostos ficaram com Z score $< -2DP$ ($P=0,10$) para pelo menos uma das cinco dimensões. Diferenças mínimas no DNPM aos 24 meses. Não houve diferença no transtorno de comportamento entre os expostos e os não expostos ($P=0,15$), na aquisição da linguagem ($P=0,36$), nem na proporção de crianças abaixo do percentil 10 ($P=0,53$). Menor idade ($P=0,01$) e escolaridade ($P=0,04$) maternas e maior escolaridade paterna ($P=0,04$) nos não expostos; maior paridade nos expostos ($P=0,04$).

TIENE 2022	Rio de Janeiro	Conf.	112	7 microcefá- licos; 16 macrocefá- licas.	112	-	6º mês-3º ano (média 18º mês)	Teste de Triagem de Bayley III	<p>Duas crianças macrocefálicas ficaram em Risco no Bayley. Das 112 crianças, 7 desenvolveram microcefalia e 43% delas tiveram atraso; 2 foram diagnosticadas com TEA e tiveram atraso; 16 foram prematuros e 9 tiveram atraso.</p> <p>64% foram Competentes em 3 domínios, 27% Emergentes e 9% em Risco em pelo menos 1 domínio. A Comunicação foi o domínio mais acometido, Expressiva pior que Receptiva. Houve uma diferença significativa entre as crianças Competentes e as em Risco (P=0,011, RR 3,94). A média das crianças com PC < -2DP foi significativamente inferior ao do grupo normal (P=0,014). A associação entre menor PC e linguagem anormal pareceu estar associada com uma menor Comunicação Expressiva (P=0,04). A infecção materna ocorreu em 19,8% no 1º, 56,8% no 2º e 23,4% no 3º trimestres. Entre os normocefálicos, 31,8% foram expostos no 1º, 39,7% no 2º e 26,9% no 3º trimestres, mas isso não foi significativamente associado a piores resultados no DNPM (P=0,6). 71 (63%) crianças tiveram a audição avaliada e 6% apresentaram deficiência e atraso (P=0,016), sendo pior na Comunicação Expressiva, mas sem significância estatística (P=0,02). Avaliações neurológicas e oftalmológicas foram realizadas em 86/112 (69%) antes dos 3 meses de idade: 58% tiveram anormalidades neuromotoras e 34% atraso. Exames oftalmológicos foram realizados em 75/112 (67%): 11% alterados e 37% deles com atraso. Ecocardiograma foi realizado em 59 crianças (53%): 32% com anormalidades cardíacas e 42% delas com atraso. Neuroimagem com USG, TC ou RM foram feitas em 90/112 (80%) das crianças normocefálicas, 21% foram anormais e 31,6% tiveram atraso. Mas não houve relação estatisticamente significativa entre anormalidades oftalmológicas, defeitos cardíacos (P=0,5) e anormalidades de neuroimagem (P=0,86) com atraso no Bayley. Nesta análise os provedores não estavam cegos para o estado de ZIKV do paciente. Assim, as anormalidades podem ter sido superestimadas.</p>
BLACKMON 2022	EUA	IgG positivo	131	-	68	63	22-30º	INTER- NDA, CAT, CCT	<p>INTER-NDA nos domínios de cognição, motor, linguagem e comportamento não houve diferenças entre os expostos e os não expostos. 65 crianças realizaram o teste de acuidade visual: 29 expostas e 36 não expostas, e 54 o teste de sensibilidade ao contraste: 26 expostas e 28 não expostas, os expostos foram piores nos dois testes. No CAT, 9/29 (31%) dos expostos e 4/36 (11%) dos não expostos tiveram maiores déficits na acuidade visual, 3/29 (10%) nos expostos e nenhum nos não expostos. No CCT, 6/26 (23%) dos expostos e 2/28 (7%) dos não expostos estavam abaixo das expectativas para idade.</p>

CAT: Cardiff Visual Acuity Test; CCT: Cardiff Contrast Test; Conf – Confirmada; FTII: Teste Fagan de inteligência infantil; IFDC: MacArthur Inventory Scales para aquisição da língua francesa; INTER-NDA: Neurodevelopment Assessment; M-CHAT: Lista de Verificação Modificada para Autismo em Crianças; MSEL: Escalas de Mullen de aprendizagem precoce; Pres – Presumida; Pros – Prospectivo; SWYC: Pesquisa de Bem-Estar de Crianças Pequenas; Retr – Retrospectivo; Trans- Transversal; WIDEA: Warner Initial Developmental Evaluation of Adaptive and Functional Skills

Desta forma, iremos salientar pontos de alguns dos estudos comparáveis ao nosso quanto à composição principalmente de crianças normocefálicas e aqueles que fizeram avaliação prospectiva.

Apesar de relatarem alterações frequentes em crianças expostas ao vírus Zika, os seguintes estudos não possuíram grupo controle para embasar a ideia de exposição e desfecho: a) Andrade e colaboradores, em 2020, analisaram 96 crianças normocefálicas expostas ao ZIKV na gestação, através do Teste de Triagem de Bayley III no 12º e 18º meses de vida, evidenciaram atraso em pelo menos um domínio em 35,4% dos casos; sendo 91,2% na Comunicação, a Receptiva mais afetada que a Expressiva (27% x 19,8%). b) Faiçal et al., em 2019, avaliaram 19 crianças normocefálicas expostas ao ZIKV na gestação, por meio do Teste de Triagem de Bayley III no 12º e 18º meses de vida também evidenciaram atraso em 35% dos casos, sendo 31% na Comunicação. c) Aizawa et al., em 2021, analisaram 31 crianças normocefálicas expostas ao ZIKV na gestação, por meio do Teste de Triagem de Bayley III aos 36 meses de vida e evidenciaram que 8 tiveram atraso em pelo menos 1 domínio, sendo 7 na Comunicação, 1 Cognitivo e 3 no domínio Motor. Entre 4 crianças prematuras, 2 desenvolveram atraso na linguagem.

Diferentemente, comparando a um grupo controle, Grant et al., em 2021, em territórios franceses nas Américas, analisaram 235 crianças, sendo 156 normocefálicas expostas ao ZIKV na gestação e 79 normocefálicas não expostas. Aos 24 meses de vida realizou os testes ASQ, M-CHAT e IFDC. Não houve diferenças observadas em aquisição média da linguagem ($P = 0,36$) entre os grupos pelo IFDC para aprendizado da língua francesa. O ASQ demonstrou que a Comunicação teve diferença estatisticamente significativa entre os dois grupos, sendo os expostos com uma pontuação média mais alta (49,5 vs 44,0; $P = 0,01$).

Sobral da Silva et al., 2022, avaliaram crianças normocefálicas em comparação a crianças também expostas e com testes de PCR negativos, tendo encontrado maiores frequências de qualquer alteração no Teste de Triagem de Bayley III e nos domínios Cognitivo e Motor Fino. No entanto, não se pode confirmar que testar negativo com PCR possa ser definitivamente associado a ausência de infecção pelo vírus Zika, embora as suas mães tenham sido soronegativas no parto. Diferentemente, Blackmon et al., 2020, não encontraram diferenças no desenvolvimento neuropsicomotor em expostos ou não expostos ao ZIKV, tendo detectado menor desempenho visual nos expostos. Outros dois estudos (Key et al., 2021 e Tiene et al., 2022), sem grupo controle, indicaram haver alterações variadas no DNPM. Entretanto esses

achados poderiam ser atribuídos a variabilidade do método em medir essas alterações, o que também poderia ocorrer em um grupo controle.

Considerando-se que há muitos fatores importantes para o desenvolvimento neuropsicomotor infantil, como características maternas sobre dados de escolaridade, exposição a álcool/drogas durante a gestação, doenças prévias ou durante à gestação, realização de pré-natal, condições socioeconômicas, demográficas e culturais, entendemos que grupo controle com características semelhantes ao grupo de estudo é fundamental levando-se em consideração todos esses fatores. Outros pontos que devem ser observados são o número de participantes, aspectos culturais e sociodemográficos.

Nosso estudo é o mais extenso estudo de coorte brasileiro, como maior número de crianças nascidas normocefálicas e sem nenhum acometimento neurológico expostas a uma infecção confirmada RT-PCR para ZIKV na gestação e com o maior grupo controle, recrutado em um período no qual não havia circulação do vírus Zika na comunidade.

O Projeto foi planejado e realizado minuciosamente, com crianças que habitam a mesma região demográfica, possuem hábitos de vida e culturais semelhantes, assim como a classe econômica, o mesmo nível de escolaridade e hábitos maternos, que tiveram o DNPM avaliado pelo Teste de Triagem de Bayley III realizadas no mesmo período da vida, por um profissional de saúde previamente treinado, especializado e qualificado, contando ainda com uma equipe multidisciplinar formada por Pediatra, Neurologista, Oftalmologista, Cardiologista, Fisioterapeuta, Terapeuta Ocupacional, Fonoaudióloga, Enfermeira.

Foram colhidas informações maternas e sociodemográficas, tais como: Idade; escolaridade; consumo de bebida alcoólica, uso de drogas lícitas e ilícitas, doenças prévias ou durante a gestação; paridade, realização do pré-natal; sorologias, tipo de parto. Assim como, foram registrados dados das crianças: sexo; raça; Apgar; classificação em PIG, AIG ou GIG de acordo com as curvas da Intergrowth21st (VILAR et al., 2015); dados antropométricos (peso, perímetro cefálico) do nascimento e a cada consulta; IG do nascimento; Idade na consulta; comorbidades, idade de desmame; perímetro cefálico no momento da aplicação do Teste de Triagem de Bayley III.

O estudo perdurou 2 anos, acompanhando as crianças de forma longitudinal, que por vezes foram avaliadas em mais de uma consulta e encaminhou precocemente qualquer criança que apresentasse alguma alteração identificada ao longo da trajetória, possibilitando uma reabilitação precoce.

Tivemos um extenso grupo controle. A comparação foi realizada com crianças expostas e não expostas ao ZIKV, que realizaram a mesma avaliação do DNPM, Teste de Triagem de Bayley III, realizado em idades semelhantes, por volta dos 24 meses de vida, por profissionais de saúde previamente treinados e qualificados. Nossos resultados foram gerados de uma amostra muito mais representativa da população total, uma vez que todas as gestantes do estudo viviam na mesma região demográfica, sob os mesmos aspectos sociais, culturais, econômicos, de escolaridade e hábitos maternos.

Utilizou-se o Teste de Triagem de Bayley III, que é reconhecido internacionalmente como uma das ferramentas mais abrangentes para a avaliação de crianças pequenas. É amplamente utilizado em pesquisas, na prática clínica e para avaliar intervenções, pois avalia os domínios Cognitivos, de Comunicação Receptiva e Expressiva, Motor Fino e Grosso do desenvolvimento neuropsicomotor e possui uma base teórica sólida com propriedades psicométricas robustas (Bayley, 2006). Embora o Teste de Triagem de Bayley III tenha sido usado para avaliar o DNPM infantil em muitos países, estudos recentes mostraram que ele tende a estimar de maneira diferente crianças com desenvolvimento típico e em risco de atraso no desenvolvimento, dependendo da localização geográfica (Acton et al., 2011; Milne, McDonald, & Comino, 2012; Moore, Johnson, Haider, Hennessy, & Marlow, 2012; Reuner, Fields, Wittke, Löpprich, & Pietz, 2013; Yu et al., 2013). Consequentemente, o uso da escala original americana sem adaptações não é recomendado, pois fatores econômicos, étnicos e culturais podem levar à avaliação incorreta de atrasos DNPM (Fleuren, Smit, Stijnen, & Hartman, 2007). Ele determina se uma criança tem um desenvolvimento típico ou precisa de uma avaliação mais abrangente e foi projetado para identificar quem está em risco para problemas do DNPM, sendo o paciente classificado como: em Risco ou Emergente ou Competente com base em pontuações de corte derivadas de escalas de referência normativas para crianças norte-americanas. Portanto, acreditamos que cuidamos do nosso estudo minuciosamente para evitar o máximo de vieses capazes de comprometer os resultados.

Apesar de todas as mães das crianças da coorte de expostos ao vírus Zika terem o RT-PCR confirmado para a infecção, critério definidor para inclusão na nossa pesquisa, o nosso estudo, assim como outros demais, é limitado por não poder comprovar se de fato as crianças expostas estavam verdadeiramente infectadas pelo ZIKV. Pelo conhecimento da ocorrência de infecção congênita por outros agentes, a frequência de transmissão da infecção de mãe para filho situa-se em torno de 10%. Se isso for verdadeiro para o vírus Zika e essa mesma proporção de crianças expostas estivesse comprovadamente infectada, teríamos aproximadamente 40 crianças infectadas entre as 338 crianças expostas por nós estudadas, o que poderia não ser

suficiente para que um eventual resultado de anormalidades nessas 40 crianças ficasse evidente na análise de dados. Existe uma questão relacionada ao tempo de formação das coortes de expostos, 2016, e não expostos, 2010-2011, visto que elas não são concorrentes no tempo. Apesar de não ter havido circulação da doença no Brasil no ano de 2010, e reafirmando que os grupos estudados pertencem a mesma região demográfica, sob os mesmos aspectos sociais, econômicos, culturais e de hábitos maternos.

Sugerimos que os achados por nos observados, de menor risco de anormalidades no desenvolvimento neuropsicomotor, possam estar associados ao fato de maior preocupação materna e familiar com a criança exposta à infecção pelo vírus Zika durante a gestação. No momento da epidemia havia uma grande mobilização pública sobre o tema, a mídia divulgou diversas orientações para as mães procurarem o sistema de saúde caso suspeitassem de qualquer alteração nos recém-nascidos, foram mostrados diversos casos de microcefalia, incentivando estímulos precoces, maior atenção e foco nas crianças expostas ao vírus, e caso houvesse possibilidade, o acompanhamento delas por profissionais de saúde. O fato dessas mães terem proximidade com casos graves e terem acesso fácil a informações sobre a doença, provavelmente, as tornou mais atentas com o desenvolvimento dos seus filhos. No ambulatório criado para o acompanhamento das crianças nascidas sem microcefalia expostas ao ZIKV na gestação que fizeram parte desse estudo, era nítida a preocupação materna com a criança em diversos aspectos, fossem eles nutricionais, de desenvolvimento neuropsicomotor, de possíveis atrasos, do encaminhamento precoce para especialistas, dos resultados de exames laboratoriais ou de imagem e da atenção e valorização das informações fornecidas pela equipe. Acreditamos, portanto, que as mulheres portadoras de ZIKV na gestação possam ter estimulado seus filhos de maneira mais intensa do que ocorreria caso elas não tivessem sido expostas ao vírus, independentemente de serem ou não acompanhadas em serviços especializados.

IX CONCLUSÕES

- 1- Crianças expostas à infecção materna pelo Vírus Zika têm risco 30% menor de apresentarem achados de provável anormalidade de desenvolvimento neuropsicomotor detectados pelo Teste de Triagem de Bayley III em torno de 24 meses de idade.

- 2- Crianças expostas à infecção materna pelo Vírus Zika apresentaram desempenho semelhante no Teste de Triagem de Bayley III em torno de 24 meses de idade, independentemente de terem iniciado seguimento multidisciplinar precocemente ou serem avaliados somente em torno de 24 meses de vida.

X REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Abuelo D. Microcephaly Syndromes. In: *Seminars in Pediatric Neurology*. Elsevier Inc., v. 14, n. 3, p. 118-127, 2007. Acesso em: 25/03/2019.
2. Andrade LM, Baker Meio MD, Gomes SC Jr, Souza JP, Figueiredo MR, Costa RP, Brasil P, Nielsen-Saines K, Brickley E, Moreira MEL. Language delay was associated with a smaller head circumference at birth in asymptomatic infants prenatally exposed to the Zika virus. *Acta Paediatr*. 2021 Apr 19. doi: 10.1111/apa.15878.
3. Aizawa CYP, Caron DMR, Souza CB, Kozima PFA, Damasceno L, Einspieler C, Marschik PB, Brasil P, Schmitt ACB, Nielsen-Saines K, Hasue RH. Neurodevelopment in the third year of life in children with antenatal ZIKV-exposure. *eCollection 2021.Rev Saude Publica*. 2021 Apr 23;55:15. doi: 10.11606/s1518-8787.2021055002798.
4. 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*. 2018 Jul 16;8(7):e021304. doi: 10.1136/bmjopen-2017-021304.
5. Alvino ACMI, Mello LRM, Oliveira JAMM. Association of arthrogryposis in neonates with microcephaly due to Zika virus-a case serie. *Revista Brasileira de Saúde Materno Infantil*. 2016;16(Supl1):S89-S94. doi: 10.1590/1806- 9304201600s100007
1. Ashwal S, Michelson D, Plawner L, Dobyns WB. Practice Parameter: Evaluation of the child with microcephaly (an evidence-based review): Report of the Quality Standards
2. Subcommittee of the American Academy of Neurology and the Practice Committee of the Child Neurology Society. *Neurology*. 2009;73:887-97.
3. Baronti C, Piorkowski G, Charrel RN, Boubis L, Leparac-Goffart I, de Lamballerie X. Complete coding sequence of zika virus from a French Polynesia outbreak in 2013. *Genome Announc*. 2014;2(3):e00500-14.
4. Bayley N: *Bayley Scales of Infant and Toddler Development-Third Edition (BSID-III)*. San Antonio, TX: Pearson Assessments; 2006.
5. Barros FC, Victora CG, Vaughan JP. The Pelotas (Brazil) birth cohort study 1982-1987: strategies for following up 6,000 children in a developing country. *Paediatr Perinat Epidemiol* 1990;4(2):205-20.
6. Besnard M, Lastère S, Teissier A, Cao-Lormeau V, Musso D. Evidence of perinatal transmission of Zika virus, French Polynesia, December 2013 and February 2014. *Euro Surveill*. 2014;19(13):20751.

7. Blackmon K, Evans R, Fernandes M, Landon B, Noel T, Macpherson C, Cudjoe N, Burgen KS, Punch B, Krystosik A, Grossi-Soyster EN, LaBeaud AD, Waechter R. Arch Dis Child. 2022 Mar;107(3):244-250. doi: 10.1136/archdischild-2020-321031. Epub 2021 Sep 3. PMID: 34479857
8. Blondiaux E, Garel C. Fetal cerebral imaging - ultrasound vs. MRI: an update. Acta Radiol. 2013 Nov;54(9):1046-54.
9. Botelho ACG, Neri LV, Silva MQF, Lima TT, Santos KG, Cunha RMA et al. Presumed congenital infection by Zika virus: findings on psychomotor development-a case report. Revista Brasileira de Saúde Materno Infantil. 2016;16(Supl 1):39-44. doi: 10.1590/1806-9304201600s100004
10. Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Políticas de Saúde. Departamento de Atenção Básica. Saúde da criança: acompanhamento do crescimento e desenvolvimento infantil. Brasília: Ministério da Saúde; 2002. Série Cadernos de Atenção Básica; n. 11.
11. Brasil, P. et al. Zika Virus Infection in Pregnant Women in Rio de Janeiro. N Engl J Med 2016; 375:2321-2334. DOI: 10.1056/NEJMoa1602412
12. Burd I, Chai J, Gonzalez J, Ofori E, Monnerie H, Le Roux PD, Elovitz MA. Beyond white matter damage: fetal neuronal injury in a mouse model of preterm birth. Am J Obstet Gynecol. 2009;201:279.e1-279.e8.
13. Calvet G, Aguiar RS, Melo AS, Sampaio SA, de Filippis I, Fabri A, Araujo ES, et al. Detection and sequencing of Zika virus from amniotic fluid of fetuses with microcephaly in Brazil: a case study. Lancet Infect Dis. 2016;pii: S1473-3099(16)00095-5. doi: 10.1016/S1473-3099(16)00095-5. [Epub ahead of print]
14. CAMPOS, T. M.; GONÇALVES, V. M. G.; SANTOS, D. C. C. Escalas padronizadas de avaliação do desenvolvimento motor de lactentes. *Temas sobre Desenvolvimento*, v. 13, n. 77, p. 5-11, 2004.
15. Cardoso, TF, Corrêa SRS, RM et al. Congenital Zika infection: neurology can occur without microcephaly. 2019;Arch Dis Child ;104:199-200.
16. Cardoso CW, Paploski IA, Kikuti M, Rodrigues MS, Silva MM, Campos GS. Outbreak of exanthematous illness associated with Zika, Chikungunya, and Dengue viruses, Salvador, Brazil. Emerg Infect Dis. 2015;21:2274-6.
17. Cardona-Ospina JA, Zapata MF, Grajales M, Arias MA, Grajales J, Bedoya-Rendón HD, González-Moreno GM, Lagos-Grisales GJ, Suárez JA, Rodríguez-Morales AJ. Physical Growth and Neurodevelopment of a Cohort of Children after 3.5 Years of Follow-up from Mothers with Zika Infection during Pregnancy-Third Report of the ZIKERNCOL Study. J Trop Pediatr. 2021 May 17;67(2):fmab032. doi: 10.1093/tropej/fmab032.

18. Carteaux G, Maquart M, Bedet A, Contou D, Brugières P, Fourati S, Cleret de Langavant L, et al. Zika Virus associated with meningoencephalitis. *N Engl J Med*. 2016 [Epub ahead of print].
19. Domenico M, Romeo Daniela, Ricci Claudia, Brogna Eugenio, Mercuri . Use of the Hammersmith Infant Neurological Examination in infants with cerebral palsy: a critical review of the literature. *Developmental Medicine & Child Neurology* Volume58, Issue3 March 2016 Pages 240-245. <https://doi.org/10.1111/dmcn.12876>
20. Cavalcante TB, Ribeiro MRC, Sousa PDS, Costa EPF, Alves MTSSBE, Simões VMF, Batista RFL, Takahasi EHM, Amaral GA, Khouri R, Branco MDRFC, Mendes AKT, Costa LC, Campos MAG, Silva AAMD. Congenital Zika syndrome: Growth, clinical, and motor development outcomes up to 36 months of age and differences according to microcephaly at birth. *Int J Infect Dis*. 2021 Apr;105:399-408. doi: 10.1016/j.ijid.2021.02.072. Epub 2021 Feb 18.
21. 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 Apr 14. [Epub ahead of print]
22. CDC, 2016. Emergency Use Authorizations
23. Coutinho CM, Negrini SFBM, Araujo DCA, Teixeira SR, Amaral FR, Moro MCR, Fernandes JDCP, da Motta MSF, Negrini BVM, Caldas CACT, Anastasio ART, Furtado JM, Barbaro AAT, Yamamoto AY, Duarte G, Mussi-Pinhata MM; for the NATZIG Cohort Study Team. Early maternal Zika infection predicts severe neonatal neurological damage: results from the prospective Natural History of Zika Virus Infection in Gestation cohort study. *BJOG* 2020; <https://doi.org/10.1111/1471-0528.16490>.
24. Cordazzo STD; Vieira ML. A brincadeira e suas implicações nos processos de aprendizagem e de desenvolvimento. *Periódicos e Eletrônicos em Psicologia*. ISSN 1808-4281. *Estud. psicol. v.7 n.1 Rio de Janeiro jun. 2007*
25. Da Silva, A. A. M. et al. A protocol to identify non-classical risk factors for preterm births: The Brazilian Ribeirão Preto and São Luís prenatal cohort (Brisa). *Reproductive Health*, v.11, n. 1, 2016.
26. 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.
27. De Paula Freitas B, de Oliveira Dias JR, Prazeres J, Sacramento GA, Ko AI, Maia M, Belfort R Jr. Ocular Findings in Infants With Microcephaly Associated With Presumed Zika Virus

- Congenital Infection in Salvador, Brazil. *JAMA Ophthalmol.* 2016. doi: 10.1001/jamaophthalmol.2016.0267. [Epub ahead of print].
28. Dick GW, Kitchen SF, Haddow AJ. Zika virus. I. Isolations and serological specificity. *Trans R Soc Trop Med Hyg.* 1952;46(5):509-20.
 29. Duarte, G. Infecção pelo vírus Zika durante a gravidez. *Femina.* 2016;44:36-47.
 30. Dubowitz L, Mercuri E, Dubowitz V. An optimality score for the neurologic examination of the term newborn. *J Pediatr* 1998;133:406-16.
 31. Dubowitz LM, Levene MI, Morante A, Palmer P, Dubowitz V. Neurologic signs in neonatal intraventricular hemorrhage: a correlation with real-time ultrasound. *J Pediatr* 1980;99:127
 32. Duffy MR, Chen TH, Hancock WT, Powers AM, Kool JL, Lanciotti RS, et al. Zika virus outbreak on Yap Island, Federated States of Micronesia. *N Engl J Med.* 2009;360(24):2536-43.
 33. 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. Association of Infants Exposed to Prenatal Zika Virus Infection With Their Clinical, Neurologic, and Developmental Status Evaluated via the General Movement Assessment Tool. 2019; *JAMA Network Open.*
 34. Eklind S, Mallard C, Leverin A-L, Gilland E, Blomgren K, Mattsby - Baltzer I, Hagberg H. Bacterial endotoxin sensitizes the immature brain to hypoxic-ischaemic injury. *Eur J Neurosci.* 2001;13:1101-6.
 35. Enfissi A, Codrington J, Roosblad J, Kazanji M, Rousset D. Zika virus genome from the Americas. *Lancet.* 2016;387(10015):227-8.
 36. European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC). Rapid risk assessment: Microcephaly in Brazil potentially linked to the Zika virus epidemic, 2015. Stockholm: ECDC; 2015.
 37. Façal AV, de Oliveira JC, Oliveira JVV, de Almeida BL, Agra IA, Alcantara LCJ, Acosta AX, de Siqueira IC. Neurodevelopmental delay in normocephalic children with in utero exposure to Zika virus. *BMJ Paediatr Open.* 2019 Jul 5;3(1):e000486. doi: 10.1136/bmjpo-2019-000486. eCollection 2019.
 38. Familiar I, Boivin M, Magen J, Azcorra JA, Phippen C, Barrett EA, Miller S, Ruisenor-Escudero H. Neurodevelopment outcomes in infants born to women with Zika virus infection during pregnancy in Mexico. *Child Care Health Dev.* 2021 May;47(3):311-318. doi: 10.1111/cch.12842. Epub 2020 Dec 28.
 39. Faria NR, Azevedo RSS, Kraemer MUG, Souza R, Cunha MS, Hill SC, Thézé J. Zika virus in the Americas: Early epidemiological and genetic findings. *Science,* 2016; DOI: 10.1126/science.aaf5036 (not published yet)

40. Ferreira JP, organizador. *Pediatria: diagnósticos e tratamento*. Porto Alegre: Artmed; 2007
41. Ferreira, M.L.B. et al. Síndrome de Guillain-Barré associada ao surto de infecção por vírus Zika no Brasil. *Neuro-Psiquiatr.* 74 (3) • Mar 2016 • <https://doi.org/10.1590/0004-282X20160035>.
42. Gerzson, L.R. et al. (2020) 'Neurodevelopment of Nonmicrocephalic Children, After 18 Months of Life, Exposed Prenatally to Zika Virus', *Journal of Child Neurology*, 35(4), pp. 278–282. Available at: <https://doi.org/10.1177/0883073819892128>.
43. Glenn OA, Barkovich AJ. Magnetic resonance imaging of the fetal brain and spine: an increasingly important tool in prenatal diagnosis, part 1. *AJNR Am J Neuroradiol.* 2006 Sep;27(8):1604-11.
44. Gourinat AC, O'Connor O, Calvez E, Goarant C, Dupont-Rouzeyrol M. Detection of Zika virus in urine. *Emerg Infect Dis.* 2015 Jan;21(1):84-6.
45. Gudsruk K.M.A, Champagne F.A. Epigenetic Effects of Early Developmental Experiences. *Clinics in Perinatology* Volume 38, Issue 4, December 2011, Pages 703-717. <https://doi.org/10.1016/j.clp.2011.08.005>
46. Haddow AD, Schuh AJ, Yasuda CY, Kasper MR, Heang V, Huy R, Guzman H, et al. Weaver SC. Genetic characterization of Zika virus strains: geographic expansion of the Asian lineage. *PLoS Negl Trop Dis.* 2012;6(2): e1477.
47. Hazin AN, Poretti A, Cruz DD, Tenorio M, van der Linden A, Pena LJ, Brito C, Gil LH, Miranda-Filho DB, Marques ET, Martelli CM, Alves JG, Huisman TA. Computed Tomographic Findings in Microcephaly Associated with Zika Virus. *N Engl J Med.* 2016 Apr 6. [Epub ahead of print].
48. Hess CP, Barkovich AJ. Techniques and methods in pediatric neuroimaging. In: Barkovich AJ, Raybaud C, eds. *Pediatric neuroimaging* 5th ed. Philadelphia, PA: Wolters Kluwer Health/Lippincott Williams & Wilkins; 2012:1–19.
49. Key AP, Negrini SFBM, Caldas CACT, Teixeira SR, Anastasio ART, Cavalcante J, Mussi-Pinhata MM, Hood LJ. *Early Hum Dev.* 2021 Dec;163:105470. doi: 10.1016/j.earlhumdev.2021.105470. Epub 2021 Sep 15. PMID: 34563832
50. Kuno G, Chang W-JJ, Tsuchiya KR, Karabatsos N, Cropp CB. Phylogeny of the Genus Flavivirus. *J Virol.* 1998;72(1):73-83.
51. Lemos de Carvalho A, Brites C, Taguchi TB, Pinho SF, Campos G, Lucena R. Congenital Zika Virus Infection with Normal Neurodevelopmental Outcome, Brazil. *Emerg Infect Dis.* 2018 Nov;24(11):2128-2130. doi: 10.3201/eid2411.180883.
52. Glenn OA, Barkovich AJ. Magnetic resonance imaging of the fetal brain and spine: an increasingly important tool in prenatal diagnosis, part 1. *AJNR Am J Neuroradiol.* 2006 Sep;27(8):1604-11.

53. Grant R, Fléchettes O, Tressières B, Dialo M, Elenga N, Mediamolle N, Mallard A, Hebert JC, Lachaume N, Couchy E, Hoen B, Fontanet A. In utero Zika virus exposure and neurodevelopment at 24 months in toddlers normocephalic at birth: a cohort study. *BMC Med.* 2021 Jan 21;19(1):12. doi: 10.1186/s12916-020-01888-0.
54. Matijasevich A, Abanto J, Buccini GS, Cardoso MA. Primeiros 1.000 dias de vida. *REV ASSOC PAUL CIR DENT* 2018;72(3):490-94
55. Marques FJP, Teixeira MCS, Barra RR, de Lima FM, Dias BLS, Pupe C, Nascimento OJM, Leyser M. Children Born With Congenital Zika Syndrome Display Atypical Gross Motor Development and a Higher Risk for Cerebral Palsy. 2019; *Journal of Child Neurology*, Vol. 34(2) 81-85.
56. Ministério da Saúde do Brasil (MS). Ministério da Saúde confirma relação entre vírus Zika e microcefalia. 28 de novembro de 2015. Acessado em 20/03/2019 no <http://portalsaude.saude.gov.br/index.php/cidadao/principal/agencia-saude/21014-ministerio-da-saude-confirma-relacao-entre-virus-zika-e-microcefalia>
57. Ministério da Saúde (MS). Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de Vigilância das Doenças Transmissíveis. Protocolo de Vigilância e Resposta à Ocorrência de Microcefalia Relacionada à Infecção Pelo Vírus Zika. Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de Vigilância das Doenças Transmissíveis. Brasília: Ministério da Saúde. 2015:1-71.
58. Ministério da Saúde (MS). Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de Vigilância das Doenças Transmissíveis. Protocolo de vigilância e resposta à ocorrência de microcefalia e/ou alterações do sistema nervoso central (SNC). Versão 2. Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de Vigilância das Doenças Transmissíveis. Versão 3. Brasília: Ministério da Saúde, 2016:1-55.
59. Miranda-Filho DB, Martelli CM, Ximenes RA, Araújo TV, Rocha MA, Ramos RC, Dhalia R, et al. Initial description of the presumed Congenital Zika Syndrome. *Am J Public Health.* 2016;106(4):598-600.
60. Moreira MEL, Nielsen-Saines K, Geffen D, Brasil P, Kerin T, Damasceno L, Pone M, Carvalho LMA, Pone SM, Vasconcelos Z, Ribeiro IP, Zin AA, Tsui I, Adachi K, Geffen, D. Neurodevelopment in Infants Exposed to Zika Virus In Utero. 2018; *N ENGL J MED* 379;24
61. Muller WJ, Mulkey SB. Lessons about early neurodevelopment in children exposed to ZIKV in utero. *Nat Med.* 2019 Aug;25(8):1192-1193. doi: 10.1038/s41591-019-0540-1.
62. Mulkey SB, Arroyave-Wessel M, Peyton C, Bulas DI, Fourzali Y, Jiang J, Russo S, McCarter R, Msall ME, du Plessis AJ, DeBiasi RL, Cure C. Neurodevelopmental Abnormalities in Children With In Utero Zika Virus Exposure Without Congenital Zika Syndrome. *JAMA Pediatr.* 2020 Mar 1;174(3):269-276. doi: 10.1001/jamapediatrics.2019.5204.

63. Munhoz TN, Santos IS, Blumenberg C, Barcelos RS, Bortolotto CC, Matijasevich A, Júnior HGS, Letícia dos Santos ML, Correa LL, de Souza MR, Lira PIC, Altafim ERP, Macana EC, Victora CG. Fatores associados ao desenvolvimento infantil em crianças brasileiras: linha de base da avaliação do impacto do Programa Criança Feliz. *Cadernos de Saúde Pública*. ISSN 1678-4464 38 nº.2 Rio de Janeiro, Fevereiro 2022. <http://dx.doi.org/10.1590/0102-311X00316920>Musso D, Cao-Lormeau VM, Gubler DJ. Zika virus: following the path of dengue and chikungunya? *Lancet*. 2015;386(9990):243-4.
64. Musso D, Roche C, Nhan T-X, Robin E, Teissier A, Cao-Lormeau V-M. Detection of Zika virus in saliva. *J Clin Virol*. 2015;68:53–5.
65. Musso D, Roche C, Robin E, Nhan T, Teissier A, Cao-Lormeau VA. Potential Sexual Transmission of Zika Virus. *Emerg Infect Dis*. 2015;21(2):359-61.
66. Novak I, Morgan C, Adde L, Badawi N, Blackman J, Boyd R, Cioni G, Damiano D, Darrah J, deVries L, Einspieler C, Fehlings D, Ferrerio D, Fetters L, Forssberg H, Gordon A, Guzzetta A, Karlsson P, Maitre N, McIntyre S, Noritz G, Pennington L, Romeo D, Shepherd R, Valentine J, Walker K, White R (2017). Early, accurate diagnosis and early intervention in cerebral palsy: advances in diagnosis and treatment. *JAMA Pediatrics*, 171(9), 897-907
67. Norbert AAF, Ceolin T, Christo V, Strassburger SZ, Bonamigo ECB. A importância da estimulação precoce na microcefalia. *Salão do Conhecimento*. 2016.
68. Oliveira Melo AS, Malinge G, Ximenes R, Szejnfeld PO, Alves Sampaio S, Bispo de Filippis AM. Zika virus intrauterine infection causes fetal brain abnormality and microcephaly: tip of the iceberg? *Ultrasound Obstet Gynecol*. 2016;47:6-7.
69. Oliveira WK, Coelho GE, França GVA. Boletim Epidemiológico - Situação epidemiológica de ocorrência de microcefalias no Brasil, 2015. *Bol Epidemiológico SVS/MS*. 2015;46:1–3.
70. Oster AM, Brooks JT, Stryker JE, Kachur RE, Mead P, Pesik NT, Petersen LR. Interim Guidelines for Prevention of Sexual Transmission of Zika Virus – United States, 2016. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep*. 2016 Feb 12;65(5):120-1.
71. Oster ME, Riehle-Colarusso T, Correa A. An update on cardiovascular malformations in congenital rubella syndrome. *Birth Defects Res Part A - Clin Mol Teratol*. 2010;88(1):1-8. doi:10.1002/bdra.20621.
72. Papageorghiou AT, Thilaganathan B, Bilardo CM, Ngu A, Malinge G, Herrera M, Salomon LJ, A. ISUOG Interim Guidance on ultrasound for Zika virus infection in pregnancy: information for healthcare professionals. *Ultrasound Obstet Gynecol*. 2016; doi: 10.1002/uog.15896. [Epub ahead of print].
73. Papageorghiou AT, Ohuma EO, Altman DG, Todros T, Cheikh Ismail L, Lambert A, Jaffer YA, International Fetal and Newborn Growth Consortium for the 21st Century (INTERGROWTH-

- 21st). International standards for fetal growth based on serial ultrasound measurements: the Fetal Growth Longitudinal Study of the INTERGROWTH-21st Project. *Lancet*. 2014;384(9946):869-79.
74. PIAGET, Jean. O nascimento da inteligência na criança. 4ª ed. Rio de Janeiro: Zahar, 1973.
75. Pílu G, Mallinger G. Microcephaly 2013. Acessado em 22/03/2019, no <http://www.visuog.com/Page/view.jsp?id=6499122244886988132>
76. Portal da Saúde (PS). Ministério da Saúde. Ministério da Saúde investiga 4.293 casos de microcefalia no país. Acessado em 22/03/2019, no <http://portalsaude.saude.gov.br/index.php/o-ministerio/principal/secretarias/svs/noticias-svs/22730>
77. Raper J, Chahroudi A. Clinical and Preclinical Evidence for Adverse Neurodevelopment after Postnatal Zika Virus Infection. *Trop Med Infect Dis*. 2021 Jan 12;6(1):10. doi: 10.3390/tropicalmed6010010.
78. Rasmussen S. A., Jamieson J. D., Honein, Petersen L. R. Zika Virus and Birth Defects — Reviewing the Evidence for Causality. *The new england journal of medicine* 2016.
79. Secretaria de Estado da Saúde do Estado de São Paulo, Coordenadoria de Controle de Doenças Centro de Vigilância Epidemiológica, Instituto Adolfo Lutz. Vigilância das microcefalias relacionadas à infecção pelo vírus Zika. Informe Técnico Nº 1 de 14/12/2015. São Paulo:1-13, 2015.
80. Schuler-Faccini L, del Campo M, García-Alix A, Ventura LO, Boquett JA, van der Linden V, Pessoa A, van der Linden Júnior H, Ventura CV, Leal MC, Kowalski TW, Rodrigues Gerzson L, Skilhan de Almeida C, Santi L, Beys-da-Silva WO, Quincozes-Santos A, Guimarães JA, Garcez PP, Gomes JdA, Vianna FSL, Anjos da Silva A, Fraga LR, Vieira Sanseverino MT, Muotri AR, Lopes da Rosa R, Abeche AM, Marcolongo-Pereira C and Souza DO (2022) Neurodevelopment in Children Exposed to Zika in utero: Clinical and Molecular Aspects. *Front. Genet*. 13:758715. doi: 10.3389/fgene.2022.758715
81. Sobral da Silva PF, Eickmann SH, Arraes de Alencar Ximenes R, Ramos Montarroyos U, de Carvalho Lima M, Turchi Martelli CM, Velho Barreto de Araújo T, Brickley EB, Cunha Rodrigues L, Lima da Silva Pastich Gonçalves FC, Costa Gomes Carvalho MD, Vieira de Souza W, de Barros Miranda-Filho D. Pediatric neurodevelopment by prenatal Zika virus exposure: a cross-sectional study of the Microcephaly Epidemic Research Group Cohort. *BMC Pediatr*. 2020 Oct 10;20(1):472. doi: 10.1186/s12887-020-02331-2.
82. Sociedade Brasileira de Pediatria, 2014. <https://memoria.ebc.com.br/infantil/para-pais/2014/10/entenda-o-desenvolvimento-do-bebe>.

83. Sobral da Silva, P.F.; Eickmann, S.H.; Ximenes, R.A.d.A.; Martelli, C.M.T.; Brickley, E.B.; C. Lima, M.; Montarroyos, U.R.; Carvalho, M.D.C.G.d.; Rodrigues, L.C.; Araújo, T.V.B.d.; et al. Neurodevelopment in Children Exposed to Zika Virus: What Are the Consequences for Children Who Do Not Present with Microcephaly at Birth? *Viruses* 2021, 13, 1427. <https://doi.org/10.3390/v13081427>
84. Squires J, Bricker DD, Twonbly E, LaWanda P. *Ages & Stages Questionnaires: A Parent-Completed Child Monitoring System*. 3rd ed. Baltimore: Paul H. Brookes, 2009.
85. Sullivan Nicolaides Pathology 2015. Chikungunya virus & Zika viruses. Acessado em 21/02/2019 no <http://protocols.sonichealthcare.com/shared/IP625.pdf>
86. Subcommittee of the American Academy of Neurology and the Practice Committee of the Child Neurology Society. *Neurology*. 2009;73:887-97.
87. Teixeira SR, Coutinho CM, Negrini SFBM, Jr JE, Zotin MCZ, Yamamoto AY, Mussi-Pinhata. Cranial US in Infants Exposed to Zika Virus: The NATZIG Cohort. *Radiology* 2021; 000:1–9 • <https://doi.org/10.1148/radiol.2021204150>
88. Tiene SF, Cranston JS, Nielsen-Saines K, Kerin T, Fuller T, Vasconcelos Z, Marschik PB, Zhang D, Pone M, Pone S, Zin A, Brickley E, Orofino D, Brasil P, Adachi K, da Costa ACC, Lopes Moreira ME. *Pediatr Infect Dis J*. 2022 Mar 1;41(3):255-262. doi: 10.1097/INF.0000000000003379. PMID: 35144270
89. UNICEF. *Early Childhood Development: the key to a full and productive life*. 2015. Disponível em: www.unicef.org/dprk/ecd.pdf. Acesso em: 21/02/2019.
90. Ventura CV, Maia M, Bravo-Filho V, Góis AL, Belfort R Jr. Zika virus in Brazil and macular atrophy in a child with microcephaly. *Lancet*. 2016;387(10015):228.
91. Victora CG, Horta BL, Mola CL, Quevedo L, Pinheiro RT, Gigante DP, et al. Association between breastfeeding and intelligence, educational attainment, and income at 30 years of age: a prospective birth cohort study from Brazil. *Lancet Glob Health* 2015; 3:e199-205
92. Victora CG, Araujo CL, Menezes AM, Hallal PC, Vieira MF, Neutzling MB, et al. Methodological aspects of the 1993 Pelotas (Brazil) birth cohort study. *Rev Saúde Pública* 2006;40(1):39-46.
93. Villar J, Giuliani F, Bhutta ZA, Bertino E, Ohuma EO, Ismail LC, Barros FC, International Fetal and Newborn Growth Consortium for the 21(st) Century (INTERGROWTH-21(st)). Postnatal growth standards for preterm infants: the Preterm Postnatal Follow-up Study of the INTERGROWTH-21(st) Project. *Lancet Glob Health*. 2015;3(11):e681-91.
94. World Health Organization (WHO). *Pregnancy management in the context of Zika virus. Interim guidance*. 2016; WHO/ZIKV/MOC/16.2, page 1-7.
95. World Health Organization (WHO). *Zika virus infection: global update on epidemiology and potentially associated clinical manifestations*. *Wkly Epidemiol Rec*. 2016 Feb 19;91(7):73-81.

96. World Health Organization (WHO). Psychosocial support for pregnant women and for families with microcephaly and other neurological complications in the context of Zika virus. Interim guidance for health-care providers. 26 february 2016; WHO reference number:WHO/ZIKV/MOC/16.6. Assessed in 20/03/2019