



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO  
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE DA COMUNICAÇÃO HUMANA

LAÍS CRISTINE DELGADO DA HORA

***FREQUENCY FOLLOWING RESPONSE* E COMPORTAMENTO AUDITIVO DE  
CRIANÇAS COM INFECÇÃO CONGÊNITA PELO ZIKA VÍRUS**

Recife  
2020

LAÍS CRISTINE DELGADO DA HORA

***FREQUENCY FOLLOWING RESPONSE* E COMPORTAMENTO AUDITIVO DE  
CRIANÇAS COM INFECÇÃO CONGÊNITA PELO ZIKA VÍRUS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Saúde da Comunicação Humana do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal de Pernambuco como requisito para obtenção do título de Mestre em Saúde da Comunicação Humana.

**Área de concentração:** Audição e Linguagem: desenvolvimento, diagnóstico e intervenção fonoaudiológica.

**Orientador:** Profa. Dra. Lilian Ferreira Muniz

**Coorientador:** Profa. Dra. Mariana de Carvalho Leal Gouveia

Recife

2020

Catálogo na fonte  
Bibliotecária: Mônica Uchôa, CRB4-1010

H811f      Hora, Laís Cristine Delgado da.  
              *Frequency following response* e comportamento auditivo de crianças  
              com infecção congênita pelo Zika vírus / Laís Cristine Delgado da Hora. –  
              2020.  
              88 f.: il.; tab.; 30 cm.

              Orientadora: Lilian Ferreira Muniz.  
              Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Pernambuco, CCS,  
              Programa de Pós-Graduação em Saúde da Comunicação Humana.  
              Recife, 2020.  
              Inclui referências, apêndices e anexos.

              1. Zika vírus. 2. Microcefalia. 3. Audição. 4. Eletrofisiologia. I. Muniz,  
              Lilian Ferreira (Orientadora). II. Título.

614                      CDD (20.ed.)                      UFPE (CCS2020-141)

LAÍS CRISTINE DELGADO DA HORA

***FREQUENCY FOLLOWING RESPONSE E COMPORTAMENTO AUDITIVO DE  
CRIANÇAS COM INFECÇÃO CONGÊNITA PELO ZIKA VÍRUS***

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação  
em Saúde da Comunicação Humana do Centro de  
Ciências da Saúde da Universidade Federal de  
Pernambuco como requisito para obtenção do título de  
Mestre em Saúde da Comunicação Humana

Aprovada em: 08 de Maio de 2020.

**BANCA EXAMINADORA**

---

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Lilian Ferreira Muniz (Orientadora)  
Universidade Federal de Pernambuco

---

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Silvana Maria Sobral Griz (Examinadora Interna)  
Universidade Federal de Pernambuco

---

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Karina Paes Advíncula (Examinadora Interna)  
Universidade Federal de Pernambuco

---

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Kelly Cristina Lira de Andrade (Examinadora Externa)  
Universidade Estadual de Ciências da Saúde de Alagoas

Dedico este trabalho à minha família, meu bem mais preciso.

## **AGRADECIMENTOS**

À minha orientadora Prof<sup>ª</sup> Dr<sup>ª</sup> Lilian Ferreira Muniz pelo acolhimento, incentivo e paciência. Obrigada por confiar e acreditar em mim quando eu mesma duvidava.

À minha coorientadora Prof<sup>ª</sup> Dr<sup>ª</sup> Mariana Leal pela generosidade e por todo conhecimento compartilhado.

À Prof<sup>ª</sup> Dr<sup>ª</sup> Silvana Griz pela valiosa colaboração e disponibilidade.

Aos membros da banca de defesa Prof<sup>ª</sup> Dr<sup>ª</sup> Karina Advíncula e Prof<sup>ª</sup> Dr<sup>ª</sup> Kelly Andrade pelas sábias sugestões e contribuições para este trabalho.

À Prof<sup>ª</sup> Dr<sup>ª</sup> Cleide Teixeira por ter me acolhido com tanto carinho nesta nova casa.

Ao Prof. Francisco José (Franzé) e minhas amigas Moara Malheiros e Thamara Mendes por todo incentivo e apoio nos primeiros passos dessa caminhada.

Aos queridos Leonardo, Jessica e Diana pela parceria, colaboração e generosidade.

Aos meus queridos amigos Cíntia e Edson pela caféina e carinho diário.

Às companheiras de jornada Nathalia, Natali, Sara e Cecília por tornarem tudo mais leve. Obrigada também às demais colegas da turma PPGSCH 2018 pelo incentivo e carinho.

Às crianças e aos seus familiares que participaram desta pesquisa.

Aos meus pais, Rosselia e Marcos, por todo apoio e amor. Vocês são a base de tudo.

Aos meus irmãos, Adson, Felipe e Bob, por sempre torcerem pelas minhas conquistas.

À Suellen e aos pequenos, Hugo, Laura e Alice, por todo carinho.

À Maria Conceição e à Giselia por todo apoio.

Ao Marcus e ao Dudu, meus companheiros na jornada da vida. Obrigada por toda paciência, compreensão e incentivo.

“Suba o primeiro degrau com fé. Não é necessário que você veja toda a escada. Apenas dê o primeiro passo” (Martin Luther King).

## RESUMO

A exposição pré-natal ao Zika vírus pode comprometer o neurodesenvolvimento e trazer risco de danos auditivos. O objetivo deste estudo foi analisar o exame do *Frequency Following Response* (FFR) e o comportamento auditivo de crianças com e sem infecção congênita pelo Zika vírus. Participaram 30 crianças, divididas em três grupos: 10 crianças com infecção congênita pelo Zika vírus e microcefalia, 10 crianças com infecção congênita pelo Zika vírus normocefálicas e 10 crianças sem evidências de exposição pré-natal à infecção da mesma faixa etária. Foi realizado o exame do FFR utilizando a sílaba /da/ e o questionário *LittleEars*® aplicado aos responsáveis. No exame do FFR não houve diferença entre os grupos para as médias de latência, amplitude, *slope* e área, sugerindo que todas as crianças estudadas apresentam padrões de codificação temporal do estímulo verbal semelhantes. A análise do comportamento auditivo com o *LittleEars*® evidenciou que as crianças com infecção congênita pelo Zika vírus, com e sem microcefalia, apresentaram *score* final inferior aos valores de referência para crianças normo-ouvintes, indicando sinais de atraso no desenvolvimento auditivo. Foi observada diferença significativa para os *scores* final, semântico e expressivo entre o grupo com microcefalia e os demais grupos, além de uma correlação negativa forte entre o *score* final e as medidas do FFR. As crianças com infecção congênita pelo Zika vírus, com e sem microcefalia, apresentaram padrões de codificação temporal do estímulo verbal semelhantes a crianças sem evidências de exposição, contudo, mostraram sinais de comportamento auditivo imaturo sugestivo de atraso no desenvolvimento auditivo.

**Palavras-chave:** Zika vírus. Microcefalia. Audição. Eletrofisiologia.

## ABSTRACT

Prenatal exposure to the Zika virus can compromise neurodevelopment and bring risks of hearing damage. The aim of this study was to analyze the Frequency Following Response (FFR) and the auditory behavior of children with and without congenital Zika virus infection. The sample consisted of 30 children divided into three groups: 10 children with congenital Zika virus infection and microcephaly, 10 children with congenital Zika virus infection without microcephaly and 10 children with no evidence of exposure to infection, typical development and the same age group. The FFR exam was performed using the syllable / da / and the LittlEars® questionnaire applied to the responsible. In the FFR exam, no difference was observed between groups for averages of latency, amplitude, slope and area, suggesting that all children studied have similar patterns of temporal coding of verbal stimuli. The analysis of auditory behavior with LittlEars® showed that children with congenital Zika virus infection, with and without microcephaly, had a final score lower than the reference values for normal hearing children. A significant difference was observed for the final, semantic and expressive scores between the group with microcephaly and the other groups, in addition to a strong negative correlation between the final score and the FFR measurements. Thus, children with congenital Zika virus infection, with and without microcephaly, showed patterns of temporal stimulation of the verbal stimulus similar to children without evidence of exposure, however, they showed signs of immature auditory behavior suggestive of delayed auditory development.

**Keywords:** Zika virus. Microcephaly. Hearing. Electrophysiology.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

|             |                                                                                                                                                                 |    |
|-------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Figura 1 –  | Formato do <i>LittleEars</i> ® e exemplos sugeridos pelo questionário para compreensão das perguntas.....                                                       | 29 |
| Figura 2 –  | Valores esperados e valores mínimos padronizados (intervalo de confiança inferior a 95%) do comportamento auditivo para o questionário <i>LittleEars</i> ®..... | 30 |
| Figura 3 –  | Exemplo de traçado do exame do <i>Frequency Following Response</i> .....                                                                                        | 32 |
| Gráfico 1 – | <i>Score</i> final individual do questionário <i>LittleEars</i> ®.....                                                                                          | 42 |
| Figura 4 –  | (1) Distribuição dos valores do <i>score</i> final do questionário <i>LittleEars</i> ® no grupo de crianças com microcefalia.....                               | 44 |
| Figura 5 –  | (2) Distribuição dos valores de amplitude das ondas C, E, F e O do exame do FFR no grupo de crianças com microcefalia .....                                     | 45 |

## LISTA DE TABELAS

|            |                                                                                                                                                                                                     |    |
|------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Tabela 1 – | Comparação das medidas de latência do exame do FFR entre crianças com infecção congênita pelo Zika vírus, com e sem microcefalia, e crianças sem evidências de exposição à infecção.....            | 39 |
| Tabela 2 – | Comparação das medidas de amplitude do exame do FFR entre crianças com infecção congênita pelo Zika vírus, com e sem microcefalia, e crianças sem evidências de exposição à infecção.....           | 40 |
| Tabela 3 – | Comparação das medidas de <i>slope</i> e área do exame do FFR entre crianças com infecção congênita pelo Zika vírus, com e sem microcefalia, e crianças sem evidências de exposição à infecção..... | 41 |
| Tabela 4 – | <i>Score</i> final, <i>score</i> receptivo e <i>score</i> semântico do questionário <i>LittleEars</i> ®.....                                                                                        | 42 |
| Tabela 5 – | Comparação entre os grupos do <i>score</i> final, <i>score</i> receptivo, <i>score</i> semântico e <i>score</i> expressivo do questionário <i>LittleEars</i> ®.....                                 | 42 |
| Tabela 6 – | Correlação entre as medidas do <i>score</i> final do questionário <i>LittleEars</i> ® e as medidas de latência e amplitude do exame do FFR no grupo de crianças com microcefalia.....               | 43 |

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

|              |                                                         |
|--------------|---------------------------------------------------------|
| <b>ANSI</b>  | <i>American National Standards Institute</i>            |
| <b>EIA</b>   | Encontro Internacional de Audiologia                    |
| <b>EOA</b>   | Emissões Otoacústicas                                   |
| <b>FFR</b>   | <i>Frequency Following Response</i>                     |
| <b>HAM</b>   | Hospital Agamenon Magalhães                             |
| <b>HC</b>    | Hospital das Clínicas                                   |
| <b>IHS</b>   | <i>Intelligent Hearing System</i>                       |
| <b>LEAQ</b>  | <i>LittleEars®</i> Questionário Auditivo                |
| <b>OMS</b>   | Organização Mundial da Saúde                            |
| <b>PC</b>    | Perímetro Cefálico                                      |
| <b>PEA</b>   | Potencial Evocado Auditivo                              |
| <b>PEATE</b> | Potencial Evocado Auditivo de Tronco Encefálico         |
| <b>PAC</b>   | Processamento Auditivo Central                          |
| <b>SCZ</b>   | Síndrome congênita associada à infecção pelo Zika vírus |
| <b>SNC</b>   | Sistema Nervoso Central                                 |
| <b>SPSS</b>  | <i>Statistical Package for the Social Sciences</i>      |
| <b>SUS</b>   | Sistema Único de Saúde                                  |
| <b>TCLE</b>  | Termo de Consentimento Livre e Esclarecido              |

## SUMÁRIO

|       |                                                                        |           |
|-------|------------------------------------------------------------------------|-----------|
| 1     | <b>INTRODUÇÃO .....</b>                                                | <b>14</b> |
| 2     | <b>REFERENCIAL TEÓRICO .....</b>                                       | <b>17</b> |
| 2.1   | ZIKA VÍRUS.....                                                        | 17        |
| 2.2   | ZIKA VÍRUS NO BRASIL.....                                              | 18        |
| 2.3   | EXPOSIÇÃO PRÉ-NATAL AO ZIKA VÍRUS.....                                 | 18        |
| 2.4   | ZIKA VÍRUS E AUDIÇÃO.....                                              | 20        |
| 2.5   | AVALIAÇÕES AUDITIVAS.....                                              | 21        |
| 2.5.1 | <i>Frequency Following Response (FFR)</i> .....                        | 22        |
| 2.5.2 | <i>LittleEars®</i> Questionário Auditivo (LEAQ).....                   | 23        |
| 3     | <b>MÉTODOS.....</b>                                                    | <b>26</b> |
| 3.1   | DELINEAMENTO DO ESTUDO.....                                            | 26        |
| 3.2   | LOCAL DO ESTUDO.....                                                   | 26        |
| 3.3   | POPULAÇÃO DO ESTUDO.....                                               | 26        |
| 3.4   | CRITÉRIOS DE INCLUSÃO.....                                             | 27        |
| 3.5   | CRITÉRIOS DE EXCLUSÃO.....                                             | 27        |
| 3.6   | VARIÁVEIS ESTUDADAS.....                                               | 28        |
| 3.6.1 | <b>Variáveis independentes.....</b>                                    | <b>28</b> |
| 3.6.2 | <b>Variáveis dependentes.....</b>                                      | <b>28</b> |
| 3.7   | SELEÇÃO DA AMOSTRA.....                                                | 28        |
| 3.7.1 | <b>Consulta ao bando de dados.....</b>                                 | <b>28</b> |
| 3.7.2 | <b>Anamnese.....</b>                                                   | <b>28</b> |
| 3.7.3 | <b>Triagem auditiva.....</b>                                           | <b>29</b> |
| 3.8   | COLETA DE DADOS.....                                                   | 29        |
| 3.8.1 | <b>Aplicação do <i>LittleEars®</i> Questionário Auditivo (ANEXO A)</b> | 29        |
| 3.8.2 | <b>Avaliação com o exame do FFR.....</b>                               | <b>31</b> |
| 3.9   | ANÁLISE DOS TRAÇADOS.....                                              | 31        |
| 3.10  | ANÁLISE DOS DADOS.....                                                 | 32        |
| 3.11  | CONSIDRAÇÕES ÉTICAS.....                                               | 32        |
| 3.12  | RISCOS E BENEFÍCIOS.....                                               | 33        |
| 4     | <b>RESULTADOS.....</b>                                                 | <b>34</b> |
| 4.1   | ARTIGO: <i>FREQUENCY FOLLOWING RESPONSE</i> E                          |           |

|                                                                                   |           |
|-----------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| COMPORTAMENTO AUDITIVO DE CRIANÇAS COM<br>INFECÇÃO CONGÊNITA PELO ZIKA VÍRUS..... | 34        |
| <b>CONSIDERAÇÕES FINAIS.....</b>                                                  | <b>55</b> |
| <b>REFERÊNCIAS.....</b>                                                           | <b>56</b> |
| <b>APÊNDICE A – TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE<br/>E ESCLARECIDO.....</b>           | <b>62</b> |
| <b>APÊNDICE B – QUESTIONÁRIO DE ENTREVISTA.....</b>                               | <b>64</b> |
| <b>ANEXO A - <i>LITTLEARS</i>® QUESTIONÁRIO AUDITIVO..</b>                        | <b>66</b> |
| <b>ANEXO B – NORMAS DA REVISTA.....</b>                                           | <b>67</b> |
| <b>ANEXO C – COMPROVANTE DE ACEITE EIA.....</b>                                   | <b>84</b> |
| <b>ANEXO D – PARECER DO COMITÊ DE ÉTICA.....</b>                                  | <b>85</b> |

## 1 INTRODUÇÃO

A exposição pré-natal ao Zika vírus pode gerar comprometimentos no neurodesenvolvimento infantil. Esse vírus apresenta perfil fortemente neurotrópico, cujos alvos são células neuroprogenitoras e células neuronais em todas as etapas da maturação (TANG et al., 2016; VAN DER LINDEN et al., 2016)

A Síndrome congênita associada à infecção pelo Zika vírus (SCZ) é caracterizada por anomalias estruturais em diferentes áreas do sistema nervoso central (SNC), sendo a microcefalia e as deficiências funcionais secundárias os achados mais frequentes. Embora as consequências da SCZ não sejam completamente conhecidas, a gravidade dos casos e os prejuízos no desenvolvimento são notáveis (ARAGÃO et al., 2016; TANG et al., 2016; EICKMANN et al., 2016; MOORE et al., 2017).

Crianças expostas ao Zika vírus e normocefálicas ao nascimento, também apresentam riscos de sequelas no SNC. Os relatos evolutivos deste grupo mostram resultados alterados à longo prazo no neurodesenvolvimento de diferentes domínios, incluindo a cognição e a linguagem/comunicação. Embora uma boa parte destas crianças se desenvolvam normalmente, muitas parecem diferir do desenvolvimento típico (PRATA-BARBOSA et al., 2018; EINSPIELER et al 2019; MULKEY et al. 2020, PEÇANHA et al., 2020).

Alterações auditivas também são associadas à exposição pré-natal à infecção pelo Zika vírus (LEAL et al., 2016). Falhas nas Emissões Otoacústicas (EOA) e no Potencial Evocado Auditivos de Tronco Encefálico com estímulo clique (PEATE-clique) são os registros mais recorrentes (BARBOSA et al., 2019). Isto reforça a hipótese de risco auditivo de provável origem periférica como em outras infecções virais, no entanto, a patogênese do vírus na via auditiva ainda é desconhecida (MITTAL et al., 2017; LEAL et al., 2019).

Devido ao perfil neurotrópico do Zika vírus e às alterações do SNC decorrentes da infecção observadas, danos nas vias auditivas corticais que possam impactar o adequado desenvolvimento e processamento auditivo não podem ser descartados (BARBOSA et al., 2019; LEAL et al., 2019).

A integridade do sistema auditivo é fundamental para a aquisição das habilidades auditivas que ocorrem nos primeiros anos de vida. Malformações corticais e transtornos no neurodesenvolvimento podem gerar déficits no adequado curso da maturação auditiva central e no processamento das informações sonoras, que por sua vez, também podem ocasionar em impactos na linguagem e comunicação (BOSCARIOL et al., 2010; SOBREIRA et al., 2015; MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2016; GOUVEIA, et al. 2020).

A utilização de diferentes ferramentas para avaliação e monitoramento da função auditiva destas crianças se faz necessário, a fim de garantir o adequado diagnóstico e intervenções precoces (MITTAL et al., 2017; BARBOSA et al., 2019; LEAL et al., 2019).

Os Potenciais Evocados Auditivos (PEA) auxiliam neste processo, pois analisam de forma objetiva a atividade eletrofisiológica das vias auditivas. O exame do PEATE com o estímulo clique é o mais utilizado, avaliando a integridade das vias auditivas até o tronco encefálico (DUARTE et al., 2009). Contudo, sinais breves como o clique apresentam padrão acústico simples e diferente de sons encontrados no ambiente, como sons verbais, tornando-o limitado na avaliação da neurocondução dos sons neste nível da via (SKOE e KRAUS, 2010).

O exame do PEATE com estímulo de fala, conhecido como exame do *Frequency Following Response* (FFR), pode ser usado para compreender como a via auditiva codifica sons verbais, uma vez que fornece informações sobre como uma sílaba é processada pelo sistema auditivo. Desta forma, se configura um bom método de análise da capacidade neural de conduzir e verificar mudanças nos componentes de tempo e frequência presentes no estímulo acústico (RUSSO et al., 2004; SKOE e KRAUS, 2010; KRAUS et al., 2017).

A utilização de questionários e *checklists* também podem auxiliar no monitoramento do desenvolvimento auditivo e das habilidades auditivas e no rastreio de alterações neste processo (ASHA, 2005; AAA, 2010). O questionário auditivo *LittleEars®* (LEAQ) tem se mostrado uma ferramenta simples e confiável pois fornece informações sobre o desenvolvimento auditivo e das habilidades auditivas através da observação dos pais/responsáveis dos comportamento auditivo de crianças pequenas frente à estímulos acústicos presentes no dia-a-dia (CONINX; WEICHBOLD; TSIKPINI, 2003; ANNA et al., 2019).

Em síntese, a exposição pré-natal ao Zika vírus pode gerar um amplo espectro de comprometimentos no neurodesenvolvimento infantil, sendo a criança microcefálica ou não. Diante das evidências de alterações no SNC e do risco de danos auditivos, muitas vezes subdiagnosticados, deve-se considerar o uso de diferentes ferramentas para melhor compreender e monitorar, sob diferentes perspectivas, a função auditiva desta população.

O exame do FFR e o LEAQ podem auxiliar nesta análise, tanto do ponto de vista eletrofisiológico, ao analisar como estas crianças codificam pistas temporais de sons da fala, como do comportamental, ao observar os relatos das respostas auditivas frente aos estímulos sonoros do dia-a-dia.

Esta pesquisa buscou responder à seguinte pergunta: Quais os achados do exame do FFR e do comportamento auditivo de crianças com infecção congênita pelo Zika vírus, com

em sem microcefalia, quando comparadas com crianças da mesma faixa etária, sem evidências de exposição pré-natal à infecção e desenvolvimento típico?

A hipótese foi que crianças com infecção congênita pelo Zika vírus, com em sem microcefalia, apresentam padrões diferentes nos resultados do exame do FFR e no comportamento auditivo quando comparadas com crianças da mesma faixa etária, sem evidências de exposição pré-natal à infecção e desenvolvimento típico, refletindo em possíveis dificuldades na codificação dos estímulos da fala e no desenvolvimento auditivo.

Esta hipótese foi testada através da comparação dos resultados do exame do FFR e do comportamento auditivo destes três grupos. O objetivo da pesquisa foi analisar os achados do exame FFR e do comportamento auditivo de crianças com infecção congênita pelo Zika vírus, com em sem microcefalia, e comparar com crianças da mesma faixa etária, sem evidências de exposição pré-natal à infecção e desenvolvimento típico.

A presente dissertação está estruturada em cinco capítulos, sendo o primeiro a apresentação, o segundo a fundamentação teórica que dará embasamento aos temas abordados e o terceiro capítulo o método empregado durante toda a pesquisa, assim como a coleta de dados.

Com os resultados encontrados foi redigido um artigo original, apresentados no capítulo quatro, intitulado “*Frequency Following Response* e comportamento auditivo de crianças com infecção congênita pelo Zika vírus”, cujo objetivo principal foi analisar os registros do exame do FFR e o comportamento auditivo, através do questionário *LittleEars®*, de crianças com infecção congênita pelo Zika vírus, com em sem microcefalia, e comparar com crianças da mesma faixa etária, sem evidências de exposição pré-natal à infecção e desenvolvimento típico. Este artigo será submetido no periódico *Journal Viruses*.

O quinto capítulo são as considerações finais. Além dos capítulos propostos, também compõe esta dissertação o comprovante de submissão e aprovação do resumo fruto desta pesquisa, intitulado “*Frequency Following Response: Análise temporal das respostas evocadas auditivas em crianças infectadas pelo Zika vírus com e sem microcefalia*” (ANEXO C), a ser apresentado no 35º Encontro Internacional de Audiologia (EIA), no ano de 2020.

## 2 REFERENCIAL TEÓRICO

### 2.1. ZIKA VÍRUS

O Zika vírus é um arbovírus emergente classificado como parte da família *Flaviviridae* e do gênero *Flavivirus*. Foi isolado pela primeira vez em 1947, de um macaco *rhesus* na floresta Zika, em Uganda. O primeiro caso de infecção em humanos foi identificado em 1952 (DICK, KITCHEN e HADDOW, 1952a; DICK, 1952b).

Assim como as demais arboviroses, sua transmissão ocorre pela picada de artrópodes hematófagos, sendo o mosquito *Aedes* o principal vetor transmissor (OPES, NOZAWA e LINHARES, 2014; WIKAN e SMITH, 2016). Outras formas de transmissão são descritas na literatura: através do contato sexual, transfusões sanguíneas e transmissão vertical (perinatal) (DIAS et al., 2018).

As manifestações clínicas da infecção por Zika vírus não são completamente conhecidas. Indivíduos com a doença apresentam sintomas tipicamente caracterizados por quadro febril agudo, podendo ocorrer também cefaleia, erupções cutânea (exantema), dor retro orbital, conjuntivite, mialgias e/ou artralgias e mal estar (PINTO JUNIOR et al., 2015). Por apresentar sintomas similares a outras arboviroses, a doença é frequentemente confundida com quadros de febre por Dengue ou apresentação leve da doença por Chikungunya (WAGGONER e PINSKY, 2016).

Estima-se que mais da metade dos pacientes com Zika vírus permaneçam assintomáticos ou desenvolvam apenas manifestações clínicas leves (DUFFY et al., 2009). O diagnóstico é baseado em características clínicas associado à análise laboratorial de exames de sangue e urina, com base em técnicas como ELISA, imunofluorescência indireta e imunocromatografia, com determinação da circulação de anticorpos, além da detecção por metodologia molecular (XAVIER et al., 2017).

Durante mais de meio século, casos de humanos infectados foram esporadicamente notificados em diferentes lugares da África e Ásia, o que sugere a distribuição geográfica do vírus nestes continentes (HAYES, 2009; WIKAN e SMITH, 2016). A primeira grande epidemia de Zika vírus ocorreu em 2007, nas Ilhas Yap da Micronésia, indicando a transmissão fora de sua habitual área geográfica. Estima-se que mais da metade da população da ilha foi infectada (DUFFY et al., 2009).

Em 2013, a segunda epidemia de Zika vírus ocorreu na Polinésia Francesa, concomitante com uma epidemia de dengue. Neste contexto, surgem os primeiros relatos de alterações neurológicas associadas à doença (IOOS et al., 2014).

## 2.2 ZIKA VÍRUS NO BRASIL

A terceira epidemia de Zika vírus ocorreu em 2015 no Brasil, marcando a entrada do vírus na América. Os primeiros casos e as primeiras confirmações laboratoriais de sua circulação foram reportados na região nordeste do país (CAMPOS, BANDEIRA e SARDI, 2015; ZANLUCA et al., 2015).

Em poucos meses, o vírus avançou atingindo rapidamente a maioria dos estados da federação. No início, a infecção por Zika vírus foi considerada uma doença benigna, no entanto, com o crescente número de casos de neonatos com microcefalia - perímetro cefálico (PC) menor que 2 desvios-padrão, para idade e sexo, de acordo com curvas de referência *InterGrowth*, recomendadas pela Organização Mundial da Saúde (OMS) (2016) - e outras alterações neurológicas, em novembro 2016, a infecção tornou-se Emergência em Saúde Pública de Importância Internacional (LOWE et al., 2018).

No Brasil, estima-se que entre novembro de 2015 e maio de 2018 foram confirmados 2725 casos de recém-nascidos e crianças com alterações no crescimento e desenvolvimento relacionadas à infecção pelo Zika vírus (exceto os que evoluíram para óbito), concentradas principalmente na região Nordeste do país (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2018).

## 2.3 EXPOSIÇÃO PRÉ-NATAL AO ZIKA VÍRUS

Observa-se relação causal entre a exposição pré-natal à infecção pelo Zika vírus e malformações fetais, principalmente relacionadas ao sistema nervoso central. A Síndrome congênita associada à infecção pelo Zika vírus (SCZ) compreende um conjunto de sinais e sintomas apresentados por crianças nascidas de mães infectadas pelo vírus durante a gestação.

O fenótipo mais comum da síndrome é caracterizado por anomalias estruturais e deficiências funcionais secundárias a danos no sistema nervoso central (SNC), dentre as quais a microcefalia grave com crânio parcialmente colapsado, córtices cerebrais finos com calcificações subcorticais, cicatrizes maculares e manchas focais da retina pigmentar, hipertonia precoce com sintomas de envolvimento extrapiramidal, contraturas congênitas e

malformações ósseas craniofaciais, além de excesso de pele nesta região (MOORE et al. 2017).

Pode ocorrer ainda hipertonia global, irritabilidade, choro excessivo, distúrbio da deglutição, crises convulsivas, respostas visuais, linguísticas e auditivas comprometidas. Todas estas características fazem parte do grupo de acometimentos neurológicos. Embora o espectro completo e as consequências da SCZ não sejam bem conhecidos, a gravidade dos casos são notáveis e com evidente prejuízo no desenvolvimento infantil (EICKMANN et al., 2016).

Exames de imagem do SNC (ultrassonografia transfontanela, tomografia e ressonância magnética) passaram a caracterizar essa nova síndrome, mostrando calcificações difusas, puntiformes e predominando na junção córtico-subcortical, podendo estar presente ainda no tronco encefálico, núcleos da base e região periventricular. Além disso, foi observado comprometimento do padrão de migração neuronal, dilatação ventricular, atrofia cortical, atrofia de tronco encefálico ou cerebelo e disgenesias do corpo caloso (ARAGÃO et al., 2016).

A ausência de microcefalia ao nascimento em bebês com exposição pré-natal ao Zika vírus não excluem a presença de anormalidades cerebrais e alterações no desenvolvimento (BARBOSA et al., 2018). Mulkey et al. (2020) avaliaram o neurodesenvolvimento de 70 crianças com histórico de exposição pré-natal ao Zika vírus sem SCZ entre 4 e 18 meses de idade. Foram constatados declínios lineares nos *scores* de desenvolvimento da comunicação, autocuidado, cognição social e mobilidade, sendo os dois últimos mais afetados ao longo do tempo. Além disso, observaram menor *score* na escala de avaliação da motricidade em participantes com alterações inespecíficas na ultrassonografia craniana, concluindo que estas crianças apresentaram risco de resultados anormais no desenvolvimento neurológico nos primeiros 18 meses de vida.

Einspieler e colaboradores (2019) relatam 10 crianças em um grupo de 56 (17.9%) com exposição pré-natal ao Zika vírus sem microcefalia com resultados adversos no desenvolvimento neurológico até 12 meses (domínios da cognição, motor e linguagem, estando um deles ou mais alterados), reforçando que embora grande parte de crianças expostas ao Zika vírus sem microcefalia se desenvolvam normalmente, muitos não o fazem. Tais achados corroboram com o perfil potencialmente neurotrópico do vírus, cujo alvo particular são células progenitoras neurais, mas também em menor extensão, células neuronais em todas as etapas da maturação (TANG et al., 2016; VAN DER LINDEN et al., 2016; CARDOSO et al., 2019).

## 2.4 ZIKA VÍRUS E AUDIÇÃO

Alterações auditivas também têm sido reportadas durante infecções por Zika vírus (MITTAL, FIFFER e LIU, 2017). Leal et al. (2016) foram os primeiros a relatar esta associação, identificando através do exame do Potencial Evocado Auditivo de Tronco Encefálico com estímulo clique (PEATE-clique) quatro pacientes (5,8%) com perda auditiva do tipo sensorineural, dentre um grupo de 69 crianças com microcefalia possivelmente associada à exposição pré-natal à infecção pelo Zika vírus.

Em 2019, o *Joint Committe on Infant Hearing* (2019) inseriu a exposição pré-natal ao Zika vírus na lista de infecções pré-natais que apresentam risco de perda auditiva, orientando que bebês nascidos de mães com possível exposição ao Zika vírus durante a gravidez ou com achados consistentes de SCZ devem receber triagem neonatal ao nascer, preferencialmente realizado com o exame do PEATE e o *follow-up* auditivo conforme necessário.

Em uma revisão sistemática, Barbosa e colaboradores (2019) descreveram alterações auditivas em indivíduos com infecção congênita e adquirida por Zika vírus. Quanto às alterações auditivas por infecção congênita, foram observadas heterogeneidade metodológica dos estudos, presença de falhas no exame das Emissões Otoacústicas (EOA) e exame do PEATE-clique, sendo esses os instrumentos de avaliação mais utilizados, e relatos sugestivos de perdas auditivas principalmente do tipo sensorineurais.

Tais achados reforçam a hipótese de comprometimento auditivo de origem periférica como ocorre em outras infecções virais, no entanto, alterações das vias auditivas centrais não podem ser descartadas. Os autores concluem que os dados da literatura na época ainda são insuficientes para compreender a patogênese da infecção no sistema auditivo.

O conhecimento acerca dos impactos da exposição pré-natal ao Zika vírus nas vias auditivas ainda apresenta lacunas devido aos poucos estudos que abordam a temática, com limitações e heterogeneidade metodológica (BARBOSA et al, 2019). Além disso, a avaliação auditiva predominante nestes estudos utilizou o exame do PEATE com estímulo clique, que analisa a integridade do sistema auditivo até o tronco encefálico.

Entretanto, este método possui limitação principalmente quando se considera o processamento de elementos mais complexos como os sons da fala e a análise da integridade de estruturais corticais envolvidas no processamento auditivo (SKOE e KRAUS, 2010; LEAL et al., 2019). Deve-se considerar o uso de outras ferramentas que avaliem a via auditivas destas crianças do ponto de vista fisiológico e comportamental, especialmente diante das

evidências de comprometimento do SNC nesta população, que muitas vezes são subdiagnosticados e podem interferir no adequado desenvolvimento e processamento auditivo.

## 2.5 AVALIAÇÕES AUDITIVAS

Os primeiros anos de vida são essenciais para o desenvolvimento das habilidades auditivas e da linguagem, pois ocorre durante o processo de maturação do sistema auditivo central e da plasticidade neuronal da via auditiva. O diagnóstico e intervenção precoce em crianças com risco de alteração auditiva tornam-se essenciais para minimizar as consequências que déficits no desenvolvimento podem trazer para o adequado funcionamento auditivo e da comunicação (DOWNS; IOSHINAGA ITANO, 1999; SOBREIRA et al., 2015; GOUVEIA et al., 2020).

A audição depende da complexa análise do som, de modo sequencial e progressivo, desde as porções periféricas até o processamento e reconhecimento nos segmentos centrais (BAMIOU, CAMPBELL e SIRIMANNA, 2006). O sistema nervoso auditivo exerce papel primordial para o adequado reconhecimento e discriminação das informações sonoras. Este sistema pode ser dividido em três níveis: o periférico, onde ocorre a captação dos estímulos, o tronco encefálico, onde se inicia o processamento auditivo por meio da modulação e integração das informações, e o tálamo-cortical, onde ocorre processamento mais complexo de análise do sinal acústico e a resposta do indivíduo ao estímulo (TEIXEIRA e GRIZ, 2011).

Os potenciais evocados auditivos (PEA) avaliam de forma objetiva a atividade eletrofisiológica das vias auditivas (DUARTE et al., 2009). Trata-se de sinais elétricos, de latências variadas, eliciados por estímulos ou eventos acústicos. As atividades elétricas registradas podem ser geradas em vários níveis das vias auditivas, desde a orelha interna até o córtex auditivo (MATAS e MAGLIARO, 2011).

O Potencial Evocado auditivo de tronco encefálico (PEATE) reflete a resposta eliciada por sinal acústico em estruturas localizadas no tronco encefálico, dentre as quais o nervo auditivo, núcleo coclear, complexo olivar superior, lemnisco lateral, colículo inferior e corpo geniculado medial. Na prática clínica, é amplamente utilizado, pois permite avaliar tanto a integridade como adequado funcionamento dos diferentes estágios da via no troco encefálico (MATAS, 2003).

Diversos tipos de sinais acústicos podem ser utilizados para eliciar o exame do PEATE, sendo mais usuais estímulos transientes como *tone burst* (frequência específica) e

cliques (amplo espectro de frequência) (HALL, 2007). No entanto, estes sinais apresentam padrão acústico simples e diferente de sons encontrados no ambiente, como sons verbais, tornando estes estímulos limitados na avaliação do comportamento do tronco encefálico no processamento de sons com padrões acústicos mais complexos (SKOE e KRAUS, 2010).

### **2.5.1 *Frequency Following Response (FFR)***

O processamento da fala requer a ativação de grande quantidade de neurônios desde as porções periféricas até as centrais e necessita de exata e precisa codificação espectral e temporal nos diferentes estágios da via (KRAUS e NICOL, 2003). Uma vez que os PEAs dependem da ativação sincrônica desses neurônios, o uso de estímulos de fala para evocar respostas do sinal na via torna-se viável, sendo capaz de auxiliar na compreensão dos processos de decodificação neural da fala.

Desde a década de 70, tanto estudo em modelos animais (YOUNG e SACHS, 1979; DELGUTTE e KIANG, 1984a; DELGUTTE e KIANG, 1984b) como em humanos (MOUSHEGIAN, RUOERT e STILLMAN, 1973) têm buscado compreender como a fala é processada no tronco encefálico. As respostas do tronco encefálico fornecem informações diretas sobre como uma sílaba falada é decodificada pelo sistema auditivo (RUSSO, 2004).

Johnson; Nicol e Kraus (2005) propõem que as respostas do tronco encefálico para estímulos verbais, possam refletir as características acústicas do estímulo com grande precisão tanto para frequência como para duração, e podem configurar como método para avaliar o processamento auditivo neste nível, podendo ser usado como marcador biológico da análise inadequada dos estímulos de fala em indivíduos com dificuldades perceptivas.

O uso de estímulos de fala para captação do exame do PEATE apresenta diferentes nomenclaturas, no entanto, o termo *Frequency Following Response* (FFR) tem sido o mais indicado (KRAUS; ANDERSON; WHITE, 2017).

A sílaba sintetizada /da/ tem sido amplamente utilizada para realização do exame do FFR por ser uma sílaba acusticamente complexa incluída no inventário fonético da maioria das línguas. É formada por uma estrutura de consoante-vogal, que consiste em um segmento transiente, remetendo a respostas obtidas com o estímulo clique, seguido de um componente sustentado (SKOE e KRAUS, 2010).

A porção transitória desta sílaba (que corresponde ao *onset* da resposta) reflete a decodificação das mudanças temporais rápidas inerentes às consoantes, representando a plosiva /d/. O segmento sustentado (ou FFR) indica codificação da estrutura sonora

periódica e harmônica da vogal /a/. A combinação dos sinais possibilita o registro de respostas claras e replicáveis no tronco encefálico (RUSSO et al., 2004; SKOE e KRAUS, 2010).

O traçado gerado é uma onda complexa, composta por um pico positivo (onda V) acompanhado de um pico negativo (onda A) e seguido de outros picos negativos (C, D, E, F, O). As duas primeiras ondas formam o complexo V-A e refletem as respostas neurais do início do estímulo (consoante /d/). O pico C representa a transição entre a consoante e a vogal, os picos D, E e F correspondem aos componentes da resposta sustentada (vogal /a/) e a onda O representa a porção de deslocamento da vogal em estado estacionário (*offset* da resposta) (JOHNSON; NICOL e KRAUS, 2005). A análise dessas respostas pode ser realizada no domínio de tempo e no domínio espectral (JOHNSON; NICOL e KRAUS, 2005).

A utilização do exame do FFR permite a compreensão dos aspectos biológicos do processamento auditivo para sons verbais, configurando um método de avaliação objetivo e não invasivo da capacidade neural em receber e acompanhar as mudanças nos componentes da frequência incorporadas em um estímulo acústico (HORNICKEL; KNOWLES; KRAUS, 2012).

A aplicação clínica deste potencial tem se mostrado ampla, pois envolve a percepção auditiva dos sons verbais nas habilidades comunicativas do dia-a-dia, além de ser um marcador biológico sensível e específico para os transtornos da comunicação (KRAUS; ANDERSON; WHITE, 2017).

Isso faz com que este exame torne-se útil na identificação de falhas sutis que podem ser a fonte da decodificação inadequada dos estímulos de fala em indivíduos com dificuldades perceptivas (RUSSO et al., 2004; JOHNSON; NICOL e KRAUS, 2005; ROCHA-MUNIZ et al., 2016).

### **2.5.2 *LittleEars*® Questionário Auditivo (LEAQ)**

Além de avaliações objetivas como o exame do FFR para detectar alterações no processamento da informação auditiva, a *American Academy of Audiology* e a *American Speech-Language Hearing Association* sugerem a utilização de questionários e *checklists* para identificar riscos e acompanhar o desenvolvimento auditivo e das habilidades auditivas (ASHA, 2005; AAA, 2010).

A aquisição das habilidades auditivas é crucial para o progresso da comunicação e desenvolvimento da fala e linguagem da criança. Embora não excluam a necessidade de

avaliações objetivas, o uso de questionários e *checklists* são justificados para rastreio de alterações nesse contexto. Bebês e crianças pequenas frequentemente não estão dispostos a participar de situações desconhecidas como exames complexos de longa duração e são jovens demais para testes comportamentais padronizados (CONINX et al., 2009). Além disso, a observação e suspeita familiar de surdez, alteração de fala ou linguagem e atraso ou regressão do desenvolvimento configuram como um dos fatores de risco para alterações auditivas (LEWIS, et al., 2010).

Nessa perspectiva, esses instrumentos podem auxiliar no monitoramento do desenvolvimento auditivo e das habilidades auditivas, bem como no rastreio de alterações nestes processos, pois fornecem informações do desempenho destas habilidades sob o ponto de vista dos familiares e baseado nas respostas auditivas para sons do cotidiano (VOLPATO et al., 2019).

O *LittleEars*® é uma bateria de testes desenvolvida em 2003 por pesquisadores da empresa de fabricante de implantes cocleares *Med-El*. O principal objetivo desta bateria é avaliar o desenvolvimento auditivo de crianças pequenas com audição normal ou deficiência auditiva, baseada na observação parental. Esta bateria é composta por três instrumentos: *LittleEars*® Questionário Auditivo, *LittleEars*® Diário e *LittleEars*® Questionário de Produção Antecipada de Voz (CONINX; WEICHBOLD e TSIAKPINI, 2003).

O *LittleEars*® Questionário Auditivo (LEAQ) é um instrumento validado em crianças normo-ouvintes e com perda auditiva cuja proposta é avaliar o desenvolvimento auditivo por meio da observação parental dos comportamentos auditivos da criança. O questionário possui 35 itens, com alternativas de respostas “sim” ou “não”, abordando os aspectos receptivo, semântico e expressões de competências linguísticas de crianças pequenas, em resposta à entrada auditiva. O *score* total de “sim” é comparada com a curva de crianças normo-ouvintes para cada faixa etária (CONINX et al. 2009).

A primeira parte do LEAQ inclui perguntas sobre detecção, localização e reações ao som; enquanto que a última parte as perguntas são voltadas sobre identificação de palavras e / ou sentenças e a produção verbal. As oito questões finais se concentram em comportamentos auditivos acima de 18 meses, idade em que as respostas da natureza se tornam mais dependentes da linguagem (ANNA et al., 2019).

De acordo Liu e colaboradores (2015), as questões do LEAQ podem ser divididas em três categorias de comportamento auditivo: Comportamento Auditivo Receptivo (questões 0-7), Comportamento Auditivo Semântico (questões 8-20, 22-24, 27, 30, 33 e 34) e Linguagem Expressiva (questões 21, 25, 26, 28, 29, 31, 32, 35). A análise do *score* para cada uma destas

categorias, considerando todas as respostas “sim” nos conjuntos de questões descritos, possibilita analisar o desempenho da criança em cada subconjunto de comportamento.

O questionário foi validado na Alemanha e Itália em crianças usuárias de implante coclear e no Canadá, utilizando a língua inglesa, em famílias de crianças com audição normal (BAGATTO et al., 2011). Em 2016, foi adaptado para pais de crianças com deficiência auditiva por LEANDRO et al. (2016) para o Português Brasileiro (LEANDRO et al., 2016),.

O LEAQ tem se mostrado uma ferramenta simples, confiável e eficaz no monitoramento precoce do comportamento e no rastreio de alterações no desenvolvimento auditivo de crianças pequenas ouvintes e com déficits auditivos, pois captura mudanças no desenvolvimento inicial de maneira concreta e que os pais conseguem observar na vida cotidiana. Configura-se, então, como um bom instrumento de triagem, fornecendo dados importantes sobre o desenvolvimento auditivo em diferentes estágios (WANG et al., 2013; NEGRO; GARCÍA; QUEVERO, 2016; EZZELDIN et al., 2018; ANNA et al., 2019).

Uma vez que as evidências apontam para danos importantes em regiões córtico-subcortical em crianças com exposição intrauterina à infecção pelo Zika vírus, com e sem microcefalia, é recomendável que sejam realizadas avaliações completas, utilizando diferentes ferramentas de diagnóstico, que possam caracterizar de maneira mais precisa o funcionamento e o desenvolvimento auditivo nesta população. Assim, poderão ser obtidas maiores informações sobre o perfil auditivo e sobre as possíveis alterações que venham a acarretar dificuldades no desenvolvimento do sistema auditivo e na comunicação destes indivíduos.

### 3 MÉTODOS

#### 3.1 DELINEAMENTO DO ESTUDO

Série de estudo de casos do tipo analítico, transversal e observacional.

#### 3.2 LOCAL DO ESTUDO

O presente estudo foi realizado no Hospital Agamenon Magalhães (HAM), hospital estadual de referência em Pernambuco para saúde auditiva e assistência das crianças com microcefalia associada à infecção congênita pelo Zika vírus. Como instituição secundária, o Hospital das Clínicas da Universidade Federal Pernambuco (HC–UFPE), hospital de referência para avaliação das crianças com provável infecção congênita pelo Zika vírus sem microcefalia. Ambos prestam assistência a pacientes do Sistema Único de Saúde (SUS) e estão localizadas na Região Metropolitana do Recife, Estado de Pernambuco.

#### 3.3 POPULAÇÃO DO ESTUDO

O estudo foi realizado com 30 crianças, nascidas entre 2015 e 2016 (período após o início da epidemia de Zika vírus no estado de Pernambuco), de ambos os sexos, com idade entre 33 e 55 meses (média de 45 meses), sem evidências de perdas auditivas, organizadas em três grupos:

- Grupo 1, composto de 10 crianças com exposição pré-natal confirmada à infecção pelo Zika vírus e microcefalia congênita;
- Grupo 2, composto de 10 crianças com exposição pré-natal confirmada ou presumida à infecção pelo Zika vírus e sem microcefalia;
- Grupo 3, composto de 10 crianças sem evidências de exposição pré-natal à infecção pelo Zika vírus, da mesma faixa etária e desenvolvimento típico.

Para os fins desta investigação, adotamos o termo “Infecção Congênita pelo Zika vírus” para as crianças com exposição pré-natal à infecção pelo Zika vírus com confirmação laboratorial ou presumida (Grupo 1 e Grupo 2).

As crianças participantes deste estudo foram recrutadas por conveniência entre janeiro de 2019 e fevereiro de 2020. Os grupos com infecção congênita pelo Zika vírus, com e sem microcefalia (Grupo 1 e Grupo 2), foram recrutados após avaliação em uma pesquisa maior

intitulada “Avaliação Audiológica de Crianças com Suspeita de Infecção Congênita por Zika vírus” da pesquisadora Mariana de Carvalho Leal e colaboradores, realizada no Hospital Agamenon Magalhães.

Os participantes do grupo sem evidências de exposição pré-natal à infecção pelo Zika vírus (Grupo 3) foram recrutados após divulgação da pesquisa na cidade do Recife. As crianças que preencheram os critérios de elegibilidade foram selecionadas e agendadas para a realização da entrevista, triagem auditiva e procedimentos da pesquisa.

### 3.4 CRITÉRIOS DE INCLUSÃO

- Grupo 1 (com microcefalia): Crianças com diagnóstico laboratorial confirmado ou provável de exposição pré-natal à infecção pelo Zika vírus (exame molecular/sorológico positivo da criança através de RT-PCR ou IgM por ELISA); presença de microcefalia congênita – PC  $<-2$ , desvios-padrão para idade e sexo de acordo com curvas de referência *InterGrowth*, recomendadas pela OMS (2016), normalidade na Triagem Auditiva Neonatal (realizada por meio do uso do exame do PEATE-clique), na intensidade de 35 dB NAn no último ano e sem evidências de perda auditiva.

- Grupo 2 (sem microcefalia): Crianças com diagnóstico laboratorial confirmado, provável ou presumido de exposição pré-natal à infecção pelo Zika vírus (histórica epidemiológica, alterações clínicas compatíveis com a infecção ou exame molecular/sorológico positivo da mãe e/ou da criança através de RT-PCR ou IgM por ELISA), normocefálicas - PC dentro da normalidade para idade e sexo de acordo com curvas de referência *InterGrowth*, recomendadas pela OMS (2016), normalidade na Triagem Auditiva Neonatal (realizada por meio do uso do exame do PEATE-clique), na intensidade de 35 dB NAn no último ano e sem evidências de perda auditiva.

- Grupo 3 (sem exposição): Crianças nascidas entre 2015 e 2017, com o desenvolvimento típico, sem evidências de exposição pré-natal à infecção pelo Zika vírus ou outras infecções pré-natais, sem comprometimento neurológico, sintomas otológicos ou queixas audiológicas que incluíssem dificuldade de ouvir/compreender fala ou evidência de perda auditiva e queixas/sinais de alteração na linguagem e histórico de normalidade na Triagem Auditiva Neonatal (por meio do uso das EOA e/ou do PEATE) e integridade auditiva com PEATE-clique.

### 3.5 CRITÉRIOS DE EXCLUSÃO PARA TODOS OS GRUPOS

Foram excluídas crianças com histórico de infecção congênita por outras patologias virais, síndromes e transtornos do desenvolvimento de outra natureza, histórico de exposição a fatores de risco para alterações auditivas segundo o *Joint Committee on Infant Hearing* (2019) e as que apresentaram evidências de perda auditiva.

### 3.6 VARIÁVEIS ESTUDADAS

**3.6.1 Variáveis Independentes:** Infecção congênita pelo Zika vírus, Microcefalia.

**3.6.2 Variáveis Dependentes:** Latência (ms), amplitude ( $\mu\text{V}$ ), *slope* (inclinação da onda -  $\mu\text{V/ms}$ ), área (área entre o pico e o vale da onda -  $\mu\text{Vxms}$ ) e *scores* do questionário auditivo.

### 3.7 SELEÇÃO DA AMOSTRA

Todos os responsáveis pelos participantes assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) (APÊNDICE A), estando cientes sobre os objetivos do estudo, procedimentos realizados, riscos e benefícios, sigilo da identidade, uso dos dados para fins de pesquisa e sobre a possibilidade de desistência a qualquer momento e sem quaisquer prejuízos. Ressalta-se que por fazer parte de um projeto maior, o TCLE foi previamente assinado pelos responsáveis dos participantes dos grupos com infecção congênita pelo Zika vírus, com e sem microcefalia (Grupo 1 e Grupo 2, respectivamente).

#### 3.7.1 Consulta ao banco de dados

Inicialmente foi consultado o banco de dados da pesquisa maior com intuito de resgatar informações dos participantes dos grupos com infecção congênita pelo Zika vírus, com e sem microcefalia (Grupo 1 e Grupo 2, respectivamente), referentes ao diagnóstico da infecção, severidade da microcefalia, resultado da triagem auditiva neonatal e resultados da monitoria audiológica no último ano (PEATE-clique à 35 dB NAn).

#### 3.7.2 Anamnese

No dia da avaliação, os responsáveis pelos participantes responderam à perguntas contidas em um formulário de entrevista (APÊNDICE B), elaborado e aplicado pelos

pesquisadores. Foram coletadas informações sobre o histórico de saúde e desenvolvimento pregresso da criança, incluindo audição e linguagem, a fim de garantir que os participantes atendiam os critérios de elegibilidade do estudo e caracterizar a amostra.

### 3.7.3 Triagem auditiva

Os participantes realizaram triagem audiológica através dos seguintes procedimentos:

- I. Otoscopia, com objetivo de descartar possíveis alterações de orelha externa e média. O otoscópio utilizado para o procedimento foi da marca *Welch Allyn*;
- II. Imitânciometria, com equipamento da marca *Interacoustics*, modelo AT 235, com objetivo de avaliar a integridade de função da orelha média. O padrão de normalidade foi considerado de acordo com a classificação de Jerger e Mauldin (1972), com curva tipo A (pico de admitância 0,3 a 1,6 ml e pico de pressão -100 a +100 daPa) e presença do reflexo estapediano.

## 3.8 COLETA DE DADOS

### 3.8.1 Aplicação do *LittleEars*® Questionário Auditivo (ANEXO A)

O LEAQ foi aplicado aos responsáveis dos participantes através do método entrevista. O objetivo foi obter informações sobre o desenvolvimento auditivo e das habilidades auditivas por meio da observação dos pais/responsáveis do comportamento auditivo de crianças pequenas frente à estímulos acústicos presentes no dia-a-dia. As 35 perguntas do questionário foram lidas pelos pesquisadores, dando aos responsáveis as opções de resposta oral “sim” ou “não”, indicando respectivamente a presença ou ausência de um dado comportamento avaliado (Figura 1). No caso do responsável não compreender a pergunta, o avaliador fornecia exemplos de situações conforme sugestões do próprio questionário.

Figura 1 - Formato do *LittleEars*® e exemplos sugeridos pelo questionário para compreensão das perguntas (LEANDRO et al., 2016).

|   | Pergunta sobre resposta auditiva                                                              | Respostas | Exemplo                                                            |
|---|-----------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|--------------------------------------------------------------------|
| 1 | Seu filho responde para uma voz de alguém conhecido?                                          | Sim Não   | Sorri; olha para quem falou; fala entusiasmado.                    |
| 2 | Seu filho escuta quando alguém está falando?                                                  | Sim Não   | Escuta, espera e escuta: olha para quem fala por um período longo. |
| 3 | Quando alguém está falando, seu filho procura o som virando a cabeça na direção de quem fala? | Sim Não   |                                                                    |

O *score* final do questionário foi contabilizado considerando todas as respostas “sim” dadas pelos respondentes. A pontuação final individual e as dos *scores* finais dos grupos foram comparadas com os valores de referência para crianças normo-ouvintes (Figura 2) de acordo com o estudo de Coninx et al. (2009), que considera para crianças maiores de 24 meses o *score*  $\geq 33$  (valor mínimo de 25, segundo o intervalo de confiança), ou seja, presença de pelo menos 33 dos 35 comportamentos listados no questionário.

Figura 2. Valores esperados e valores mínimos padronizados (intervalo de confiança inferior a 95%) do comportamento auditivo para o questionário *LittleEars*® (CONINX et al., 2009).

| Age (months)               | Expected value | Minimum value (lower limit of 95% confidence interval) | Age (months) | Expected value | Minimum value (lower limit of 95% confidence interval) |
|----------------------------|----------------|--------------------------------------------------------|--------------|----------------|--------------------------------------------------------|
| German and Austrian sample |                |                                                        |              |                |                                                        |
| 0 to <1                    | 3              | 0                                                      | 12 to <13    | 24             | 17                                                     |
| 1 to <2                    | 5              | 0                                                      | 13 to <14    | 25             | 19                                                     |
| 2 to <3                    | 7              | 1                                                      | 14 to <15    | 26             | 20                                                     |
| 3 to <4                    | 9              | 3                                                      | 15 to <16    | 27             | 21                                                     |
| 4 to <5                    | 11             | 5                                                      | 16 to <17    | 28             | 22                                                     |
| 5 to <6                    | 13             | 7                                                      | 17 to <18    | 29             | 23                                                     |
| 6 to <7                    | 15             | 8                                                      | 18 to <19    | 30             | 24                                                     |
| 7 to <8                    | 17             | 10                                                     | 19 to <20    | 31             | 24                                                     |
| 8 to <9                    | 18             | 12                                                     | 20 to <21    | 32             | 25                                                     |
| 9 to <10                   | 20             | 13                                                     | 21 to <22    | 32             | 26                                                     |
| 10 to <11                  | 21             | 15                                                     | 22 to <23    | 33             | 26                                                     |
| 11 to <12                  | 23             | 16                                                     | 23 to <24    | 33             | 27                                                     |
| Overall sample             |                |                                                        |              |                |                                                        |
| 0 to <1                    | 5              | 0                                                      | 12 to <13    | 25             | 17                                                     |
| 1 to <2                    | 7              | 0                                                      | 13 to <14    | 26             | 18                                                     |
| 2 to <3                    | 9              | 1                                                      | 14 to <15    | 27             | 19                                                     |
| 3 to <4                    | 11             | 3                                                      | 15 to <16    | 28             | 20                                                     |
| 4 to <5                    | 12             | 4                                                      | 16 to <17    | 29             | 21                                                     |
| 5 to <6                    | 14             | 6                                                      | 17 to <18    | 30             | 22                                                     |
| 6 to <7                    | 16             | 8                                                      | 18 to <19    | 31             | 23                                                     |
| 7 to <8                    | 18             | 10                                                     | 19 to <20    | 31             | 23                                                     |
| 8 to <9                    | 19             | 11                                                     | 20 to <21    | 32             | 24                                                     |
| 9 to <10                   | 21             | 13                                                     | 21 to <22    | 32             | 25                                                     |
| 10 to <11                  | 22             | 14                                                     | 22 to <23    | 33             | 25                                                     |
| 11 to <12                  | 23             | 15                                                     | 23 to <24    | 33             | 25                                                     |

Conforme descrito no estudo de Liu e colaboradores (2015), as questões do LEAQ podem ser divididas em três categorias de comportamento auditivo: Comportamento Auditivo Receptivo (questões 0-7), Comportamento Auditivo Semântico (questões 8-20, 22-24, 27, 30, 33 e 34) e Linguagem Expressiva (questões 21, 25, 26, 28, 29, 31, 32, 35). Nesse contexto, foi contabilizado um *score* individual para cada uma delas, considerando todas as

respostas “sim” nos conjuntos de questões descritos, a fim de verificar o desempenho da criança em cada área.

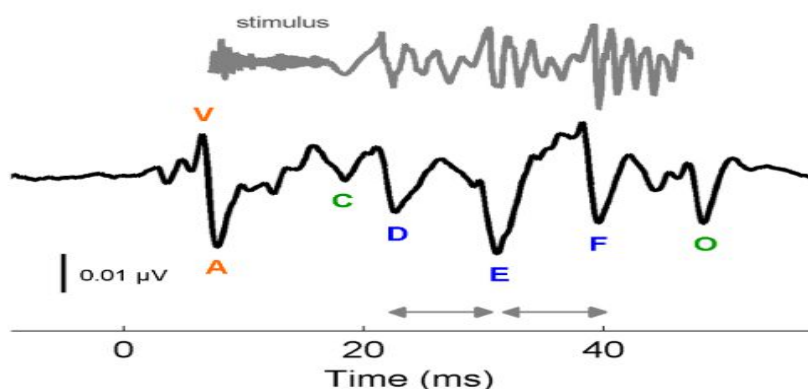
### 3.8.2 Avaliação com o exame do FFR

Para realização do exame do FFR, foi utilizado o equipamento *Intelligent Hearing Systems – IHS*, modelo *Opti-Amp 8008*, calibrado de acordo com a *American National Standards Institute - ANSI*. Foi realizada limpeza da pele com pasta abrasiva da marca *Nuprep*, seguido da colocação dos eletrodos do tipo fixo na seguinte configuração: dois eletrodos de polaridade negativa colocado na posição A1 e A2; um eletrodo de polaridade positiva colocado na posição Fz e o eletrodo terra posicionado na posição Fp2. Os participantes foram acomodados confortavelmente em poltrona reclinada, em alerta. As crianças com microcefalia (Grupo 1) que não possuíam estabilidade postural foram posicionadas no colo do responsável. A todas as crianças foi dada a opção de assistir a vídeos, sem som, em um *tablet* ou *smartphone* colocado à sua frente. Quando eram observadas interferência e grande número de rejeição, as crianças eram reposicionadas até encontrar a melhor qualidade do registro e menor rejeição. O estímulo foi enviado via fone de inserção (ER-3), monoauralmente, considerando apenas a orelha direita, devido à sua vantagem bem estabelecida para a fala (SKOE e KRAUS, 2010). Os parâmetros utilizados para aquisição do exame do FFR foram: impedância abaixo 1 kohms, dois traçados replicados com 2000 *sweeps* e somados (totalizando 4000 *sweeps*), janela de gravação ajustada a 70 ms, filtros passa-banda entre 50 e 3000 Hz e taxa de apresentação de 3,77 estímulos por segundo.

## 3.9 ANÁLISES DOS TRAÇADOS

O traçado final do exame do FFR foi analisado por dois pesquisadores experientes na área. Nos casos de discordância, a análise foi feita por um terceiro avaliador. Foi identificada a presença do pico positivo da onda V e dos demais picos negativos das ondas A, C, D, E, F e O. Para a análise, foram consideradas as medidas de latência (ms) e amplitude ( $\mu V$ ) de todas as ondas. Foram realizados os cálculo do *slope* ( $\mu V/ms$ ) e área ( $\mu V \times ms$ ) do complexo V/A, que correspondem à inclinação da onda e área entre o pico e o vale da onda, respectivamente.

Figura 3 - Exemplo de traçado do exame do *Frequency Following Response* (SKOE E KRAUS, 2010)



### 3.10 ANÁLISE DOS DADOS

Foi realizada análise estatística descritiva para todas as variáveis, incluindo os valores de média, desvio padrão, intervalo de confiança inferior e intervalo de confiança superior. Todas as análises foram realizadas pelo software *Statistical Package for the Social Sciences (SPSS)* versão 20.0 e o nível de significância adotado foi de 5%.

A normalidade das amostras foi verificada através do teste de *Shapiro-Wilk*. Para verificar a presença de diferenças significativas entre os grupos para as medidas do exame do FFR e os *scores* do LEAQ foram utilizados o teste paramétrico *ANOVA one-way* e o teste não paramétrico de *Kruskal-Wallis*, de acordo com a normalidade de cada variável. Em seguida, foi utilizada a estatística de *Levene* para testar a homogeneidade das variâncias e teste *post hoc Bonferroni* (nas variáveis com amostra normal) e o teste *post hoc ANOVA one-way* (para variáveis com amostra não normal).

O teste de Correlação *Person*, aplicado para as variáveis com amostra normal, foi utilizado para verificar a existência de uma relação “linear” entre as variáveis do exame do FFR e os *scores* do LEAQ e entre as variáveis das duas avaliações e a severidade da microcefalia (Grupo 1). Nos casos em que a associação das variáveis apresentou uma relação não linear, foi utilizado o teste de Correlação de *Spearman* para detectar o grau de associação entre elas.

### 3.11 CONSIDERAÇÕES ÉTICAS

O Protocolo desta pesquisa foi baseado na Resolução Nº 466/2012 do Conselho Nacional de Saúde do Ministério da Saúde – CNS para estudos com seres humanos e faz parte de um projeto intitulado “Avaliação Audiológica de Crianças com Suspeita de Infecção Congênita pelo Zika Vírus” sob coordenação da pesquisadora Mariana de Carvalho Leal, submetido ao Comitê de Ética do Hospital Agamenon Magalhães e aprovado conforme parecer nº 3.072.730 (ANEXO D).

Os responsáveis dos participantes foram esclarecidos acerca dos objetivos da pesquisa, seus riscos e benefícios. Feito isso, foi solicitado o consentimento do responsável através da assinatura do TCLE (APÊNDICE A). Os dados coletados foram armazenados no computador do laboratório, com *back-up*, de uso exclusivo dos pesquisadores, garantindo o sigilo das informações que, porventura, venham a identificar o participante da pesquisa. Além disso, os dados de anamnese, exames audiológicos e questionário do desempenho auditivo ficarão armazenados em pastas de arquivo, sob a responsabilidade dos pesquisadores pelo período mínimo de cinco anos.

### 3.12 RISCOS E BENEFÍCIOS

Quanto aos riscos, existe a possibilidade de constrangimento do cuidador ao responder alguma pergunta. Para minimizar este aspecto, as entrevistas foram realizadas em sala reservada, apenas com o responsável, a criança e o examinador, podendo o mesmo optar por não responder questões que lhe causem constrangimento. Além disso, existe o risco quanto à limpeza da pele para a colocação dos eletrodos e uso da pasta abrasiva, podendo ocorrer algum desconforto na região (devido fricção da sob a pele) ou alergia. Para minimizar este desconforto, a limpeza da pele foi realizada com movimentos suaves e foi utilizada uma pasta abrasiva hipoalergênica. Da mesma forma, a remoção dos eletrodos foi realizada cuidadosamente com o auxílio de algodão embebido umedecido.

Como benefícios houve a possibilidade de conhecer melhor as características audiológicas relacionadas à infecção congênita pelo Zika vírus. A avaliação e o seguimento foram considerados benéficos ao voluntário, o que já está previsto pela assistência. Quando constatada alguma alteração audiológica durante os procedimentos, a família foi encaminhada para o setor otorrinolaringológico do Hospital Agamenon Magalhães ou do Hospital das Clínicas da UFPE.

## 4 RESULTADOS

Os resultados obtidos neste estudo possibilitaram a elaboração de um artigo científico intitulado “*Frequency Following Response* e comportamento auditivo de crianças com infecção congênita pelo Zika vírus” que será submetido ao periódico *Journal Viruses* (ANEXO B).

### 4.1 ARTIGO: *FREQUENCY FOLLOWING RESPONSE* E COMPORTAMENTO AUDITIVO DE CRIANÇAS COM INFECÇÃO CONGÊNITA PELO ZIKA VÍRUS

#### INTRODUÇÃO

A exposição pré-natal ao Zika vírus pode comprometer múltiplos domínios do neurodesenvolvimento infantil. O vírus apresenta perfil fortemente neurotrópico, cujo alvo são células neuroprogenitoras e células neuronais em todas as etapas da maturação (1,2).

A Síndrome congênita associada à infecção pelo Zika vírus (SCZ) é caracterizada por alterações do desenvolvimento associados à exposição pré-natal à infecção pelo Zika vírus. Um amplo espectro de sinais e sintomas são associados a esta síndrome, sendo as anomalias estruturais do sistema nervoso central (SNC), como a microcefalia, e deficiências funcionais secundárias os achados mais frequentes (1,3–5).

Crianças expostas no período intrauterino à infecção pelo Zika vírus e normocefálicas ao nascimento também apresentam riscos de alterações no neurodesenvolvimento. Os relatos evolutivos deste grupo mostram resultados alterados à longo prazo no desenvolvimento neurológico de diferentes domínios, incluindo a cognição e a linguagem/comunicação (6–9).

Alterações auditivas também são associadas à exposição pré-natal à infecção pelo Zika vírus (10). Em 2019, o *Joint Committe on Infant Hearing* inseriu a exposição pré-natal ao Zika vírus na lista de infecções pré-natais que apresentam risco de perda auditiva, orientando que bebês nascidos de mães com possível exposição ao Zika vírus durante a gravidez ou com achados consistentes de SCZ recebam a triagem auditiva neonatal o *follow-up* auditivo da mesma maneira realizada para outros indicadores de risco para deficiência auditiva (11).

Falhas no exame das Emissões Otoacústicas (EOA) e no exame do Potencial Evocado Auditivo de Tronco Encefálico com estímulo clique (PEATE-clique) e perdas auditivas sensorineurais são os achados audiológicos mais comuns nesta população (12). Esses resultados reforçam a hipótese de risco auditivo de provável origem periférica como em

outras infecções virais, no entanto, devido ao perfil neurotrópico do Zika vírus e às alterações do SNC decorrentes da infecção, danos nas vias auditivas centrais que possam impactar o desenvolvimento e processamento auditivo central não podem ser descartados (12–14).

Malformações corticais e transtornos no neurodesenvolvimento podem trazer prejuízos ao adequado curso da maturação das vias auditivas periféricas e centrais e no processamento das informações sonoras, que por sua vez, também podem ocasionar impactos na linguagem e comunicação. (15–17).

O uso de diferentes ferramentas para avaliação e monitoramento da função auditiva em crianças expostas ao Zika vírus se faz necessário, a fim de garantir o adequado diagnóstico e intervenções precoces (12,13).

O exame do PEATE com estímulo de fala, conhecido como exame do *Frequency Following Response* (FFR), pode ser utilizado para compreender como a via auditiva codifica sons verbais no nível do tronco encefálico, sítio anatômico onde a percepção dos sons da fala começa (18).

Este potencial fornece informações sobre o processamento dos elementos acústicos de uma sílaba falada e tem sido amplamente estudado, pois envolve a percepção auditiva para fala, além de ter potencial para ser um marcador biológico sensível à transtornos da comunicação (19).

Questionários e *checklists* auditivos também podem ser utilizados neste contexto, pois auxiliam no monitoramento e rastreio de alterações do desenvolvimento da função auditiva e, em especial, das habilidades auditivas em crianças pequenas (20,21).

O questionário auditivo *LittleEars*® (LEAQ) tem se mostrado uma ferramenta simples e confiável pois fornece informações sobre o desenvolvimento auditivo e das habilidades auditivas através da observação dos pais/responsáveis dos comportamento auditivo de crianças pequenas frente à estímulos acústicos presentes no dia-a-dia (22,23).

Diante das evidências de alterações no SNC e do risco de danos auditivos, diferentes ferramentas de avaliação e monitoramento auditivo, como o exame do FFR e o LEAQ, podem ser considerados para melhor compreender a função auditiva eletrofisiológica e comportamental destas crianças.

Deste modo, o objetivo deste estudo foi analisar os achados do exame FFR e do comportamento auditivo de crianças com infecção congênita pelo Zika vírus, com e sem microcefalia, e comparar com crianças da mesma faixa etária, sem evidências de exposição pré-natal à infecção e desenvolvimento típico.

## MÉTODOS

Estudo do tipo observacional e transversal, vinculado a um projeto de pesquisa maior intitulado “Avaliação Audiológica de Crianças com Suspeita de Infecção Congênita por Zika vírus” e aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa sob parecer nº 3.072.730. O estudo foi realizado em um hospital de referencia da rede pública do Estado de Pernambuco, entre julho de 2019 e fevereiro de 2020. Os responsáveis foram orientados sobre os objetivos e procedimentos e as entrevistas ocorreram após assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

Participaram 30 crianças, nascidas entre 2015 e 2016 (período pós início da epidemia de Zika vírus no estado de Pernambuco), de ambos os sexos e sem evidências de perda auditiva periférica. Destas, 20 foram recrutadas após serem avaliadas na pesquisa ampla e os demais foram recrutados após divulgação dessa pesquisa na cidade do Recife. As crianças foram distribuídas em três grupos de acordo com os critérios a seguir:

- Grupo 1 - 10 crianças com diagnóstico laboratorial confirmado ou provável de exposição pré-natal à infecção pelo Zika vírus (exame molecular/sorológico positivo da criança através de RT-PCR ou IgM por ELISA) e com microcefalia - perímetro cefálico (PC) < -2 desvios-padrão para idade e sexo, de acordo com curvas de referência *InterGrowth* recomendadas pela OMS (24), normalidade na Triagem Auditiva Neonatal (realizada através do exame do PEATE-clique), normalidade na monitoria auditiva com PEATE-clique na intensidade de 35dB NAn no último ano e sem evidências de perda auditiva.
- Grupo 2: 10 crianças com diagnóstico laboratorial confirmado, provável ou presumido de exposição pré-natal à infecção pelo Zika vírus (histórica epidemiológica, alterações clínicas compatíveis com a infecção ou exame molecular/sorológico positivo da mãe e/ou da criança através de RT-PCR ou IgM por ELISA) e normocefálicas, normalidade na Triagem Auditiva Neonatal (realizada através do exame do PEATE-clique), normalidade na monitoria auditiva com PEATE-clique na intensidade de 35 dB NAn no último ano e sem evidências de perda auditiva.
- Grupo 3: 10 crianças com desenvolvimento típico e que não possuíam evidências exposição pré-natal à infecção pelo Zika vírus ou outras infecções pré-natais, sem comprometimentos neurológicos, sem sintomas otológicos ou queixas audiológicas

que incluíssem dificuldade de ouvir/compreender fala ou evidência de perda auditiva, sem queixas/sinais de alteração na linguagem, histórico de normalidade na Triagem Auditiva Neonatal (por meio dos exames de EOA e/ou PEATE) e integridade auditiva com PEATE-clique.

### **Seleção da amostra**

Inicialmente, foi consultado o banco de dados da pesquisa maior com objetivo de resgatar informações das crianças com infecção congênita pelo Zika vírus (Grupo 1 e Grupo 2), referentes ao diagnóstico da infecção, severidade da microcefalia, resultado da Triagem Auditiva Neonatal e resultados do monitoramento audiológico no último ano.

No dia da avaliação, os responsáveis pelas crianças responderam a perguntas contidas em um formulário de entrevista elaborado e aplicado pelos pesquisadores. Foram coletadas informações sobre o histórico de saúde e desenvolvimento pregresso da criança, incluindo audição e linguagem, a fim de garantir que as crianças atendiam aos critérios de elegibilidade do estudo e caracterizar a amostra.

Em seguida, as crianças realizaram triagem audiológica com otoscopia seguida da realização da imitanciometria (equipamento da marca *Interacoustics*, modelo AT), para excluir alteração de orelha externa e média. O padrão de normalidade adotado foi curva tipo A (pico de admitância 0,3 a 1,6 ml e pico de pressão -100 a +100 daPa) e presença dos reflexos estapedianos.

De acordo com os dados obtidos na entrevista e na triagem auditiva, foram excluídas crianças com relatos de infecção congênita por outras patologias virais, outras síndromes congênitas e exposição à fatores de risco para alterações auditivas segundo o *Joint Committee on Infant Hearing* (2019) e as que apresentaram sinais de alteração nas vias auditivas periféricas.

### **Coleta de dados**

Todos os pais/responsáveis das crianças incluídas no estudo responderam ao questionário LEAQ, aplicado através do método entrevista. As 35 perguntas foram lidas pelos pesquisadores dando aos responsáveis as opções de resposta oral “sim” ou “não”. No caso do responsável não compreender a pergunta, o avaliador fornecia exemplos de situações

conforme sugestões do próprio questionário. O *score* final individual foi contabilizado considerando todas as respostas “sim” dadas pelos respondentes.

De acordo com Liu e colaboradores (2015), as questões do LEAQ podem ser divididas em três categorias de comportamento auditivo: Comportamento Auditivo Receptivo (questões 0-7), Comportamento Auditivo Semântico (questões 8–20, 22–24, 27, 30, 33 e 34) e Linguagem Expressiva (questões 21, 25, 26, 28, 29, 31, 32, 35). Desta forma, foi contabilizado um *score* individual para cada uma delas, considerando todas as respostas “sim” nos conjuntos de questões descritos, a fim de verificar o desempenho da criança em cada área (25).

A pontuação final individual e as médias dos *scores* finais dos grupos foram comparadas com os valores de referência para crianças normo-ouvintes de acordo com o estudo de Coninx et al. (2009), que considera para crianças maiores de 24 meses o  $\text{score} \geq 33$  (valor mínimo de 25, segundo o intervalo de confiança), ou seja, presença de pelo menos 33 dos 35 comportamentos listados no questionário (22).

Em seguida, as crianças participantes do estudo foram avaliadas com o exame do FFR, realizado no equipamento *Intelligent Hearing Systems – IHS*, modelo Opti-Amp 8008. O estímulo utilizado foi a sílaba sintética /da/ de 40 ms, apresentada a 75 dB NA.

Foi realizada limpeza da pele, seguida da colocação dos eletrodos do tipo fixo na seguinte configuração: dois eletrodos de polaridade negativa colocado na posição A1 e A2; um eletrodo de polaridade positiva colocado na posição Fz e eletrodo terra na posição Fp2. As crianças foram acomodadas em poltrona reclinada, em alerta. As crianças com microcefalia que não possuíam estabilidade postural foram posicionadas no colo dos responsáveis. À todas as crianças foi dada a opção de assistir vídeos, sem som, em um dispositivo eletrônico (*tablet* ou *smartphone*).

O estímulo auditivo foi enviado via fone de inserção (ER-3), monoauralmente, apresentado apenas na orelha direita. Os parâmetros utilizados foram: impedância abaixo 1 kohms, dois traçados replicados com 2000 *sweeps* e somados (totalizando 4000 *sweeps*), janela de gravação de 70 ms, filtros passa-banda entre 50 e 3000 Hz e taxa de apresentação de 3,77 estímulos por segundo.

Foi identificada a presença do pico positivo da onda V e dos demais picos negativos das ondas A, C, D, E, F e O do exame. Para a análise foram consideradas as medidas de latência (ms) e amplitudes ( $\mu\text{V}$ ) de todas as ondas, além do cálculo do *slope* ( $\mu\text{V}/\text{ms}$ ) e área ( $\mu\text{V} \times \text{ms}$ ) do complexo V/A.

## Análise estatística

Todas as análises foram realizadas pelo software *Statistical Package for the Social Sciences* (SPSS) versão 20.0 e o nível de significância adotado foi de 5%.

A normalidade das amostras foi verificada com o teste de *Shapiro-Wilk*. Para verificar a presença de diferenças estatísticas entre os grupos para as medidas do exame do FFR e os *scores* do LEAQ, foram utilizados o teste paramétrico *ANOVA one-way* e o teste não paramétrico de *Kruskal-Wallis*, de acordo com a normalidade de cada variável. Em seguida, foi utilizada a estatística de *Levene* e o teste post hoc *Bonferroni* (nas variáveis com amostra normal), além do teste post hoc *ANOVA one-way* (para variáveis com amostra não normal).

O teste de Correlação de *Person*, aplicado para as variáveis com amostra normal, foi utilizado para verificar a existência de uma relação “linear” entre as variáveis do exame do FFR e os *scores* do LEAQ. Nos casos em que a associação das variáveis apresentou uma relação não linear, foi utilizado o teste de Correlação de *Spearman* para detectar o grau de associação entre elas.

## RESULTADOS

Dentre as 30 crianças avaliadas, 17 (56,7%) eram do gênero feminino e 13 (43,3%) do masculino, com idades variando entre 33 e 55 meses (média de 45 meses e desvio padrão de 6 meses). No grupo de crianças com microcefalia, 7 (70%) apresentaram microcefalia severa (PC inferior a 3 desvios-padrão para idade e sexo, de acordo com curvas de referência *InterGrowth* (24). Todas as crianças com microcefalia (100%) apresentam alterações no desenvolvimento da linguagem. No grupo de crianças expostas à infecção pelo Zika vírus normocefálicas, 8 (80%) apresentaram queixas/sinais de alterações na linguagem.

Na análise do exame do FFR, não foi observada diferença estatisticamente significativa entre os grupos na comparação das medidas de latências e amplitudes das ondas V, A, C, D, E, F, O e do *slope* e área do complexo VA (Tabelas 1, 2 e 3).

Tabela 1 - Comparação das medidas de latência do exame do FFR entre crianças com infecção congênita pelo Zika vírus, com e sem microcefalia, e crianças sem evidências de exposição à infecção.

| Ondas    | Grupos         | Média e DP (ms) | IC I  | IC S  | Valor de p         |
|----------|----------------|-----------------|-------|-------|--------------------|
| <b>V</b> | Microcefalia   | 7,03 ± 0,82     | 6,50  | 13,60 | 0,123 <sup>1</sup> |
|          | Normocefálicas | 7,20 ± 0,59     | 6,83  | 14,03 |                    |
|          | Sem exposição  | 6,67 ± 0,37     | 6,44  | 13,11 |                    |
| <b>A</b> | Microcefalia   | 9,46 ± 0,78     | 8,03  | 10,82 | 0,327 <sup>2</sup> |
|          | Normocefálicas | 8,96 ± 0,83     | 7,30  | 9,95  |                    |
|          | Sem exposição  | 9,01 ± 0,79     | 7,85  | 10,32 |                    |
| <b>C</b> | Microcefalia   | 17,76 ± 1,29    | 16,52 | 20,18 | 0,677 <sup>2</sup> |
|          | Normocefálicas | 17,57 ± 0,86    | 16,40 | 18,75 |                    |
|          | Sem exposição  | 17,26 ± 1,37    | 14,88 | 18,98 |                    |
| <b>D</b> | Microcefalia   | 24,36 ± 1,05    | 23,15 | 26,45 | 0,336 <sup>2</sup> |
|          | Normocefálicas | 23,86 ± 0,62    | 22,95 | 24,73 |                    |
|          | Sem exposição  | 24,36 ± 0,84    | 22,95 | 25,98 |                    |
| <b>E</b> | Microcefalia   | 32,82 ± 0,95    | 31,45 | 34,30 | 0,228 <sup>2</sup> |
|          | Normocefálicas | 32,07 ± 1,23    | 29,40 | 33,70 |                    |
|          | Sem exposição  | 32,77 ± 0,97    | 31,45 | 34,23 |                    |
| <b>F</b> | Microcefalia   | 41,17 ± 1,49    | 38,40 | 43,60 | 0,463 <sup>2</sup> |
|          | Normocefálicas | 40,69 ± 1,12    | 38,33 | 42,23 |                    |
|          | Sem exposição  | 41,36 ± 0,92    | 40,10 | 42,48 |                    |
| <b>O</b> | Microcefalia   | 49,48 ± 0,94    | 48,02 | 50,80 | 0,847 <sup>2</sup> |
|          | Normocefálicas | 49,53 ± 0,89    | 48,42 | 51,48 |                    |
|          | Sem exposição  | 49,32 ± 0,67    | 48,70 | 50,88 |                    |

DP=desvio padrão; IC I = intervalo de confiança inferior; IC S = intervalo de confiança superior; <sup>1</sup> Teste de *Kruskal Wallis*; <sup>2</sup> Teste *ANOVA one-way*.

Tabela 2 - Comparação das medidas de amplitude do exame do FFR entre crianças com infecção congênita pelo Zika vírus, com e sem microcefalia, e crianças sem evidências de exposição à infecção.

| Ondas    | Grupos         | Média e DP (µV) | IC I | IC S | Valor de p         |
|----------|----------------|-----------------|------|------|--------------------|
| <b>V</b> | Microcefalia   | 0,25 ± 0,34     | 0,04 | 0,46 | 0,553 <sup>1</sup> |
|          | Normocefálicas | 0,11 ± 0,08     | 0,06 | 0,16 |                    |
|          | Sem exposição  | 0,09 ± 0,06     | 0,05 | 0,13 |                    |
| <b>A</b> | Microcefalia   | 0,36 ± 0,33     | 0,16 | 0,56 | 0,400 <sup>1</sup> |
|          | Normocefálicas | 0,26 ± 0,18     | 0,15 | 0,37 |                    |
|          | Sem exposição  | 0,22 ± 0,22     | 0,08 | 0,36 |                    |
| <b>C</b> | Microcefalia   | 0,13 ± 0,08     | 0,08 | 0,18 | 0,281 <sup>1</sup> |
|          | Normocefálicas | 0,10 ± 0,04     | 0,08 | 0,12 |                    |
|          | Sem exposição  | 0,08 ± 0,04     | 0,06 | 0,10 |                    |

|          |                |             |      |      |                    |
|----------|----------------|-------------|------|------|--------------------|
| <b>D</b> | Microcefalia   | 0,34 ± 0,27 | 0,17 | 0,51 | 0,191 <sup>1</sup> |
|          | Normocefálicas | 0,24 ± 0,16 | 0,14 | 0,34 |                    |
|          | Sem exposição  | 0,15 ± 0,14 | 0,06 | 0,24 |                    |
| <b>E</b> | Microcefalia   | 0,30 ± 0,28 | 0,13 | 0,47 | 0,473 <sup>1</sup> |
|          | Normocefálicas | 0,19 ± 0,10 | 0,13 | 0,25 |                    |
|          | Sem exposição  | 0,16 ± 0,11 | 0,09 | 0,23 |                    |
| <b>F</b> | Microcefalia   | 0,19 ± 0,22 | 0,05 | 0,33 | 0,127 <sup>1</sup> |
|          | Normocefálicas | 0,21 ± 0,10 | 0,15 | 0,27 |                    |
|          | Sem exposição  | 0,11 ± 0,07 | 0,07 | 0,15 |                    |
| <b>O</b> | Microcefalia   | 0,22 ± 0,21 | 0,09 | 0,35 | 0,135 <sup>1</sup> |
|          | Normocefálicas | 0,12 ± 0,05 | 0,09 | 0,15 |                    |
|          | Sem exposição  | 0,09 ± 0,08 | 0,04 | 0,14 |                    |

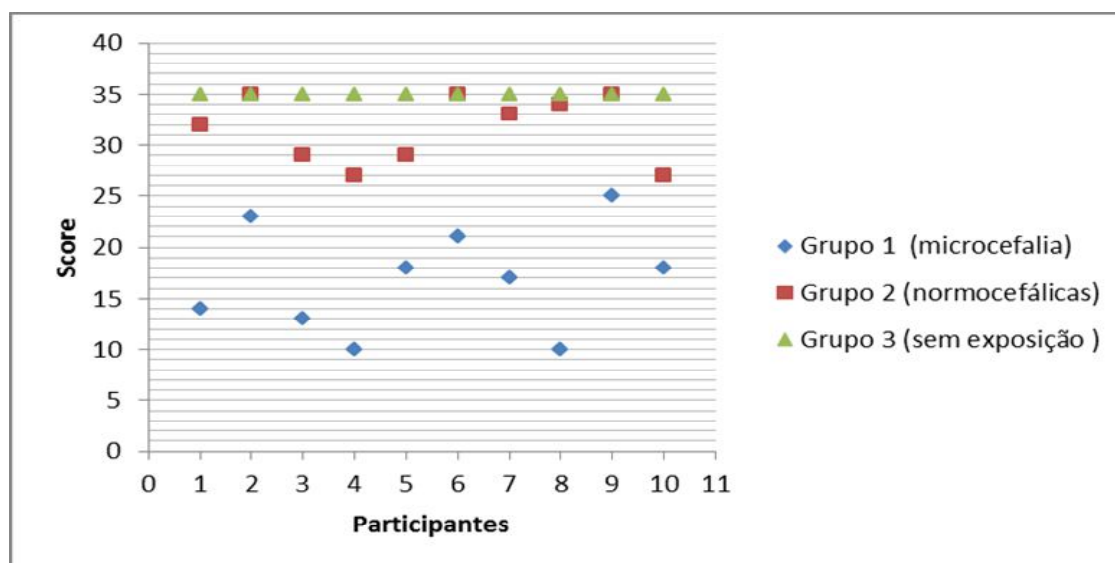
DP = desvio padrão; IC I = intervalo de confiança inferior; IC S = intervalo de confiança superior; <sup>1</sup> Teste de *Kruskal Wallis*.

Tabela 3 - Comparação das medidas de *slope* e área do exame do FFR entre crianças com infecção congênita pelo Zika vírus, com e sem microcefalia, e crianças sem evidências de exposição à infecção.

|                              | <b>Grupos</b>  | <b>Média e DP</b> | <b>IC I</b> | <b>IC S</b> | <b>Valor de p</b>  |
|------------------------------|----------------|-------------------|-------------|-------------|--------------------|
| <b><i>Slope</i> (µV/ms)</b>  | Microcefalia   | 0,27 ± 0,36       | 0,04        | 1,25        | 0,318 <sup>2</sup> |
|                              | Normocefálicas | 0,22 ± 0,11       | 0,06        | 0,40        |                    |
|                              | Sem exposição  | 0,12 ± 0,08       | 0,03        | 0,27        |                    |
| <b><i>Área</i> (µV x ms)</b> | Microcefalia   | 1,47 ± 1,47       | 0,56        | 2,38        | 0,263 <sup>1</sup> |
|                              | Normocefálicas | 0,71 ± 0,69       | 0,28        | 1,14        |                    |
|                              | Sem exposição  | 0,87 ± 1,05       | 0,22        | 1,52        |                    |

DP = desvio padrão; IC I = intervalo de confiança inferior; IC S = intervalo de confiança superior; <sup>1</sup> Teste de *Kruskal Wallis*; <sup>2</sup> Teste *ANOVA one-way*.

Quanto ao comportamento auditivo analisado através do LEAQ, nenhuma criança do grupo com microcefalia (100%) atingiu o *score* final mínimo recomendado pelo questionário para crianças normo-ouvintes. Apenas cinco das crianças expostas ao Zika vírus e normocefálicas (50%) alcançaram os valores esperados. Todas as crianças do grupo sem evidências de exposição à infecção e desenvolvimento típico (100%) atingiram a pontuação máxima do questionário (Gráfico 1).

Gráfico 1 - *Score* final individual do questionário *LittleEars*®.

A Tabela 4 ilustra as médias dos *score* finais e por categorias para cada grupo. Na comparação destas medidas entre os grupos foi observada diferença significativa para as médias de *score* final, *score* semântico e *score* expressivo das crianças com microcefalia em relação ao grupo de crianças com infecção congênita pelo Zika vírus normocefálicas e o grupo sem evidências de exposição à infecção e desenvolvimento típico (Tabela 5).

Tabela 4 - *Score* final, *score* receptivo e *score* semântico do questionário *LittleEars*®.

|                   | Microcefalia | Normocefálicas | Sem exposição |
|-------------------|--------------|----------------|---------------|
| <i>Scores</i>     | Média e DP   | Média e DP     | Média e DP    |
| <b>Final</b>      | 17 ± 5,17    | 32 ± 3,31      | 35±0          |
| <b>Receptivo</b>  | 6,30 ±1,05   | 6,70±0,48      | 7±0           |
| <b>Semântico</b>  | 9,90±3,51    | 17,20±2,04     | 19±0          |
| <b>Expressivo</b> | 0,50±0,85    | 6,80±1,39      | 8±0           |

DP = desvio padrão.

Tabela 5 - Comparação entre os grupos do *score* final, *score* receptivo, *score* semântico e *score* expressivo do questionário *LittleEars*®.

| <i>Scores</i>     | <i>Grupos</i>                  | <i>p valor</i>      |
|-------------------|--------------------------------|---------------------|
| <b>Final</b>      | Microcefalia x Normocefálicas  | 0,004 <sup>1*</sup> |
|                   | Microcefalia x Sem exposição   | 0,000 <sup>1*</sup> |
|                   | Normocefálicas x Sem exposição | 0,323 <sup>1</sup>  |
| <b>Receptivo</b>  | Microcefalia x Normocefálicas  |                     |
|                   | Microcefalia x Sem exposição   | 0,088 <sup>1</sup>  |
|                   | Normocefálicas x Sem exposição |                     |
| <b>Semântico</b>  | Microcefalia x Normocefálicas  | 0,003 <sup>1*</sup> |
|                   | Microcefalia x Sem exposição   | 0,000 <sup>1*</sup> |
|                   | Normocefálicas x Sem exposição | 0,473 <sup>1</sup>  |
| <b>Expressivo</b> | Microcefalia x Normocefálicas  | 0,002 <sup>1*</sup> |
|                   | Microcefalia x Sem exposição   | 0,000 <sup>1*</sup> |
|                   | Normocefálicas x Sem exposição | 0,514 <sup>1</sup>  |

<sup>1</sup> Teste de *Kruskal-Wallis*; \* =  $p < 0,05$ .

Por fim, na análise da correlação entre as medidas do exame do FFR e do LEAQ, foi observada no grupo de crianças com microcefalia uma associação negativa forte entre o *score* final do questionário e as medidas de latência das ondas A, D, F e O e amplitude dos picos C, E, F, O (Tabela 6). Não foram observadas correlações no grupo de crianças com infecção congênita pelo Zika vírus normocefálicas. No grupo de crianças sem evidências de exposição à infecção e desenvolvimento típico, não foi possível calcular os coeficientes de correlação por não existir variação nos valores do questionário para esse grupo.

Tabela 6 - Correlação entre as medidas do *score* final do questionário *LittleEars*® e as medidas de latência e amplitude do exame do FFR no grupo de crianças com microcefalia.

| <i>Score final</i> |                     |
|--------------------|---------------------|
| Coeficiente        |                     |
| Latência A (ms)    | -0,727 <sup>2</sup> |
| Latência D (ms)    | -0,747 <sup>1</sup> |
| Latência F (ms)    | -0,704 <sup>1</sup> |

|                         |                     |
|-------------------------|---------------------|
| <b>Latência O (ms)</b>  | -0,714 <sup>1</sup> |
| <b>Amplitude C (μV)</b> | -0,780 <sup>1</sup> |
| <b>Amplitude E (μV)</b> | -0,743 <sup>2</sup> |
| <b>Amplitude F (μV)</b> | -0,764 <sup>2</sup> |
| <b>Amplitude O (μV)</b> | -0,709 <sup>2</sup> |

<sup>1</sup> Teste de Correlação de *Pearson*; <sup>2</sup> Teste Correlação de *Spearman*.

Figura 1 - Distribuição dos valores do *score* final do questionário *LittleEars*® no grupo de crianças com microcefalia.

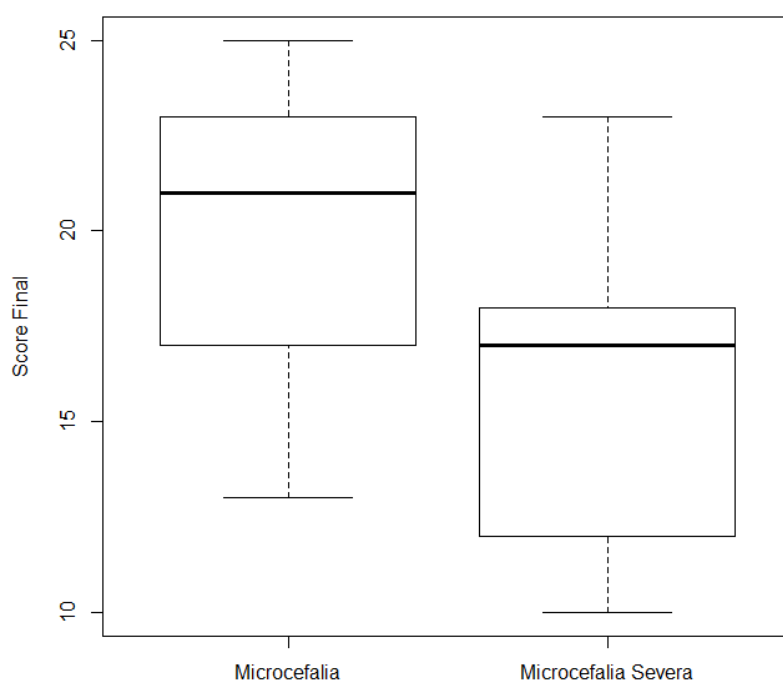
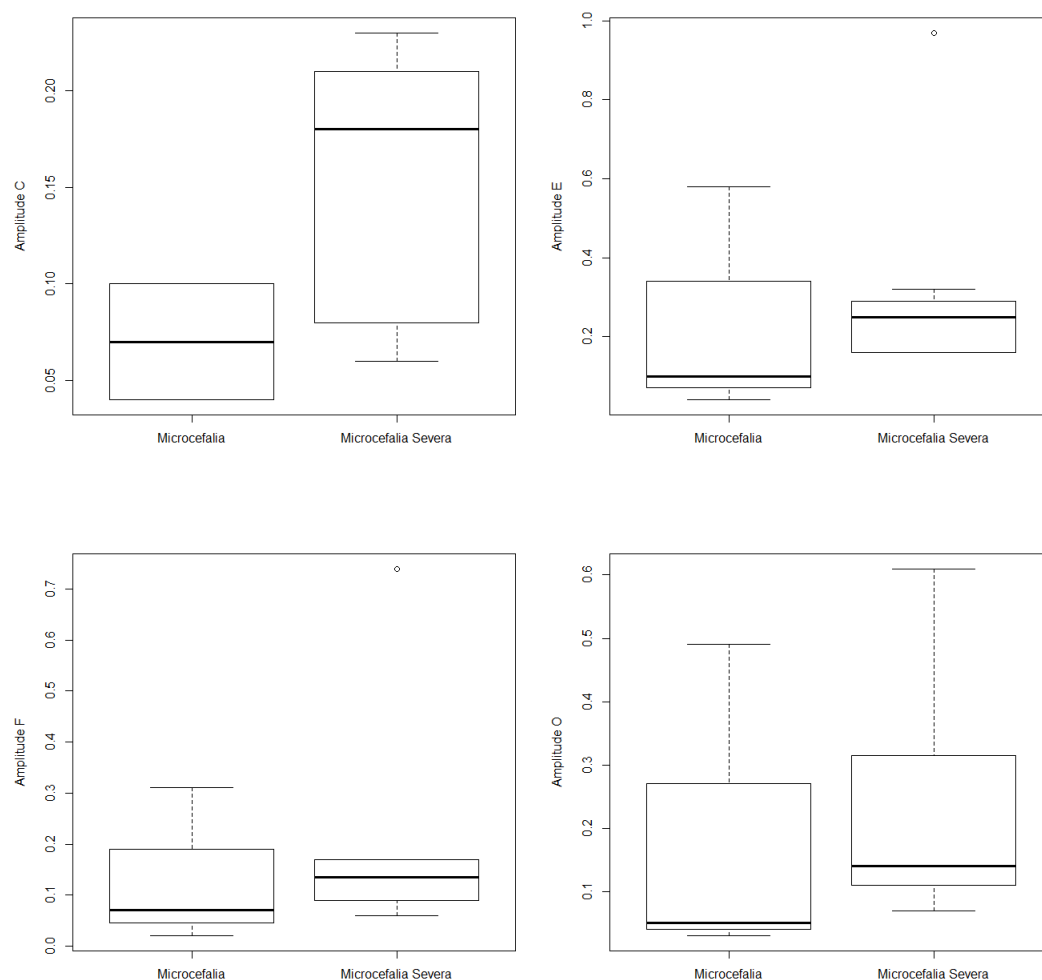


Figura 2 - Distribuição dos valores de amplitude das ondas C, E, F e O do exame do FFR no grupo de crianças com microcefalia.



## DISCUSSÃO

A proposta deste estudo foi analisar o exame FFR e o comportamento auditivo, através da observação parental, de crianças com infecção congênita pelo Zika vírus, com e sem microcefalia, e comparar com crianças da mesma faixa etária, sem evidências de exposição pré-natal à infecção e desenvolvimento típico.

As crianças avaliadas neste estudo com infecção congênita pelo Zika vírus, com e sem microcefalia, apresentaram padrões de latência, amplitude, *slope* e área do exame do FFR semelhante às crianças sem evidências de exposição à infecção e desenvolvimento típico.

Tais achados sugerem que a exposição pré-natal ao Zika vírus parece não interferir na velocidade (latência), sincronia (*slope*) e magnitude das respostas neurais (amplitude e área do complexo VA) de codificação de sons da fala nas vias auditivas do tronco encefálico, processo importante para a adequada percepção auditiva dos sons verbais (26).

Estes resultados diferem de outros apresentados em estudos que avaliaram crianças com infecção congênita por outro patógeno (toxoplasmose) e comprometimento do SNC de outra origem (concussões e epilepsia), no qual foram encontradas respostas neurais mais lentas e com menor amplitude (26–28).

Embora existam evidências de risco de danos auditivos associada à infecção pelo Zika vírus, os resultados encontrados ainda são insuficientes para compreender a patogênese da infecção no sistema auditivo e os impactos na função auditiva, especialmente na população pediátrica que apresenta sinais claros de alterações no SNC (12,13).

Para White-Schwoch e colaboradores (2019), as respostas do exame do FFR são geradas principalmente na região mesencefálica da via auditiva. Os autores sugerem que a codificação precisa e síncrona do estímulo de fala no mesencéfalo auditivo é necessária e suficiente para gerar uma resposta eletrofisiológica robusta e replicável do exame, ainda que o sujeito apresente alterações corticais (29).

Nessa perspectiva, os achados deste estudo são semelhantes aos encontrados por Abramov e colaboradores (2018), que avaliou crianças com microcefalia associada à infecção pré-natal ao Zika vírus através do PEATE-clique e observou normalidade nas funções neuronais de ponte e mesencéfalo, sugerindo integridade das estruturas auditivas neste nível da via (30).

Com base nestes resultados, é possível sugerir que a infecção congênita pelo Zika vírus parece não comprometer o funcionamento das estruturas auditivas do tronco encefálico responsáveis pelo processamento neural dos sons, especialmente das pistas temporais de estímulos complexos como sons da fala.

Entretanto, o presente estudo não investigou como estas crianças codificam os aspectos espectrais relacionados à frequência fundamental e aos harmônicos contidos no estímulo de fala, elementos que também são importantes para a percepção auditiva e alterados nos casos de comprometimento no SNC (27).

Além disso, alterações no processamento de sinais verbais nas estruturas corticais da via auditiva não foram investigadas neste estudo e não podem ser desconsideradas. O mesencéfalo e o córtex auditivo desempenham papéis distintos na percepção auditiva. Ainda

que a resolução temporal fina do tronco encefálico esteja intacta, sozinha é insuficiente para a adequada análise e compreensão da fala à nível cortical (29).

No que se refere ao relato do comportamento auditivo, as crianças com infecção congênita pelo Zika vírus, com e sem microcefalia, parecem apresentar comportamentos imaturos, de acordo com a observação parental, quando comparadas com os padrões de referência para crianças normo-ouvintes e o grupo sem evidências de exposição à infecção.

As crianças com microcefalia apresentaram *score* final significativamente diferente quando comparadas às crianças expostas ao Zika vírus normocefálicas e as crianças sem evidências de exposição à infecção. Além disso, obtiveram desempenho muito abaixo do esperado em relação aos valores de referência para crianças normo-ouvintes do questionário, com *scores* compatíveis com o esperado para crianças entre seis a oito meses de idade (22).

Ainda que o atraso neuropsicomotor causado pela microcefalia possa influenciar nas respostas auditivas comportamentais (31), comprometimentos no adequado funcionamento fisiológico das vias auditivas corticais devem ser considerados diante das alterações no crescimento cerebral destas crianças. Tal condição pode impactar no adequado desenvolvimento do sistema auditivo central, e, conseqüentemente, na aquisição das habilidades auditivas.

Leal e colaboradores (2019) descrevem que não é incomum observar nas crianças com infecção congênita pelo Zika vírus normalidade nos testes auditivos objetivos que analisam as porções mais baixas das vias auditivas, como o exame do PEATE, e alterações nas habilidades auditivas em respostas comportamentais, o que sugere danos no sistema auditivo central (13).

A análise do *score* por categorias de perguntas reforça esta suposição, ao observar que as crianças com microcefalia apresentam média de *score* receptivo semelhante às crianças normocefálicas e as sem evidências de exposição à infecção e resultados significativamente inferiores a esses grupos para os *scores* semântico e expressivo.

O *score* receptivo está relacionado às perguntas do questionário que envolvem comportamentos de detecção e localização auditiva, habilidades atencionais dependentes da adequada codificação temporal dos sons (processos *bottom-up*) (32). Os *scores* semântico e expressivo estão associados às questões que envolvem a interpretação e compreensão do evento sonoro e as respostas de competência linguísticas, habilidades especializadas do SNC intimamente relacionadas às funções corticais supra modais à audição, como a cognição e a linguagem (processos *top-down*) (33).

É possível que as habilidades auditivas associadas a processos *bottom-up* possam estar preservadas no grupo de crianças com microcefalia, corroborando com os achados eletrofisiológicos deste estudo. Entretanto, devido ao comprometimento cortical, o desempenho de habilidades auditivas dependentes predominantemente de processos *top-down* podem estar prejudicados, interferindo diretamente no processamento auditivo central (PAC).

As crianças expostas ao Zika vírus normocefálicas não apresentaram diferenças significativas de *score* final e por categorias na comparação com o grupo de crianças sem evidências de exposição à infecção e desenvolvimento típico. Contudo, foi observado um desempenho inferior ao esperado quando comparadas com os valores de referência para crianças normo-ouvintes do questionário, com média de *score* final compatível com os resultados esperados para crianças de 22-23 meses (22).

Crianças com exposição pré-natal ao Zika vírus normocefálicas têm apresentado resultados abaixo do esperado no neurodesenvolvimento de diferentes domínios, incluindo cognição e linguagem/comunicação (6–9). Neste estudo, oito das 10 crianças que compuseram este grupo apresentaram queixa de atraso na aquisição da linguagem e/ou fala ininteligível e desempenho abaixo do esperado nas perguntas do questionário relacionadas a comportamentos de interpretação/compreensão dos eventos sonoros e de competência linguística.

Estas habilidades são associadas a funções de ordem superior e dependem da adequada maturação do SNC e da integração com outros sistemas como cognição e linguagem (33). Logo, os resultados do questionário corroboram com as evidências de alterações no desenvolvimento da cognição e linguagem para essas crianças. Alterações no PAC também devem ser consideradas, devido ao risco de prejuízo no desempenho de habilidades auditivas associadas a processos *top-down*.

Ressalta-se que as respostas obtidas pelo questionário refletem a percepção parental dos comportamentos auditivos destas crianças frente à estímulos comuns no dia a dia. O uso destes instrumentos não substitui a necessidade de avaliações com testes padronizados clássicos, mas podem ser um primeiro passo para a identificação precoce de alterações no desenvolvimento auditivo e na aquisição de habilidades auditivas, principalmente em crianças pequenas (34).

A associação entre os resultados dos instrumentos utilizados para avaliação auditiva mostrou que no grupo de crianças com microcefalia associada à infecção pelo Zika houve uma correlação negativa forte entre o *score* final do questionário e as medidas de latência das ondas A, D, F, O e de amplitude das ondas C, E, F e O do exame do FFR. Tal associação

sugere que neste grupo à medida que os valores de latência e amplitude do exame do FFR crescem o valor do *score* final do questionário decresce.

Neste grupo as crianças com microcefalia severa apresentaram os menores valores para o *score* final do questionário (Figura 1). Isso pode estar relacionado ao fato da microcefalia severa ser a forma mais grave desta condição, levando a maiores atrasos no desenvolvimento global (35). Quanto ao aumento da latência no exame do FFR, deve-se considerar a possibilidade de a severidade da microcefalia interferir na velocidade de condução neural de sons no tronco encefálico.

Apesar de não terem sido observadas anormalidade na velocidade de condução neural relacionadas ao perímetro cefálico neste estudo, semelhante ao descrito por Abramov e colaboradores (2018), ambos apresentam limitação quanto ao tamanho da amostra (30).

As latências do exame do FFR são medidas estáveis associadas à velocidade da condução de um estímulo acústico nas vias auditivas e esta diretamente relacionada à mielinização das fibras axonais (36,37). O atraso na mielinização das fibras neurais é um achado comum na microcefalia associada ao Zika vírus (3). Ainda que os resultados apresentados indiquem um adequado tempo de neurocondução sonora nestas crianças, futuros estudos com amostras maiores são necessários para melhor estabelecer se a severidade da microcefalia pode interferir neste processo.

Na mesma perspectiva, ainda que não tenha sido observada diferença entre os grupos, observa-se que as crianças com microcefalia severa apresentaram maiores valores de amplitude (Figura 2), o que difere da tendência observada na correlação. As amplitudes do exame do FFR refletem a magnitude de ativação neural, mecanismo que contribui para a geração das ondas do exame (19) e são medidas mais sensíveis à variabilidade (37).

Existe a possibilidade do menor PC influenciar as respostas de amplitude nas crianças com microcefalia severa devido ao efeito volume condução, que ocorre quando há uma curta distância entre a captação do sinal elétrico e seu sítio gerador na via auditiva, o que pode amplificar a amplitude do potencial (38).

Entretanto, para tal suposição, novos estudos que utilizem análises mais específicas da magnitude de resposta, como o cálculo do *Root-Mean-Squared*, e amostras mais amplas podem esclarecer se as medidas de amplitude nas crianças com microcefalia severa refletem de fato a adequada robustez na ativação neural para o processamento do estímulo ou se sofrem interferência do PC pelo efeito volume condução.

Este estudo analisou sob diferentes perspectivas a função auditiva de crianças expostas ao Zika vírus no período intrauterino, com e sem microcefalia. Do ponto de vista

eletrofisiológico, a infecção congênita pelo Zika vírus parece não interferir na codificação neural dos aspectos temporais de sons da fala no tronco encefálico.

Em contrapartida, a análise do comportamento auditivo através da observação parental mostrou que estas crianças apresentam sinais de imaturidade no comportamento auditivo, o que sugere atraso no desenvolvimento auditivo e na aquisição de habilidades auditivas e linguísticas.

Futuros estudos com amostra maiores, em diferentes momentos do desenvolvimento e com diferentes ferramentas de análise e avaliação ainda são necessários para melhor estabelecer a associação entre a exposição pré-natal ao Zika vírus com os desfechos deste estudo.

## CONCLUSÃO

As crianças com infecção congênita pelo Zika vírus, com e sem microcefalia, avaliadas neste estudo, apresentaram médias de latência, amplitude, *slope* e área do exame do FFR semelhantes às crianças sem evidências de exposição à infecção e desenvolvimento típico, sugerindo padrões similares de codificação neural dos aspectos temporais de sons da fala no tronco encefálico.

A análise do comportamento auditivo por meio do LEAQ mostrou que estas crianças apresentam sinais de comportamento auditivo imaturo quando comparadas com os padrões de referências para crianças normo-ouvintes, especialmente o grupo com microcefalia, que apresentou médias de *score* final e por área diferentes do grupo sem evidências de exposição à infecção. Estes resultados sugerem que a infecção congênita pelo Zika vírus pode interferir no desenvolvimento auditivo e na aquisição de habilidades auditivas e linguísticas.

Foi observada no grupo de crianças com microcefalia uma associação entre o desempenho final do questionário e as medidas do exame do FFR, indicando que à medida que o desempenho final decresce os componentes das variáveis latência e amplitude do exame aumentam.

## REFERÊNCIAS

1. Tang H, Hammack C, Ogden SC, Wen Z, Xuyu Q, Li Y, Yao B, Shin J, Zhang F, Lee EM, Christian KM, Didier RA, Jin P, Song H MG. Zika Virus Infects Human Cortical Neural Precursors and Attenuates Their Growth. *Cell Stem Cell*. 2015;18(0):1067–73.

2. Van der Linden V, Pessoa A, Dobyns W, Barkovich AJ, Júnior H van der L, Filho ELR, et al. Description of 13 Infants Born During October 2015–January 2016 With Congenital Zika Virus Infection Without Microcephaly at Birth — Brazil. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* [Internet]. 2016 Dec 2;65(47):1343–8. Available from: <http://www.cdc.gov/mmwr/volumes/65/wr/mm6547e2.htm>
3. Aragao M de FV, Van Der Linden V, Brainer-Lima AM, Coeli RR, Rocha MA, Da Silva PS, et al. Clinical features and neuroimaging (CT and MRI) findings in presumed Zika virus related congenital infection and microcephaly: Retrospective case series study. *BMJ*. 2016;353:1–10.
4. Eickmann SH, Carvalho MDCG, Ramos RCF, Rocha MÂW, Van der linden V, da Silva PFS. Síndrome da infecção congênita pelo vírus Zika. *Cad Saude Publica*. 2016;32(7):1–3.
5. Moore CA, Staples JE, Dobyns WB, Pessoa A, Ventura C V., Fonseca EB da, et al. Congenital Zika syndrome: Characterizing the pattern of anomalies for pediatric healthcare providers. *JAMA Pediatr*. 2017;171(3):288–95.
6. Einspieler C, Utsch F, Brasil P, Panvequio Aizawa CY, Peyton C, Hydee Hasue R, et al. Association of Infants Exposed to Prenatal Zika Virus Infection With Their Clinical, Neurologic, and Developmental Status Evaluated via the General Movement Assessment Tool. *JAMA Netw open*. 2019;2(1):e187235.
7. Nielsen-Saines K, Brasil P, Kerin T, Vasconcelos Z, Gabaglia CR, Damasceno L, et al. Delayed childhood neurodevelopment and neurosensory alterations in the second year of life in a prospective cohort of ZIKV-exposed children. *Nat Med*. 2019;25(8):1213–7.
8. Mulkey SB, Arroyave-Wessel M, Peyton C, Bulas DI, Fourzali Y, Jiang J, et al. Neurodevelopmental Abnormalities in Children with in Utero Zika Virus Exposure without Congenital Zika Syndrome. *JAMA Pediatr*. 2019;
9. Peçanha PM, Gomes Junior SC, Pone SM, Pone MV da S, Vasconcelos Z, Zin A, et al. Neurodevelopment of children exposed intra-uterus by Zika virus: A case series. *PLoS One*. 2020;15(2):e0229434.
10. Leal MC, Muniz LF, Ferreira TSA, Santos CM, Almeida LC, Van Der Linden V, et al. Hearing loss in infants with microcephaly and evidence of congenital zika virus infection — Brazil, November 2015–May 2016. *Morb Mortal Wkly Rep*. 2016;65(34):917–9.
11. The Joint Committee on Infant Hearing. Year 2019 Position Statement: Principles and Guidelines for Early Hearing Detection and Intervention Programs. *J Early Hear Detect Interv*. 2019;4(2):1–44.
12. Barbosa MH de M, Magalhães-Barbosa MC de, Robaina JR, Prata-Barbosa A, Lima MA de MT de, Cunha AJLA da. Auditory findings associated with Zika virus infection: an integrative review. *Braz J Otorhinolaryngol* [Internet]. 2019;85(5):642–63. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.bjorlp.2019.05.014>

13. Leal M de C, Ramos DS, Caldas Neto SS. Hearing Loss From Congenital Zika Virus Infection. *Top Magn Reson Imaging*. 2019;28(1):19–22.
14. Mittal R, Fifer RC, Liu XZ. A possible association between hearing loss and Zika virus infections. *JAMA Otolaryngol - Head Neck Surg*. 2018;144(1):3–4.
15. Boscarriol M, Guimarães CA, de Vasconcellos Hage SR, Garcia VL, Schmutzler KMR, Cendes F, et al. Auditory processing disorder in patients with language-learning impairment and correlation with malformation of cortical development. *Brain Dev*. 2011;33(10):824–31.
16. Sobreira AC de O, Capo BM, Santos TS Dos, Gil D. Desenvolvimento de fala e linguagem na deficiência auditiva: relato de dois casos. *Rev CEFAC*. 2015;17(1):308–17.
17. Gouveia AS de, Oliveira MM de F, Goulart AL, de Azevedo MF, Perissinoto J. Development of speech and hearing skills in prematures adequate and small for gestational age: Chronological age between 18 and 36 months. *Codas*. 2020;32(4):2018–21.
18. Kraus N, Anderson S, White-Schwoch T. The Frequency-Following Response: A Window into Human Communication. In: Kraus N, Anderson S, White-Schwoch T, Fay RR, Popper AN, editors. *Springer Handbook of Auditory Research* [Internet]. 2017. p. 1–15. Available from: <http://www.springer.com/series/2506>
19. Skoe E, Kraus N. Auditory brainstem response to complex sounds: a tutorial. *Ear Hear*. 2010;31(3):302–24.
20. American Academy of Audiology. Diagnosis, treatment and management of children and adults with central auditory processing disorder. *Clin Pract Guidel*. 2010;(August):1–51.
21. American Speech-Language-Hearing Association (ASHA). (Central) auditory processing disorders. 2005.
22. Coninx F, Weichbold V, Tsiakpini L, Autrique E, Bescond G, Tamas L, et al. Validation of the LittleEARS® Auditory Questionnaire in children with normal hearing. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol*. 2009;73(12):1761–8.
23. Persson A, Miniscalco C, Lohmander A, Flynn T. Validation of the Swedish version of the LittleEARS® Auditory Questionnaire in children with normal hearing—a longitudinal study. *Int J Audiol* [Internet]. 2019;58(10):635–42. Available from: <https://doi.org/10.1080/14992027.2019.1621397>
24. World Health Organization. WHO | Screening, assessment and management of neonates and infants with complications associated with Zika virus exposure in utero. Who [Internet]. 2016;(August). Available from: <http://www.who.int/csr/resources/publications/zika/assessment-infants/en/>

25. Liu H, Jin X, Li J, Liu L, Zhou Y, Zhang J, et al. Early auditory preverbal skills development in Mandarin speaking children with cochlear implants. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol* [Internet]. 2015;79(1):71–5. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijporl.2014.11.010>
26. Ferreira L, Valadão MC da S, Skarzynski PH, Sanfins MD, Biaggio EPV. Effect of congenital toxoplasmosis on the encoding of speech in infants. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol*. 2020;129(November 2019).
27. Kraus N, Thompson EC, Krizman J, Cook K, White-Schwoch T, LaBella CR. Auditory biological marker of concussion in children. *Sci Rep* [Internet]. 2016;6(December):1–10. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/srep39009>
28. Elkabariti RH, Khalil LH, Husein R, Talaat HS. Speech evoked auditory brainstem response findings in children with epilepsy. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol* [Internet]. 2014;78(8):1277–80. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijporl.2014.05.010>
29. White-Schwoch T, Anderson S, Krizman J, Nicol T, Kraus N. Case studies in neuroscience: subcortical origins of the frequency-following response. *J Neurophysiol*. 2019;122(2):844–8.
30. Abramov DM, Saad T, Gomes-Junior SC, De Souza E Silva D, Araújo I, Moreira MEL, et al. Auditory brainstem function in microcephaly related to Zika virus infection. *Neurology*. 2018;90(7):e606–14.
31. Rosa BC da S, Silva JF, Santos M, Lewis DR. Avaliação audiológica em criança com microcefalia pelo zika vírus: estudo de caso. *Distúrbios da Comun*. 2018;30(2):357.
32. Picton T. Hearing in time: Evoked potential studies of temporal processing. *Ear Hear*. 2013;34(4):385–401.
33. Frota S. Fundamentos Teóricos do Sistema Auditivo Central. In: Marchesan IQ, Silva HJ, Tomé MC, editors. *Tratado das Especialidades em Fonoaudiologia*. 1st ed. Rio de Janeiro: ROCA; 2014. p. 848–53.
34. Souza IMP de, Carvalho NG de, Plotegher SDCB, Colella-Santos MF, Amaral MIR do. Triagem do processamento auditivo central: contribuições do uso combinado de questionário e tarefas auditivas. *Audiol - Commun Res*. 2018;23:1–8.
35. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Facts about Microcephaly [Internet]. 2017 [cited 2020 Jun 4]. p. 1–3. Available from: <https://www.cdc.gov/ncbddd/birthdefects/microcephaly.htm>
36. Long P, Wan G, Roberts MT, Corfas G. Myelin Development, Plasticity, and Pathology in the Auditory System. *Dev Neurobiol*. 2018;78(2):1–19.
37. Zakaria MN, Jalaei B. Test-retest reliability of speech-evoked auditory brainstem response in healthy children at a low sensation level. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol* [Internet]. 2017;102:28–31. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijporl.2017.08.033>

38. Rutkove SB. Introduction to volume conduction. Clin Neurophysiol Prim. 2007;C:43–53.

#### 4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os resultados obtidos nesta pesquisa evidenciaram que as crianças com infecção congênita pelo Zika vírus, com e sem microcefalia, apresentam médias de latência, amplitude, *slope* e área do exame do FFR semelhantes às crianças sem histórico de exposição e desenvolvimento típico, sugerindo que esta população pode apresentar integridade na codificação neural temporal de sons verbais no tronco encefálico.

Por outro lado, a análise do comportamento auditivo por meio do LEAQ mostrou que, mesmo sem evidência de perda auditiva, estas crianças apresentam imaturidade no comportamento auditivo em situações de escuta cotidiana, indicando que a infecção congênita pelo Zika vírus pode interferir no processo de desenvolvimento auditivo e na aquisição de habilidades auditivas e linguísticas.

Sob a perspectiva eletrofisiológica, os resultados deste estudo reforçam que a exposição pré-natal à infecção pelo Zika vírus parece não interferir na integridade da via auditiva no nível de tronco encefálico. Entretanto, a análise do comportamento auditivo através da observação parental sugere que podem existir alterações no desenvolvimento auditivo e das habilidades auditivas, sinalizando para possíveis comprometimentos nas estruturas corticais da via.

Para melhor associação destes desfechos com a infecção congênita pelo Zika vírus são necessárias novas pesquisas que considerem amostras maiores. O monitoramento auditivo conforme o desenvolvimento, a utilização de outras ferramentas de análise do exame do FFR e de outros instrumentos de avaliação do processamento auditivo (comportamentais e eletrofisiológicos) também devem ser considerados, a fim de melhor compreender como a infecção congênita pelo Zika vírus interfere na função auditiva destas crianças e auxiliar a minimizar os impactos que estes déficits podem trazer ao longo do desenvolvimento.

## REFERÊNCIAS

- ABRAMOV, D.M., et al. Auditory brainstem function in microcephaly related to Zika virus infection. **Neurology**, v.90, n. 7, p. 606-614, 2018.
- AMERICAN SPEECH-LANGUAGE-HEARING ASSOCIATION- ASHA. **(Central) Auditory Processing Disorders**. Rockville, Maryland: ASHA, 2005.
- AMERICAN ACADEMY OF AUDIOLOGY. **Guidelines for the diagnosis, treatment and management of children and adults with central auditory processing disorder**. 2010. [Guidelines and Standards]. Available at: <https://www.audiology.org/publications-resources/document-library/central-auditory-processing-disorder>.
- ANNA, P. et al. Validation of the Swedish version of the LittleEARS® Auditory Questionnaire in children with normal hearing – a longitudinal study. **International Journal of Audiology**, v. 58, n. 7, p. 1-8, 2019.
- ARAGÃO, M.F.V., et al. Clinical features and neuroimaging (CT and MRI) findings in presumed Zika virus related congenital infection and microcephaly: retrospective case series study. **BMJ**, v. 35, n. 3, p.1901, 2016.
- BAGATTO, M.P. et al. External validation of the LittleEars1 Auditory Questionnaire with English-speaking families of Canadian children with normal hearing. **Int J Pediatr Otorhinolaryngol**, v. 75, n. 6, p. 815-17, 2011.
- BAMIOU, D-E.; CAMPBELL, N.; SIRIMANNA, T. Management of auditory processing disorders. **Audiological Medicine**, v. 4, n. 1, p. 46-56, 2006.
- BARBOSA, M.H.M et al. Auditory findings associated with Zika virus infection: an integrative review. **Braz J Otorhinolaryngol**, v. 85, n. 5, p. 642-663, 2019.
- BOSCARIOL, M. et al. Auditory processing disorder in patients with language-learning impairment and correlation with malformation of cortical development. **Brain Dev.**, v. 33, p. 824-831, 2010.
- CAMPOS, G. S.; BANDEIRA, A.C.; SARDI, S. I. Zika Virus Outbreak, Bahia, Brazil. **Emerg. Infect. Dis.**, v. 21, n. 10, p. 1885-1886, 2015.
- CARDOSO, T.F.; et al. Congenital Zika infection: neurology can occur without microcephaly. **Archives of Disease in Childhood, archdischild**, v. 104, n. 2, p. 199-200, 2019.
- CONINX, F.; WEICHBOLD, V.; TSIKPINI, L. LittleEARS® Auditory Questionnaire. **Innsbruck**, Austria: MED-EL: 2003.
- CONINX, F. et al. Validation of the LittleEARS® Auditory Questionnaire in children with normal hearing. **International Journal of Pediatric Otorhinolaryngology**, v. 73, n. 12, p. 1761-1768, 2009.

DUFFY, M.R. et al. Zika virus outbreak on Yap Island, Federated States of Micronesia. **New England Journal of Medicine**, v. 360, n. 24, p. 2536-2543, 2009.

DELGUTTE, B.; KIANG, N.Y. Speech coding in the auditory nerve: IV. Vowel-like sounds. **J acoust soc Am**, v. 75, p. 866-878, 1984a.

DELGUTTE, B.; KIANG, N.Y. Speech coding in the auditory nerve: IV. Sounds with consonant-like dynamic characteristics. **J Acoust Soc Am**, v. 75, p. 897-907, 1984b.

DIAS, I.K.R. et al. Zika virus: – A review of the main aspects of this type of arbovirosis. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 51, n. 3, p. 261-269, 2018.

DICK, G.W.A.; KITCHEN, S.F.; HADDOW, A. J. Zika vírus. I. Isolations and serological specificity. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 46, n. 5, p. 509-520, 1952a.

DICK, G.W.A. Zika vírus. II. Pathogenicity and physical properties. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 46, n. 5, p. 521-534, 1952b.

DOWNS, M.P.; YOSHINAGA-ITANO, C. The efficacy of early identification and intervention for children with hearing impairment. **Pediatr Clin North Am**, v. 46, n. 1, p. 79-87, 1999.

DUARTE, J. L. et al. Potencial evocado auditivo de longa latência-P300 em indivíduos normais: valor do registro simultâneo em Fz e Cz. **Revista Brasileira de Otorrinolaringologia**, São Paulo, v. 75, n. 2, p. 231-236, Abr. 2009.

DUFFY, M.R. et al. Zika virus outbreak on Yap Island, Federated States of Micronesia. **New England Journal of Medicine**, v. 360, n. 24, p. 2536-2543, 2009.

EICKMANN, S.H. et al. Síndrome da infecção congênita pelo vírus Zika. **Cad. Saúde Pública**, Rio de Janeiro, v. 32, n. 7, e00047716, 2016.

EINSPIELER, C. et al. Association of Infants Exposed to Prenatal Zika Virus Infection With Their Clinical, Neurologic, and Developmental Status Evaluated via the General Movement Assessment Tool. **JAMA Network Open**, v. 2, n. 1, p. 187-235, 2019. doi:10.1001/jamanetworkopen.2018.7235.

EZZELDIN, H.; KADDAH, F.E.Z.A.; AL HAMEED, A.A. The use of the LittleEARS Auditory Questionnaire in assessing children before and after cochlear implantation, **Egypt. J. Otolaryngol.** v. 34, n. 2, p. 138, 2018.

GOUVEIA, A. S. et al. Development of speech and hearing skills in preterm adequate and small for gestational age: chronological age between 18 and 36 months. **CoDAS**, São Paulo, v. 32, n. 4, e20180275, 2020. Available from <[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S2317-17822020000400301&lng=en&nrm=iso](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2317-17822020000400301&lng=en&nrm=iso)>. access on 18 Mar. 2020. Epub Feb 10, 2020. <https://doi.org/10.1590/2317-1782/20192018275>.

HALL III, J.W. ABR Analysis and Interpretation. In: HALL III J.W. **New Handbook of Auditory Evoked Responses**. Boston: Pearson Allyn & Bacon, 2007, p. 212-257.

HAYES, E.B. Zika outside Africa. **Emerging Infectious Diseases**, v. 15, n. 9, p. 1347-1350, 2009.

HORNICKEL, J.; KNOWLES, E.; KRAUS, N. Test-retest consistency of speech-evoked auditory brainstem responses in typically-developing children. **Hearing Research**, v. 284, n. 1-2, p. 52-58, 2012. DOI: 10.1016/j.heares.2011.12.005. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.heares.2011.12.005>.

IOOS, S. et al. Current Zika virus epidemiology and recent epidemics. **Medecine et Maladies Infectieuses**, v. 44, n. 7, p. 302-307, 2014.

JOHNSON, K.L.; NICOL, T.G.; KRAUS, N. Brainstem response to speech: A biological marker of auditory processing. **Ear hear**, v. 26, n. 5, p. 424-34, 2005.

JOINT COMMITTEE ON INFANT HEARING. Year 2019 position statement: principles and guidelines for early hearing detection and intervention programs. **The Journal of a Early Hearing Detection and Intervention**, v. 4, n. 2, p. 1-44, 2019.

KRAUS, N.; NICOL, T. Aggregate neural responses to speech sounds in the central auditory system. **Speech Communication**, v. 41, p. 35-47, 2003.

KRAUS, N.; ANDERSON, S.; WHITE-SCHWOCH, T. The Frequency-Following Response: A Window into Human Communication. In KRAUS, N.; ANDERSON, S.; WHITE-SCHWOCH, T.; FAY, R.; POPPER, A.; editors. **The Frequency-Following Response: A Window into Human Communication**. Springer Handbook of Auditory Research. Switzerland: Springer International Publishing, p. 1-15, 2017.

LEAL, M. C. et al. Hearing loss in infants with microcephaly and evidence of congenital Zika virus infection – Brazil, november 2015 – May 2016. **Morbidity and Mortality Weekly Report (MMWR)**, Atlanta, v. 65, n. 34, p. 917-919, sept. 2016.

LEAL, M.C., RAMOS D.S., NETO S.C. Hearing Loss From Congenital Zika Virus Infection. **Topics in Magnetic Resonance Imaging**, v.28, p. 19-22, 2019.

LEANDRO, F. S. M. et al . LittleEars® – Questionário auditivo: adaptação semântica e cultural da versão em Português Brasileiro em pais de crianças com deficiência auditiva. **Audiol., Commun. Res.**, São Paulo , v. 21, e1640, 2016.

LEWIS, D.R. et al. Comitê multiprofissional em saúde auditiva COMUSA. **Braz J Otorhinolaryngol.**, v. 76, n. 1, p. 121-8, 2010.

LIU, H. et al., Assessment and monitoring of the LittleEARS® Auditory Questionnaire used for young hearing aid users in auditory speech development, Chin. J. Hear. Speech Rehabil.(23):291-294, 2015. (in Chinese)

LOWE, R. et al. The Zika virus epidemic in Brazil: From discovery to future implications. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, v. 15, n. 1, p. 96, 2018.

MATAS, C.G. Audiometria de tronco cerebral. In: CARVALLO, R.M.M. **Fonoaudiologia: informação para a formação - procedimento em Audiologia**. São Paulo: Guanabara Koogan; 2003. p. 43-56.

MATAS, C. G.; MAGLIARO, F.C.L. Sistema Auditivo Central. In: BEVILACQUA, M. C. et al. **Tratado de audiologia**. Santos: Livraria Santos Editora, 2011. cap. 12, p. 181.

MAY-MEDERAKE, B. et al. Evaluation of auditory development in infants and toddlers who received cochlear implants under the age of 24 months with the LittleEARS) Auditory Questionnaire. **Int J Pediatr Otorhinolaryngol**. v. 74, n. 10, p. 1149-55, 2010.

MINISTÉRIO DA SAÚDE (BR). Secretaria de Vigilância em Saúde. Confirmação do Zika vírus no Brasil [Internet]. Brasília: Ministério da Saúde, 2015 [citado 2016 jul 07]. Disponível em: <http://portalsaude.saude.gov.br/index.php/o-ministerio/principal/secretarias/svs/noticias-svs/17702-confirmacao-do-Zika-virus-no-brasil>.

MINISTÉRIO DA SAÚDE (BR). Diretrizes de estimulação precoce: crianças de zero a 3 anos com atraso no desenvolvimento neuropsicomotor decorrente de microcefalia [Internet]. Brasília: Ministério da Saúde; 2016. <http://portalsaude.saude.gov.br/images/pdf/2016/janeiro/13/Diretrizes-de-Estimulacao-Precoce.pdf> [ Links ]

MINISTÉRIO DA SAÚDE (BR). Monitoramento integrado de alterações no crescimento e desenvolvimento relacionadas à infecção pelo vírus Zika e outras etiologias infecciosas, até a Semana Epidemiológica 15, 2018. **Bol Epidemiol**, v.49, n.22, p.1-8, 2018.

MITTAL, R; FIFFER, R. C.; LIU, X. Z. A possible association between hearing loss and Zika virus infections. **JAMA Otolaryngology Head Neck Surgery**, oct. 2017.

MOORE, C.A. et al. Characterizing the pattern of anomalies in congenital Zika syndrome for pediatric clinicians. **JAMA Pediatr**, v. 171, n. 3, p. 288-95, 2017.

MOUSHEGIAN, G.; RUOERT, A.; STILLMAN, R. Scalp-recorded early response in man to frequencies in the speech range. **Electroencephalogr Clin Neurophysiol**, v. 35, p. 665-667, 1973.

MULKEY, S. B. et al. Neurodevelopmental Abnormalities in Children with in Utero Zika Virus Exposure without Congenital Zika Syndrome. **Jama Pediatrics**, v. 174, n. 3, p. 269-276, 2020.

NEGRO, A.S.G.; GARCÍA, J.L.P., QUEVEDO, M. S. Production and evaluation of a Spanish version of the LittleEARS® Auditory Questionnaire for the assessment of auditory development in children, **Int. J. Pediatr. Otorhinolaryngol**, v. 83, p. 99-103, 2016.

OMS. Assessment of infants with microcephaly in the context of Zika virus - Interim Guidance - 4 March 2016 [Internet]. Geneva; 2016. Available from: [http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/204475/1/WHO\\_ZIKV\\_MOC\\_16.3\\_eng.pdf?ua=1](http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/204475/1/WHO_ZIKV_MOC_16.3_eng.pdf?ua=1).

OPES, N; NOZAWA, C.; LINHARES, R. Características gerais e epidemiologia dos arbovírus emergentes no Brasil. **Rev Pan-Amaz Saude, Ananindeua**, v. 5, n. 3, p. 55-64, set. 2014.

PEÇANHA, P.M. et al. Neurodevelopment of children exposed intra-uterus by Zika virus: A case series. **PloS one**, v. 15, 2020.

PINTO JUNIOR, V. L. et al. Vírus Zika: revisão para clínicos. **Acta Médica Portuguesa**, Lisboa, v. 28, n. 6, p. 760-765, nov./dec. 2015.

PRATA-BARBOSA, A. et al. Effects of Zika infection on growth. **Jornal de Pediatria**, v. 95, n. 1, p. 30-41, 2019.

RUSSO, N.; NICOL, T.; MUSACCHIA, G.; KRAUS, N. Brainstem Responses to Speech Syllable. **Clin neurophysiol**, v. 115, p. 2021-2030, 2004.

ROCHA-MUNIZ, C. N. et al. O Potencial Evocado Auditivo com estímulo de fala pode ser uma ferramenta útil na prática clínica? **CoDAS**, v. 28, n. 1, p. 77-80, 2016. DOI:10.1590/2317-1782/20162014231. Disponível em: [http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S231717822016000100077&lng=pt&tlng=pt](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S231717822016000100077&lng=pt&tlng=pt).

SKOE, E.; KRAUS, N. Auditory brain stem response to complex sounds: a tutorial. **Ear Hear**, v. 31, n. 03, p. 302-324, 2010.

SOBREIRA, A. C. O., et al. Desenvolvimento de fala e linguagem na deficiência auditiva: relato de dois casos. **Rev. CEFAC**, São Paulo, v. 17, n. 1, p. 308-317, Feb. 2015

TANG, H. et al. Zika virus infects human cortical neural progenitors and attenuates their growth. **Cell Stem Cell**, v.18, n. 5, p. 587-90, 2016.

TEIXEIRA, C. F.; GRIZ, S. M. S. Sistema Auditivo Central. In: BEVILACQUA, M. C. et al. **Tratado de audiologia**. Santos: Livraria Santos Editora, 2011. cap. 2, p. 17-18.

VAN DER LINDEN, V.; et al. Description of 13 Infants Born During October 2015-January 2016 With Congenital Zika Virus Infection Without Microcephaly at Birth - Brazil. **MMWR Morb Mortal Wkly Rep**, n. 65, p. 1343-8, 2016.

VOLPATTO, F.L. et al. Questionários e checklists para triagem do processamento auditivo central utilizados no Brasil: revisão sistemática. **Braz. j. otorrinolaryngol.** [Internet].. 85, n. , p. 99-110, 2019.

XAVIER, A.R. et al. Clinical and laboratory diagnosis of Zika fever: an update. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, v. 53, n. 4, p. 252-257, 2017.

WAGGONER, J. J.; PINSKY, B.A. Zika virus: Diagnostics for an emerging pandemic threat. **Journal of Clinical Microbiology**, v.54, n. 4, p. 860-867, 2016.

WANG , L. et al. Validation of the Mandarin version of the LittleEARS® auditory questionnaire, **Int. J. Pediatr. Otorhinolaryngol**, v.77, n. 8, p. 1350–1354, 2013.

WIKAN, N.; SMITH, D.R. Zika virus: history of a newly emerging arbovirus. **The Lancet Infectious Diseases**, v. 16, n. 7, p. e119-e126, 2016.

YOUNG, E.D.; SACHS, M.B. Representations of steady-state vowels in the temporal aspects of the discharge patterns of population of auditory-nerve fibers. **J Acoust Soc Am**, v. 66, p. 1381-1403, 1979.

ZANLUCA, C. et al . First report of autochthonous transmission of Zika virus in Brazil. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro , v. 110, n. 4, p. 569-572, Jun 2015 .

## APÊNDICE A – TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

### TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO - TCLE

(Para responsável legal pelo menor de 18 anos – Resolução 466/12)

Título da Pesquisa: “**AVALIAÇÃO AUDIOLÓGICA DE CRIANÇAS COM SUSPEITA DE INFECÇÃO CONGÊNITA PELO ZIKA VÍRUS**”

#### 1. INTRODUÇÃO

Solicitamos a sua autorização para convidar o (a) seu/sua filho (a) (ou menor que está sob sua responsabilidade) para participar, como voluntário (a), da pesquisa "Avaliação audiológica de crianças com suspeita de infecção congênita pelo Zika vírus". Você foi selecionado aleatoriamente e sua participação não é obrigatória. Sua recusa não trará nenhum prejuízo em sua relação com o pesquisador ou com o Hospital Agamenon Magalhães. Essa pesquisa é de responsabilidade da pesquisadora Mariana de Carvalho Leal Gouveia, residente na Rua General Abreu e Lima, 65, apto 901, Tamarineira CEP: 52041-040, email [marianacleal@hotmail.com](mailto:marianacleal@hotmail.com), telefone de contato (81) 992331521. Também participam desta pesquisa os pesquisadores Tamires Sales Alencar Ferreira, telefone de contato (81) 999827392, Cristiane Marcela Santos Silva, telefone de contato (81) 999606905, Lilian Muniz, (81) 34161634, Silvio Caldas (81) 34161635 e Rebecka Jacques (81)987155318. Se decidir autorizar o menor pelo qual é responsável a participar da mesma, é importante que leia as informações a seguir sobre a pesquisa e o papel do seu filho (a) enquanto participante dela. Neste momento, você pode desistir de participar e retirar seu consentimento. No caso de você decidir retirar o seu filho (a) do estudo, deverá notificar ao profissional e/ou pesquisador que o esteja atendendo. Caso queira autorizar a participação do seu filho (a) na pesquisa é preciso entender a natureza e os riscos da participação dele e dar, aqui, o seu consentimento livre e esclarecido, rubricando as folhas e assinando ao final deste documento, que está em duas vias, uma via lhe será entregue e a outra ficará com o pesquisador responsável.

#### 2. OBJETIVO

Este estudo tem por objetivo avaliar os possíveis problemas auditivos sofridos pelas crianças nascidas com suspeita de infecção congênita pelo Zika vírus.

#### 3. PROCEDIMENTO DO ESTUDO

Se concordar em participar, você será submetido a uma entrevista em que responderá a um questionário acerca dos dados do pré-natal, parto, genitora e recém-nascido. Permitirá também que o pesquisador e sua equipe tenham acesso ao prontuário do paciente em questão, a fim de resgatar os resultados dos exames de triagem auditiva neonatal já realizados. Os resultados dos exames serão analisados na consulta de retorno ao ambulatório de Otorrinolaringologia no Hospital Agamenon Magalhães, onde, a depender dos mesmos, cada caso terá a sua condução terapêutica. Os dados serão arquivados junto ao pesquisador responsável por um período de cinco anos. A qualquer momento você pode desistir de participar e retirar seu consentimento.

#### 4. DESCONFORTOS, INCOVENIÊNCIA, INCÔMODOS E RISCOS

O exame otorrinolaringológico no paciente pode provocar discreto desconforto durante otoscopia, rinoscopia e oroscopia. Será realizado também exames de ouvido porém não são exames invasivos sem qualquer risco adicional ao paciente.

#### 5. BENEFÍCIOS E DEVOLUÇÃO DOS RESULTADOS

Os resultados obtidos serão repassados para os participantes da pesquisa através de consultas de acompanhamento no ambulatório de Otorrinolaringologia do Hospital Agamenon Magalhães e Hospital das clínicas. Nelas, eles serão informados acerca dos próximos passos para o tratamento e condução de cada caso. Desta forma, visamos auxiliar no estabelecimento de ações de promoção de saúde destes pacientes e suas famílias.

#### 6. RELEVÂNCIA DA PESQUISA

A importância desta pesquisa está em proporcionar o conhecimento dos possíveis danos audiológicos sofridos pelas crianças nascidas com microcefalia secundária ao Zika vírus. Tais alterações podem trazer repercussões para o desenvolvimento desses indivíduos, então diagnosticá-las o mais precocemente possível se faz essencial para que sejam realizadas medidas terapêuticas eficazes para cada caso específico.

#### 7. CARÁTER CONFIDENCIAL DOS REGISTROS

Todas as informações obtidas mediante a sua participação neste estudo não poderão ser mantidas em estrita confidencialidade, pois algumas delas podem vir a ser solicitadas pelo Comitê de Ética em Pesquisa que aprovou o projeto deste trabalho. Você não será identificado quando o conteúdo de suas informações for utilizado, seja para propósitos de publicação científica ou educativa. Os dados a serem publicados serão impessoais e integrados ao conjunto daqueles dos demais voluntários da pesquisa. A sua identidade e os seus dados de caráter pessoal específico, em tudo que depender da pesquisadora dentro do respeito à lei, serão mantidos em absoluto sigilo.

#### 8. PARA OBTER INFORMAÇÕES ADICIONAIS

Você deve dar ou não o consentimento para participar da pesquisa, tendo plena liberdade para aceitar participar ou recusar-se a participar da mesma. Tem o direito de continuar até o final da coleta de dados ou desistir da participação a qualquer momento. Caso você venha a ter algum problema diretamente ligado à pesquisa, ou tenha mais perguntas sobre a mesma, pode entrar em contato com a pesquisadora Mariana de Carvalho Leal Gouveia, que é a orientadora responsável por esta pesquisa, pelo telefone (81) 992331521, cujo endereço eletrônico é marianacleal@hotmail.com.

#### 9. DECLARAÇÃO DE CONSENTIMENTO

Li ou alguém leu para mim as informações contidas neste documento antes de assinar este Termo de Consentimento. Declaro que fui informado sobre o objetivo, os métodos e procedimentos da pesquisa, as inconveniências, riscos, benefícios da mesma. Por isso coloco minha assinatura ao final do documento, logo a seguir. Declaro também que toda a linguagem técnica utilizada na descrição deste estudo de pesquisa foi satisfatoriamente explicada e que recebi respostas para todas as minhas dúvidas. O pesquisador me informou que o projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos do Centro de Estudos do Hospital Agamenon Magalhães que funciona no próprio Hospital Agamenon Magalhães, localizado na ESTRADA DO ARRAIAL, 2723 – CASA AMARELA – 3º ANDAR – CEP 52051-380, RECIFE – PE – BRASIL. Confirmando também que recebi uma cópia deste formulário de consentimento. Compreendo que sou livre para me retirar do estudo em qualquer momento, sem perda de benefícios ou qualquer outra penalidade na relação com os pesquisadores. Dou o meu consentimento de livre e espontânea vontade e sem reservas, para participar como voluntário desta pesquisa.

Recife, \_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ de 2020.

Assinatura da pesquisadora

Local/Data

Eu, \_\_\_\_\_, CPF \_\_\_\_\_, abaixo assinado, responsável por \_\_\_\_\_, autorizo a sua participação no estudo “Avaliação audiológica de crianças com suspeita de infecção congênita pelo Zika vírus”, como voluntário (a). Fui devidamente informado (a) e esclarecido (a) pelo (a) pesquisador (a) sobre a pesquisa, os procedimentos nela envolvidos, assim como os possíveis riscos e benefícios decorrentes da participação dele (a). Foi-me garantido que posso retirar o meu consentimento a qualquer momento, sem que isso leve a qualquer penalidade para mim ou para o (a) menor em questão.

Assinatura do (da) responsável

Local/Data

Presenciamos a solicitação de consentimento, esclarecimentos sobre a pesquisa e aceite do sujeito em participar. 02 testemunhas (Não ligadas à equipe de pesquisadores):

Nome e Assinatura da testemunha

Local/Data

Nome e Assinatura da testemunha

Local/Data

## APÊNDICE B – QUESTIONÁRIO DE ENTREVISTA

### Formulário

Data da avaliação: \_\_\_\_\_

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

Idade: \_\_\_\_\_ Sexo: M ( ) F ( )

Responsável: \_\_\_\_\_ Tel.: \_\_\_\_\_

1. Intercorrências na gestação? ( ) Sim ( ) Não

Quais? \_\_\_\_\_

2. Parto: ( ) Cesário ( ) Normal

3. Idade gestacional: ( ) Pré-termo ( ) A termo ( ) Pós-termo

4. Infecção pré-natal por Zika: ( ) Sim ( ) Não

1. Síndrome Congênita por Zika: ( ) Sim ( ) Não

2. Forma de Diagnóstico: IgM ( ) IgG ( ) Clínica ( )

3. Comorbidades? \_\_\_\_\_

4. Intercorrências Clínicas? \_\_\_\_\_

5. Faz uso de medicamento? ( ) Sim ( ) Não Quais? \_\_\_\_\_

6. Perda auditiva: ( ) Sim ( ) Não

7. TAN: ( ) Normal ( ) Alterada \_\_\_\_\_

8. Histórico de Otite: ( ) Sim ( ) Não

9. Cirurgia Otológica: ( ) Sim ( ) Não

10. Trauma acústico? ( ) Sim ( ) Não

11. Aquisição da Linguagem: ( ) Normal ( ) Alterada \_\_\_\_\_

12. Apresenta dificuldade na comunicação ( ) Sim ( ) Não

Quais? \_\_\_\_\_

Avaliador: Observar desenvolvimento da linguagem de acordo com a Cartilha de Desenvolvimento da linguagem da criança

(Manual elaborado pelo Conselho Regional de Fonoaudiologia – CRFa 6ª Região)

## Desenvolvimento da linguagem da criança



**5 anos** - Fala frases completas corretamente. Fala corretamente todos os sons da língua.

**4 anos** - Inventa histórias. Entende regras e jogos simples.

**3 anos** - É possível entender tudo o que a criança fala, no entanto há erros gramaticais.

**2 anos** - Tem cerca de 300 palavras em seu vocabulário. Compreende e emite frases simples. Pergunta nomes e funções.

**18 meses** - Está apta a se comunicar formando frases curtas de 2 ou 3 palavras.

**12 meses** - Fala as primeiras palavras e imita a ação de outras pessoas. Aumenta a interação verbal através do balbúcio e de palavras simples. Identifica o próprio nome quando a chama. Entende ordens simples como "dar tchau", "mandar beijo" e "bater palmas".

**7 a 11 meses** - Emite alguns sons. Repete palavras simples. Bate palmas, aponta o que quer e dá "tchau".

**4 a 6 meses** - Grita, emite alguns sons como se conversasse e imita sua voz. Presta atenção quando alguém está falando e vocaliza.

**1 a 3 meses** - Comunica-se com o meio basicamente através de variações na entonação do choro e dos sons emitidos. Chora, emite alguns sons e dá gargalhadas. Sorri quando alguém fala de frente para ela.

Lamprecht 2004

|            |                                                          |
|------------|----------------------------------------------------------|
| 1 a 3 anos | p, b, t, d, k, g, m, n, nh, f, v, s, z, ch, j. Ex: Bola. |
| 4 anos     | lh e r. Ex: Ilha, barata.                                |
| 5 anos     | Encontros consonantais com l e r. Ex: Planta, primo.     |

Material elaborado com base nos livros: "Comunicação humana e seus hábitos". BOONE, Daniel & PLANTE, Elena. "A criança em desenvolvimento". BEE, Helen e "Manual de aplicação do teste de desenvolvimento Denver II". FRANKENBURG, W.K. e cols.

Impressões sobre a linguagem da criança:

---



---

## ANEXO A – *LITTLEARS®* QUESTIONÁRIO AUDITIVO

Este questionário auditivo foi desenvolvido para avaliar desenvolvimento auditivo em crianças ouvintes e em crianças com deficiência auditiva após o implante coclear (IC) ou adaptação de aparelhos de amplificação sonora individual (AASI). Abrange desenvolvimento auditivo nos primeiros dois anos pós IC ou adaptação de AASI (até a idade auditiva de dois anos) ou em crianças ouvintes até 2 anos de idade. O questionário inclui perguntas sobre respostas auditivas que dependem da idade e apresentam complexidade crescente. Portanto, com crianças mais novas, poucas questões terão a resposta "sim".

Como completar o questionário?

Todas as perguntas devem ser respondidas marcando a alternativa "sim" ou "não".

Por favor, marcar:

· SIM: se você já observou este comportamento em seu filho pelo menos uma vez.

· NÃO: se você nunca observou este comportamento ou não tem certeza.

Se você responder 6 "não" para uma criança ouvinte, não é necessário continuar respondendo o questionário. Essas perguntas serão consideradas como "não".

Para crianças com AASI ou IC, todas as questões devem ser respondidas, visto que comportamentos auditivos descritos nas demais perguntas podem ser observados.

|                |
|----------------|
| Serviço: _____ |
|----------------|

Paciente: \_\_\_\_\_ Idade: \_\_\_\_\_

Para crianças com AASI ou IC:

Data da cirurgia: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_ OD/OE

Data 1ª ativação: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_ Data adaptação dos AASI: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

Data 2ª cirurgia: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_ OD/OE

Data 2ª ativação: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

Idade auditiva: \_\_\_\_\_

\*Cálculo da idade auditiva:

Crianças com audição normal: idade auditiva igual idade cronológica

Criança com IC: intervalo de tempo desde a ativação do primeiro processador. Se a primeira ativação não é conhecida: tempo decorrido desde a cirurgia menos 1 mês.

Criança com AASI: intervalo de tempo desde a adaptação do AASI.

Outras perguntas de interesse:

1 - Você já observou nele alguma resposta para sons ou vozes que eu não perguntei nesse questionário?

2 - Nas últimas duas semanas, seu filho escutou algum som ou alguma palavra que ele não escutava antes e surpreendeu você ou a sua família?

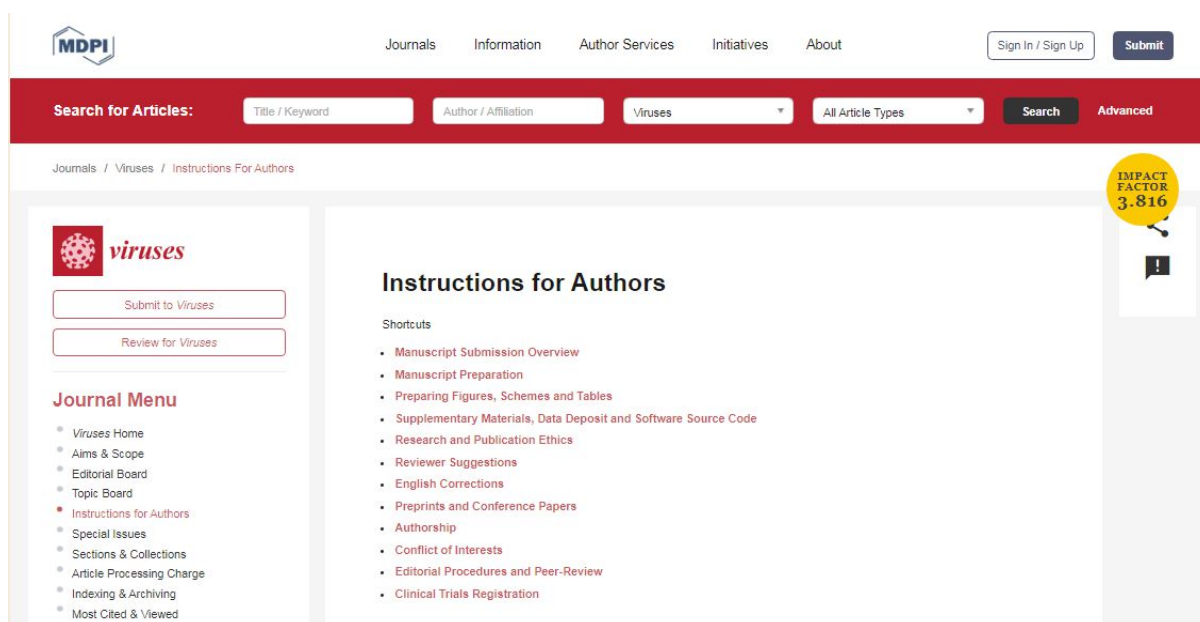
Obrigada por preencher o LittleEars® Questionário Auditivo!

|    | Pergunta sobre resposta auditiva                                                                                       | Respostas |     | Exemplo                                                                                                                                |
|----|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|-----|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 1  | Seu filho responde para uma voz de alguém conhecido?                                                                   | Sim       | Não | Sorri; olha para quem falou; fala entusiasmado.                                                                                        |
| 2  | Seu filho escuta quando alguém está falando?                                                                           | Sim       | Não | Escuta, espera e escuta: olha para quem fala por um período longo.                                                                     |
| 3  | Quando alguém está falando, seu filho procura o som virando a cabeça na direção de quem fala?                          | Sim       | Não |                                                                                                                                        |
| 4  | Seu filho se interessa por brinquedos que produzem som ou música?                                                      | Sim       | Não | Chocalho, brinquedos de apertar                                                                                                        |
| 5  | Seu filho procura por uma pessoa que está falando e que não está vendo?                                                | Sim       | Não |                                                                                                                                        |
| 6  | Seu filho escuta quando algum aparelho de som está ligado?                                                             | Sim       | Não | Escuta: olha para a fonte sonora; fica atento; dá risada ou canta/conversa junto com a música.                                         |
| 7  | Seu filho responde para sons distantes?                                                                                | Sim       | Não | Quando é chamado de uma outra sala                                                                                                     |
| 8  | Seu filho para de chorar quando você fala com ele sem ele estar vendo você?                                            | Sim       | Não | Você tenta acalmar a criança com uma voz ou música suave, sem contato visual.                                                          |
| 9  | Seu filho responde com alarme (susto) quando ouve uma voz de uma pessoa irritada?                                      | Sim       | Não | Fica triste e começa a chorar.                                                                                                         |
| 10 | Seu filho reconhece (antecipa) situações do dia a dia somente pelo som (rituais acústicos)?                            | Sim       | Não | Canção de ninar; música da novela; propaganda de TV.                                                                                   |
| 11 | Seu filho procura por sons que estão à sua direita, esquerda ou atrás?                                                 | Sim       | Não | Você chama ou diz alguma coisa: latido do cachorro, etc. e a criança olha e encontra a fonte sonora.                                   |
| 12 | Seu filho reage ao próprio nome?                                                                                       | Sim       | Não |                                                                                                                                        |
| 13 | Seu filho procura por sons localizados acima ou abaixo dele?                                                           | Sim       | Não | Alguma coisa que caiu no chão, ou uma porta batendo.                                                                                   |
| 14 | Quando o seu filho está triste ou mal humorado, ele pode ser acalmado ou mudar de comportamento na presença de música? | Sim       | Não |                                                                                                                                        |
| 15 | Seu filho escuta ao telefone e parece reconhecer que alguém está falando?                                              | Sim       | Não | Quando a vovó ou papai liga. A criança pega o telefone e "escuta"...                                                                   |
| 16 | Seu filho responde para a música com movimentos rítmicos (dançar)?                                                     | Sim       | Não | A criança movimentam braços e pernas ao som da música                                                                                  |
| 17 | Seu filho sabe que um certo som é relacionado a um determinado objeto ou acontecimento?                                | Sim       | Não | A criança ouve o som do avião e olha para o céu; ou escuta o barulho do carro e olha para a rua.                                       |
| 18 | Seu filho responde apropriadamente para frases simples e curtas?                                                       | Sim       | Não | Pare! Não pode! "Eca"?                                                                                                                 |
| 19 | Quando você fala "Não" fortemente, mesmo que a criança não veja você, ela para o que está fazendo?                     | Sim       | Não | Quando fala "Não" fortemente, mesmo que a criança não veja você, É efetivo (funciona).                                                 |
| 20 | Seu filho reconhece nomes dos membros de sua família?                                                                  | Sim       | Não | Onde está o papai, mamãe, Marcos...                                                                                                    |
| 21 | Seu filho imita sons quando é solicitado?                                                                              | Sim       | Não | "aaaa", "oo", "M"                                                                                                                      |
| 22 | Seu filho segue ordens simples?                                                                                        | Sim       | Não | Venha cá! Tire os sapatos!                                                                                                             |
| 23 | Seu filho compreende perguntas simples?                                                                                | Sim       | Não | Cadê a barriga? Cadê o papai?                                                                                                          |
| 24 | Seu filho vai buscar objetos quando é solicitado?                                                                      | Sim       | Não | Pega a bola, etc.                                                                                                                      |
| 25 | Seu filho imita sons ou palavras que você fala?                                                                        | Sim       | Não | Fala: auau ; Fala: carro.                                                                                                              |
| 26 | Seu filho faz o som correto para cada brinquedo?                                                                       | Sim       | Não | BRUMM para o carro, muuu para a vaca.                                                                                                  |
| 27 | Seu filho sabe que determinados sons correspondem a determinados animais                                               | Sim       | Não | Auuu para cachorro; miau para gato; cocó para galo                                                                                     |
| 28 | Seu filho tenta imitar sons do dia a dia?                                                                              | Sim       | Não | Sons de animais, sons de equipamentos domésticos, sirene do carro de polícia.                                                          |
| 29 | Seu filho repete corretamente sons de fala curtos e longos na mesma ordem que você fala?                               | Sim       | Não | La, la, laaa                                                                                                                           |
| 30 | Seu filho pega o objeto correto entre vários outros quando solicitado?                                                 | Sim       | Não | Vocês estão brincando com brinquedos de animais e pede o "cavalo". Vocês estão brincando com bolas coloridas e pede a "bola vermelha". |
| 31 | Seu filho tenta cantar junto quando ouve uma música?                                                                   | Sim       | Não | Músicas infantis ou parlendas (1, 2 feijão com arroz...)                                                                               |
| 32 | Seu filho repete algumas palavras quando você pede?                                                                    | Sim       | Não | Diga: "Oi" para vovó                                                                                                                   |
| 33 | Seu filho gosta quando alguém lê história para ele?                                                                    | Sim       | Não | Um livro infantil, ou livro de figuras.                                                                                                |
| 34 | Seu filho segue ordens complexas?                                                                                      | Sim       | Não | Tire seu sapato e venha cá!                                                                                                            |
| 35 | Seu filho tenta cantar quando ouve músicas familiares?                                                                 | Sim       | Não | Canção de ninar; Galinha Pintadinha; Palma, palma, palma.                                                                              |

Pontuação total: todas as respostas assinaladas SIM

|  |
|--|
|  |
|--|

## ANEXO B – NORMAS DA REVISTA



### Submission Checklist

Please.

1. read the **Aims & Scope** to gain an overview and assess if your manuscript is suitable for this journal;
2. use the **Microsoft Word template** or **LaTeX template** to prepare your manuscript;
3. make sure that issues about **publication ethics, research ethics, copyright, authorship, figure formats, data and references format** have been appropriately considered;
4. ensure that all authors have approved the content of the submitted manuscript.

### Manuscript Submission Overview

#### Types of Publications

*Viruses* has no restrictions on the length of manuscripts, provided that the text is concise and comprehensive. Full experimental details must be provided so that the results can be reproduced. *Viruses* requires that authors publish all experimental controls and make full datasets available where possible (see the guidelines on **Supplementary Materials** and references to unpublished data).

Manuscripts submitted to *Viruses* should neither be published previously nor be under consideration for publication in another journal. The main article types are as follows:

- *Articles*: Original research manuscripts. The journal considers all original research manuscripts provided that the work reports scientifically sound experiments and provides a substantial amount of new information. Authors should not unnecessarily divide their work into several related manuscripts, although Short *Communications* of

preliminary, but significant, results will be considered. Quality and impact of the study will be considered during peer review.

- *Reviews*: These provide concise and precise updates on the latest progress made in a given area of research. Systematic reviews should follow the **PRISMA guidelines**. *Viruses* will primarily publish review articles that are invited by Special Issue Guest Editors. Additionally, the journal will also publish reviews on topics of particular interest that do not overlap with current or recent special issues. These reviews are generally invited by the Reviews Editor, **Dr. Jens H. Kuhn**. However, the journal will also consider review proposals. To submit a proposal, please provide a one-page summary of the topic and overall aims of the review article to Dr. Kuhn's attention.

### Submission Process

Manuscripts for *Viruses* should be submitted online at **susy.mdpi.com**. The submitting author, who is generally the corresponding author, is responsible for the manuscript during the submission and peer-review process. The submitting author must ensure that all eligible co-authors have been included in the author list (read the **criteria to qualify for authorship**) and that they have all read and approved the submitted version of the manuscript. To submit your manuscript, register and log in to the **submission website**. Once you have registered, **click here to go to the submission form for *Viruses***. All co-authors can see the manuscript details in the submission system, if they register and log in using the e-mail address provided during manuscript submission.

### Accepted File Formats

Authors must use the **Microsoft Word template** or **LaTeX template** to prepare their manuscript. Using the template file will substantially shorten the time to complete copy-editing and publication of accepted manuscripts. The total amount of data for all files must not exceed 120 MB. If this is a problem, please contact the Editorial Office **viruses@mdpi.com**. Accepted file formats are:

- *Microsoft Word*: Manuscripts prepared in Microsoft Word must be converted into a single file before submission. When preparing manuscripts in Microsoft Word, the ***Viruses* Microsoft Word template file** must be used. Please insert your graphics (schemes, figures, *etc.*) in the main text after the paragraph of its first citation. .
- *LaTeX*: Manuscripts prepared in LaTeX must be collated into one ZIP folder (include all source files and images, so that the Editorial Office can recompile the submitted PDF). When preparing manuscripts in LaTeX, please use the ***Viruses* LaTeX template files**. You can now also use the online application **writeLaTeX** to submit articles directly to *Viruses*. The MDPI LaTeX template file should be selected from the **writeLaTeX template gallery**.
- *Supplementary files*: May be any format, but it is recommended that you use common, non-proprietary formats where possible (see **below** for further details).

**Disclaimer: Usage of these templates is exclusively intended for submission to the journal for peer-review, and strictly limited to this purpose and it cannot be used for posting online on preprint servers or other websites.**

### Free Format Submission

*Viruses* now accepts free format submission:

- We do not have strict formatting requirements, but all manuscripts must contain the required sections: Author Information, Abstract, Keywords, Introduction, Materials & Methods, Results, Conclusions, Figures and Tables with Captions, Funding Information, Author Contributions, Conflict of Interest and other Ethics Statements. Check the Journal *Instructions for Authors* for more details.
- Your references may be in any style, provided that you use the consistent formatting throughout. It is essential to include author(s) name(s), journal or book title, article or chapter title (where required), year of publication, volume and issue (where appropriate) and pagination. DOI numbers (Digital Object Identifier) are not mandatory but highly encouraged. The bibliography software package *EndNote*, *Zotero*, *Mendeley*, *ReferenceManager* are recommended.
- When your manuscript reaches the revision stage, you will be requested to format the manuscript according to the journal guidelines.

### Cover Letter

A cover letter must be included with each manuscript submission. It should be concise and explain why the content of the paper is significant, placing the findings in the context of existing work and why it fits the scope of the journal. Confirm that neither the manuscript nor any parts of its content are currently under consideration or published in another journal. Any prior submissions of the manuscript to MDPI journals must be acknowledged. The names of proposed and excluded reviewers should be provided in the submission system, not in the cover letter.

### Note for Authors Funded by the National Institutes of Health (NIH)

This journal automatically deposits papers to PubMed Central after publication of an issue. Authors do not need to separately submit their papers through the NIH Manuscript Submission System (NIHMS, <http://nihms.nih.gov/>).

### Manuscript Preparation

#### General Considerations

- **Research manuscripts** should comprise:
  - **Front matter:** Title, Author list, Affiliations, Abstract, Keywords
  - **Research manuscript sections:** Introduction, Materials and Methods, Results, Discussion, Conclusions (optional).
  - **Back matter:** Supplementary Materials, Acknowledgments, Author Contributions, Conflicts of Interest, **References**.
- **Review manuscripts** should comprise the **front matter**, literature review sections and the **back matter**. The template file can also be used to prepare the front and back matter of your review manuscript. It is not necessary to follow the remaining structure. Structured reviews and meta-analyses should use the same structure as research articles and ensure they conform to the **PRISMA** guidelines.

- **Graphical abstract:** Authors are encouraged to provide a graphical abstract as a self-explanatory image to appear alongside with the text abstract in the Table of Contents. Figures should be a high quality image in any common image format. Note that images displayed online will be up to 11 by 9 cm on screen and the figure should be clear at this size.
- **Abbreviations** should be defined in parentheses the first time they appear in the abstract, main text, and in figure or table captions and used consistently thereafter.
- **SI Units** (International System of Units) should be used. Imperial, US customary and other units should be converted to SI units whenever possible.
- **Virus nomenclature:** Read the instructions concerning viruses nomenclature [here](#).
- **Accession numbers** of RNA, DNA and protein sequences used in the manuscript should be provided in the Materials and Methods section. Also see the section on **Deposition of Sequences and of Expression Data**.
- **Equations:** If you are using Word, please use either the Microsoft Equation Editor or the MathType add-on. Equations should be editable by the editorial office and not appear in a picture format.
- **Research Data and supplementary materials:** Note that publication of your manuscript implies that you must make all materials, data, and protocols associated with the publication available to readers. Disclose at the submission stage any restrictions on the availability of materials or information. Read the information about **Supplementary Materials** and Data Deposit for additional guidelines.
- **Preregistration:** Where authors have preregistered studies or analysis plans, links to the preregistration must be provided in the manuscript.
- **Guidelines and standards:** MDPI follows standards and guidelines for certain types of research. See [https://www.mdpi.com/editorial\\_process](https://www.mdpi.com/editorial_process) for further information.

## Front Matter

These sections should appear in all manuscript types

- **Title:** The title of your manuscript should be concise, specific and relevant. It should identify if the study reports (human or animal) trial data, or is a systematic review, meta-analysis or replication study. When gene or protein names are included, the abbreviated name rather than full name should be used.
- **Author List and Affiliations:** Authors' full first and last names must be provided. The initials of any middle names can be added. The PubMed/MEDLINE standard format is used for affiliations: complete address information including city, zip code, state/province, and country. At least one author should be designated as corresponding author, and his or her email address and other details should be included at the end of the affiliation section. Please read the **criteria to qualify for authorship**.
- **Abstract:** The abstract should be a total of about 200 words maximum. The abstract should be a single paragraph and should follow the style of structured abstracts, but without headings: 1) Background: Place the question addressed in a broad context and highlight the purpose of the study; 2) Methods: Describe briefly the main methods or treatments applied. Include any relevant preregistration numbers, and species and strains of any animals used. 3) Results: Summarize the article's main findings; and 4)

**Conclusion:** Indicate the main conclusions or interpretations. The abstract should be an objective representation of the article: it must not contain results which are not presented and substantiated in the main text and should not exaggerate the main conclusions.

- **Keywords:** Three to ten pertinent keywords need to be added after the abstract. We recommend that the keywords are specific to the article, yet reasonably common within the subject discipline.

## Research Manuscript Sections

- **Introduction:** The introduction should briefly place the study in a broad context and highlight why it is important. It should define the purpose of the work and its significance, including specific hypotheses being tested. The current state of the research field should be reviewed carefully and key publications cited. Please highlight controversial and diverging hypotheses when necessary. Finally, briefly mention the main aim of the work and highlight the main conclusions. Keep the introduction comprehensible to scientists working outside the topic of the paper.
- **Materials and Methods:** They should be described with sufficient detail to allow others to replicate and build on published results. New methods and protocols should be described in detail while well-established methods can be briefly described and appropriately cited. Give the name and version of any software used and make clear whether computer code used is available. Include any pre-registration codes.
- **Results:** Provide a concise and precise description of the experimental results, their interpretation as well as the experimental conclusions that can be drawn.
- **Discussion:** Authors should discuss the results and how they can be interpreted in perspective of previous studies and of the working hypotheses. The findings and their implications should be discussed in the broadest context possible and limitations of the work highlighted. Future research directions may also be mentioned. This section may be combined with Results.
- **Conclusions:** This section is not mandatory, but can be added to the manuscript if the discussion is unusually long or complex.
- **Patents:** This section is not mandatory, but may be added if there are patents resulting from the work reported in this manuscript.

## Back Matter

- **Supplementary Materials:** Describe any supplementary material published online alongside the manuscript (figure, tables, video, spreadsheets, etc.). Please indicate the name and title of each element as follows Figure S1: title, Table S1: title, etc.
- **Acknowledgments:** All sources of funding of the study should be disclosed. Clearly indicate grants that you have received in support of your research work and if you received funds to cover publication costs. Note that some funders will not refund article processing charges (APC) if the funder and grant number are not clearly and correctly identified in the paper. Funding information can be entered separately into the submission system by the authors during submission of their manuscript. Such funding information, if available, will be deposited to **FundRef** if the manuscript is finally published.

- **Author Contributions:** Each author is expected to have made substantial contributions to the conception or design of the work; or the acquisition, analysis, or interpretation of data; or the creation of new software used in the work; or have drafted the work or substantively revised it; AND has approved the submitted version (and version substantially edited by journal staff that involves the author's contribution to the study); AND agrees to be personally accountable for the author's own contributions and for ensuring that questions related to the accuracy or integrity of any part of the work, even ones in which the author was not personally involved, are appropriately investigated, resolved, and documented in the literature. For research articles with several authors, a short paragraph specifying their individual contributions must be provided. The following statements should be used "Conceptualization, X.X. and Y.Y.; Methodology, X.X.; Software, X.X.; Validation, X.X., Y.Y. and Z.Z.; Formal Analysis, X.X.; Investigation, X.X.; Resources, X.X.; Data Curation, X.X.; Writing – Original Draft Preparation, X.X.; Writing – Review & Editing, X.X.; Visualization, X.X.; Supervision, X.X.; Project Administration, X.X.; Funding Acquisition, Y.Y.", please turn to the **CRediT taxonomy** for the term explanation. For more background on CRediT, see [here](#). **"Authorship must include and be limited to those who have contributed substantially to the work. Please read the section concerning the criteria to qualify for authorship carefully"**.
- **Conflicts of Interest:** Authors must identify and declare any personal circumstances or interest that may be perceived as inappropriately influencing the representation or interpretation of reported research results. If there is no conflict of interest, please state "The authors declare no conflict of interest." Any role of the funding sponsors in the choice of research project; design of the study; in the collection, analyses or interpretation of data; in the writing of the manuscript; or in the decision to publish the results must be declared in this section. *Viruses* does not publish studies funded by the tobacco industry. Any projects funded by pharmaceutical or food industries must pay special attention to the full declaration of funder involvement. If there is no role, please state "The sponsors had no role in the design, execution, interpretation, or writing of the study". For more details please see **Conflict of Interest**.
- **References:** References must be numbered in order of appearance in the text (including table captions and figure legends) and listed individually at the end of the manuscript. We recommend preparing the references with a bibliography software package, such as **EndNote**, **ReferenceManager** or **Zotero** to avoid typing mistakes and duplicated references. We encourage citations to data, computer code and other citable research material. If available online, you may use reference style 9. below.
- Citations and References in Supplementary files are permitted provided that they also appear in the main text and in the reference list.

In the text, reference numbers should be placed in square brackets [ ], and placed before the punctuation; for example [1], [1–3] or [1,3]. For embedded citations in the text with pagination, use both parentheses and brackets to indicate the reference number and page numbers; for example [5] (p. 10). or [6] (pp. 101–105).

The reference list should include the full title, as recommended by the ACS style guide. Style files for **Endnote** and **Zotero** are available.

References should be described as follows, depending on the type of work:

- Journal Articles:  
1. Author 1, A.B.; Author 2, C.D. Title of the article. *Abbreviated Journal Name* **Year**, *Volume*, page range.
- Books and Book Chapters:  
2. Author 1, A.; Author 2, B. *Book Title*, 3rd ed.; Publisher: Publisher Location, Country, Year; pp. 154–196.  
3. Author 1, A.; Author 2, B. Title of the chapter. In *Book Title*, 2nd ed.; Editor 1, A., Editor 2, B., Eds.; Publisher: Publisher Location, Country, Year; Volume 3, pp. 154–196.
- Unpublished work, submitted work, personal communication:  
4. Author 1, A.B.; Author 2, C. Title of Unpublished Work. status (unpublished; manuscript preparation).  
5. Author 1, A.B.; Author 2, C. Title of Unpublished Work. *Abbreviated Journal Name* stage of publication (under review; accepted; in press).  
6. Author 1, A.B. (University, City, State, Country); Author 2, C. (Institute, City, State, Country). Personal communication, Year.
- Conference Proceedings:  
7. Author 1, A.B.; Author 2, C.D.; Author 3, E.F. Title of Presentation. In *Title of the Collected Work* (if available), Proceedings of the Name of the Conference, Location of Conference, Country, Date of Conference; Editor 1, Editor 2, Eds. (if available); Publisher: City, Country, Year (if available); Abstract Number (optional), Pagination (optional).
- Thesis:  
8. Author 1, A.B. Title of Thesis. Level of Thesis, Degree-Granting University, Location of University, Date of Completion.
- Websites:  
9. Title of Site. Available online: URL (accessed on Day Month Year). Unlike published works, websites may change over time or disappear, so we encourage you create an archive of the cited website using a service such as **WebCite**. Archived websites should be cited using the link provided as follows:  
10. Title of Site. URL (archived on Day Month Year). See the **Reference List and Citations Guide** for more detailed information.

## Preparing Figures, Schemes and Tables

- File for Figures and Schemes must be provided during submission in a single zip archive and at a sufficiently high resolution (minimum 1000 pixels width/height, or a resolution of 300 dpi or higher). Common formats are accepted, however, TIFF, JPEG, EPS and PDF are preferred.
- *Viruses* can publish multimedia files in articles or as supplementary materials. Please contact the editorial office for further information.
- All Figures, Schemes and Tables should be inserted into the main text close to their first citation and must be numbered following their number of appearance (Figure 1, Scheme I, Figure 2, Scheme II, Table 1, *etc.*).
- All Figures, Schemes and Tables should have a short explanatory title and caption.
- All table columns should have an explanatory heading. To facilitate the copy-editing of larger tables, smaller fonts may be used, but no less than 8 pt. in size. Authors should use the Table option of Microsoft Word to create tables.

- Authors are encouraged to prepare figures and schemes in color (RGB at 8-bit per channel). There is no additional cost for publishing full color graphics.

## Supplementary Materials, Data Deposit and Software Source Code

### *Data Availability*

In order to maintain the integrity, transparency and reproducibility of research records, authors must make their experimental and research data openly available either by depositing into data repositories or by publishing the data and files as supplementary information in this journal.

### *Computer Code and Software*

For work where novel computer code was developed, authors should release the code either by depositing in a recognized, public repository or uploading as supplementary information to the publication. The name and version of all software used should be clearly indicated.

### *Supplementary Material*

Additional data and files can be uploaded as "Supplementary Files" during the manuscript submission process. The supplementary files will also be available to the referees as part of the peer-review process. Any file format is acceptable, however we recommend that common, non-proprietary formats are used where possible.

### *Unpublished Data*

Restrictions on data availability should be noted during submission and in the manuscript. "Data not shown" should be avoided: authors are encouraged to publish all observations related to the submitted manuscript as Supplementary Material. "Unpublished data" intended for publication in a manuscript that is either planned, "in preparation" or "submitted" but not yet accepted, should be cited in the text and a reference should be added in the References section. "Personal Communication" should also be cited in the text and reference added in the References section. (see also the MDPI reference list and citations style guide).

### *Remote Hosting and Large Data Sets*

Data may be deposited with specialized service providers or institutional/subject repositories, preferably those that use the DataCite mechanism. Large data sets and files greater than 60 MB must be deposited in this way. For a list of other repositories specialized in scientific and experimental data, please consult [databib.org](http://databib.org) or [re3data.org](http://re3data.org). The data repository name, link to the data set (URL) and accession number, doi or handle number of the data set must be provided in the paper. The journal **Data** also accepts submissions of data set papers.

### *Deposition of Sequences and of Expression Data*

New sequence information must be deposited to the appropriate database prior to submission of the manuscript. Accession numbers provided by the database should be included in the submitted manuscript. Manuscripts will not be published until the accession number is provided.

- *New nucleic acid sequences* must be deposited in one of the following databases: GenBank, EMBL, or DDBJ. Sequences should be submitted to only one database.

- *New high throughput sequencing (HTS) datasets* (RNA-seq, ChIP-Seq, degradome analysis, ...) must be deposited either in the GEO database or in the NCBI's Sequence Read Archive.
- *New microarray data* must be deposited either in the GEO or the ArrayExpress databases. The "Minimal Information About a Microarray Experiment" (MIAME) guidelines published by the Microarray Gene Expression Data Society must be followed.
- *New protein sequences* obtained by protein sequencing must be submitted to UniProt (submission tool SPIN).

All sequence names and the accession numbers provided by the databases should be provided in the Materials and Methods section of the article.

#### *References in Supplementary Files*

Citations and References in Supplementary files are permitted provided that they also appear in the reference list of the main text.

## **Research and Publication Ethics**

### **Research Ethics**

#### **Research Involving Human Subjects**

When reporting on research that involves human subjects, human material, human tissues, or human data, authors must declare that the investigations were carried out following the rules of the Declaration of Helsinki of 1975 (<https://www.wma.net/what-we-do/medical-ethics/declaration-of-helsinki/>), revised in 2013. According to point 23 of this declaration, an approval from an ethics committee should have been obtained before undertaking the research. At a minimum, a statement including the project identification code, date of approval, and name of the ethics committee or institutional review board should be cited in the Methods Section of the article. Data relating to individual participants must be described in detail, but private information identifying participants need not be included unless the identifiable materials are of relevance to the research (for example, photographs of participants' faces that show a particular symptom). Editors reserve the right to reject any submission that does not meet these requirements.

Example of an ethical statement: "All subjects gave their informed consent for inclusion before they participated in the study. The study was conducted in accordance with the Declaration of Helsinki, and the protocol was approved by the Ethics Committee of XXX (Project identification code)."

A written informed consent for publication must be obtained from participating patients who can be identified (including by the patients themselves). Patients' initials or other personal identifiers must not appear in any images. For manuscripts that include any case details, personal information, and/or images of patients, authors must obtain signed informed consent from patients (or their relatives/guardians) before submitting to an MDPI journal. Patient details must be anonymized as far as possible, e.g., do not mention specific age, ethnicity, or occupation where they are not relevant to the conclusions. A **template permission form** is available to download. A blank version of the form used to obtain permission (without the patient names or signature) must be uploaded with your submission.

You may refer to our **sample form** and provide an appropriate form after consulting with your affiliated institution. Alternatively, you may provide a detailed justification of why informed consent is not necessary. For the purposes of publishing in MDPI journals, a consent, permission, or release form should include unlimited permission for publication in all formats (including print, electronic, and online), in sublicensed and reprinted versions (including translations and derived works), and in other works and products under open access license. To respect patients' and any other individual's privacy, please do not send signed forms. The journal reserves the right to ask authors to provide signed forms if necessary.

### **Ethical Guidelines for the Use of Animals in Research**

The editors will require that the benefits potentially derived from any research causing harm to animals are significant in relation to any cost endured by animals, and that procedures followed are unlikely to cause offense to the majority of readers. Authors should particularly ensure that their research complies with the commonly-accepted '3Rs':

- Replacement of animals by alternatives wherever possible,
- Reduction in number of animals used, and
- Refinement of experimental conditions and procedures to minimize the harm to animals.

Any experimental work must also have been conducted in accordance with relevant national legislation on the use of animals for research. For further guidance authors should refer to the Code of Practice for the Housing and Care of Animals Used in Scientific Procedures [1].

Manuscripts containing original descriptions of research conducted in experimental animals must contain details of approval by a properly constituted research ethics committee. As a minimum, the project identification code, date of approval and name of the ethics committee or institutional review board should be cited in the Methods section.

*Viruses* endorses the ARRIVE guidelines ([www.nc3rs.org.uk/ARRIVE](http://www.nc3rs.org.uk/ARRIVE)) for reporting experiments using live animals. Authors and reviewers can use the ARRIVE guidelines as a checklist, which can be found at [www.nc3rs.org.uk/ARRIVEchecklist](http://www.nc3rs.org.uk/ARRIVEchecklist).

1. Home Office. Animals (Scientific Procedures) Act 1986. Code of Practice for the Housing and Care of Animals Used in Scientific Procedures. Available online: <http://www.official-documents.gov.uk/document/hc8889/hc01/0107/0107.pdf>.

### **Research Involving Cell Lines**

Methods sections for submissions reporting on research with cell lines should state the origin of any cell lines. For established cell lines the provenance should be stated and references must also be given to either a published paper or to a commercial source. If previously unpublished *de novo* cell lines were used, including those gifted from another laboratory, details of institutional review board or ethics committee approval must be given, and confirmation of written informed consent must be provided if the line is of human origin.

An example of Ethical Statements:

The HCT116 cell line was obtained from XXXX. The MLH1<sup>+</sup> cell line was provided by XXXXX, Ltd. The DLD-1 cell line was obtained from Dr. XXXX. The DR-GFP and SA-GFP

reporter plasmids were obtained from Dr. XXX and the Rad51K133A expression vector was obtained from Dr. XXXX.

### Research Involving Plants

Experimental research on plants (either cultivated or wild) including collection of plant material, must comply with institutional, national, or international guidelines. We recommend that authors comply with the **Convention on Biological Diversity** and the **Convention on the Trade in Endangered Species of Wild Fauna and Flora**.

For each submitted manuscript supporting genetic information and origin must be provided. For research manuscripts involving rare and non-model plants (other than, e.g., *Arabidopsis thaliana*, *Nicotiana benthamiana*, *Oriza sativa*, or many other typical model plants), voucher specimens must be deposited in an accessible herbarium or museum. Vouchers may be requested for review by future investigators to verify the identity of the material used in the study (especially if taxonomic rearrangements occur in the future). They should include details of the populations sampled on the site of collection (GPS coordinates), date of collection, and document the part(s) used in the study where appropriate. For rare, threatened or endangered species this can be waived but it is necessary for the author to describe this in the cover letter.

Editors reserve the rights to reject any submission that does not meet these requirements.

An example of Ethical Statements:

*Torenia fournieri* plants were used in this study. White-flowered Crown White (CrW) and violet-flowered Crown Violet (CrV) cultivars selected from ‘Crown Mix’ (XXX Company, City, Country) were kindly provided by Dr. XXX (XXX Institute, City, Country).

*Arabidopsis* mutant lines (SALKxxxx, SAILxxxx,...) were kindly provided by Dr. XXX , institute, city, country).

### Publication Ethics Statement

*Viruses* is a member of the Committee on Publication Ethics (COPE). We fully adhere to its **Code of Conduct** and to its **Best Practice Guidelines**.

The editors of this journal enforce a rigorous peer-review process together with strict ethical policies and standards to ensure to add high quality scientific works to the field of scholarly publication. Unfortunately, cases of plagiarism, data falsification, image manipulation, inappropriate authorship credit, and the like, do arise. The editors of *Viruses* take such publishing ethics issues very seriously and are trained to proceed in such cases with a zero tolerance policy.

Authors wishing to publish their papers in *Viruses* must abide to the following:

- Any facts that might be perceived as a possible conflict of interest of the author(s) must be disclosed in the paper prior to submission.
- Authors should accurately present their research findings and include an objective discussion of the significance of their findings.
- Data and methods used in the research need to be presented in sufficient detail in the paper, so that other researchers can replicate the work.

- Raw data should preferably be publicly deposited by the authors before submission of their manuscript. Authors need to at least have the raw data readily available for presentation to the referees and the editors of the journal, if requested. Authors need to ensure appropriate measures are taken so that raw data is retained in full for a reasonable time after publication.
- Simultaneous submission of manuscripts to more than one journal is not tolerated.
- Republishing content that is not novel is not tolerated (for example, an English translation of a paper that is already published in another language will not be accepted).
- If errors and inaccuracies are found by the authors after publication of their paper, they need to be promptly communicated to the editors of this journal so that appropriate actions can be taken. Please refer to our **policy regarding publication of publishing addenda and corrections**.
- Your manuscript should not contain any information that has already been published. If you include already published figures or images, please obtain the necessary permission from the copyright holder to publish under the CC-BY license. For further information, see the **Rights and Permissions** page.
- Plagiarism, data fabrication and image manipulation are not tolerated.

- **Plagiarism is not acceptable** in *Viruses* submissions.

Plagiarism includes copying text, ideas, images, or data from another source, even from your own publications, without giving any credit to the original source.

Reuse of text that is copied from another source must be between quotes and the original source must be cited. If a study's design or the manuscript's structure or language has been inspired by previous works, these works must be explicitly cited.

If plagiarism is detected during the peer review process, the manuscript may be rejected. If plagiarism is detected after publication, we may publish a correction or retract the paper.

- **Image files must not be manipulated or adjusted in any way** that could lead to misinterpretation of the information provided by the original image.

Irregular manipulation includes: 1) introduction, enhancement, moving, or removing features from the original image; 2) grouping of images that should obviously be presented separately (e.g., from different parts of the same gel, or from different gels); or 3) modifying the contrast, brightness or color balance to obscure, eliminate or enhance some information.

If irregular image manipulation is identified and confirmed during the peer review process, we may reject the manuscript. If irregular image manipulation is identified and confirmed after publication, we may correct or retract the paper.

Our in-house editors will investigate any allegations of publication misconduct and may contact the authors' institutions or funders if necessary. If evidence of misconduct is found, appropriate action will be taken to correct or retract the publication. Authors

are expected to comply with the best ethical publication practices when publishing with MDPI.

### Citation Policy

Authors should ensure that where material is taken from other sources (including their own published writing) the source is clearly cited and that where appropriate permission is obtained.

Authors should not engage in excessive self-citation of their own work.

Authors should not copy references from other publications if they have not read the cited work.

Authors should not preferentially cite their own or their friends', peers', or institution's publications.

Authors should not cite advertisements or advertorial material.

In accordance with COPE guidelines, we expect that "original wording taken directly from publications by other researchers should appear in quotation marks with the appropriate citations." This condition also applies to an author's own work. COPE have produced a discussion document on **citation manipulation** with recommendations for best practice.

### Reviewer Suggestions

During the submission process, three potential reviewers with the appropriate expertise to review the manuscript should be suggested. The editors may or may not use these referees. Detailed contact information (address, homepage, phone, e-mail address) for suggested reviewers should be provided. The proposed referees should neither be current collaborators of the co-authors nor have published with any of the co-authors of the manuscript within the last five years. Proposed reviewers should be from different institutions to the authors. Appropriate Editorial Board members of the journal can be suggested as potential reviewers.

### English Corrections

To facilitate proper peer-reviewing of your manuscript, it is essential that it is submitted in grammatically correct English. Advice on some specific language points can be found **here**.

If you are not a native English speaker, we recommend that you have your manuscript professionally edited before submission or read by a native English-speaking colleague. This can be carried out by MDPI's **English editing service**. Professional editing will enable reviewers and future readers to more easily read and assess the content of submitted manuscripts. All accepted manuscripts undergo language editing, however **an additional fee will be charged** to authors if very extensive English corrections must be made by the Editorial Office: pricing is according to the service **here**.

### Preprints and Conference Papers

*Viruses* accepts articles that have previously been made available as preprints provided that they have not undergone peer review. A preprint is a draft version of a paper made available online before submission to a journal.

MDPI operates *Preprints*, a preprint server to which submitted papers can be uploaded directly after completing journal submission. Note that *Preprints* operates independently of the journal and posting a preprint does not affect the peer review process. Check the *Preprints* **instructions for authors** for further information.

Expanded and high quality conference papers can be considered as articles if they fulfil the following requirements: (1) the paper should be expanded to the size of a research article; (2) the conference paper should be cited and noted on the first page of the paper; (3) if the authors do not hold the copyright of the published conference paper, authors should seek the appropriate permission from the copyright holder; (4) authors are asked to disclose that it is conference paper in their cover letter and include a statement on what has been changed compared to the original conference paper. *Viruses* does not publish pilot studies or studies with inadequate statistical power.

## Authorship

MDPI follows the International Committee of Medical Journal Editors (**ICMJE**) guidelines which state that, in order to qualify for authorship of a manuscript, the following criteria should be observed:

- Substantial contributions to the conception or design of the work; or the acquisition, analysis, or interpretation of data for the work; AND
- Drafting the work or revising it critically for important intellectual content; AND
- Final approval of the version to be published; AND
- Agreement to be accountable for all aspects of the work in ensuring that questions related to the accuracy or integrity of any part of the work are appropriately investigated and resolved.

Those who contributed to the work but do not qualify for authorship should be listed in the acknowledgements. More detailed guidance on authorship is given by the **International Council of Medical Journal Editors (ICMJE)**.

Any change to the author list should be approved by all authors including any who have been removed from the list. The corresponding author should act as a point of contact between the editor and the other authors and should keep co-authors informed and involve them in major decisions about the publication. We reserve the right to request confirmation that all authors meet the authorship conditions.

## Reviewers Recommendation

Authors can recommend potential reviewers. Journal editors will check to make sure there are no conflict of interests before contacting those reviewers, and will not consider those with competing interests. Reviewers are asked to declare any conflicts of interest. Authors can also enter the names of potential peer reviewers they wish to exclude from consideration in the peer review of their manuscript, during the initial submission progress. The editorial team will respect these requests so long as this does not interfere with the objective and thorough assessment of the submission.

## Editors and Journal Staff as Authors

Editorial independence is extremely important and MDPI does not interfere with editorial decisions.

Editorial staff or editors shall not be involved in the processing their own academic work. Submissions authored by editorial staff/editors will be assigned to at least two independent outside reviewers. Decisions will be made by other editorial board members who do not have conflict of interests with the author. Journal staff are not involved in the processing of their own work submitted to any MDPI journals.

### **Conflict of Interests**

According to The International Committee of Medical Journal Editors, “Authors should avoid entering into agreements with study sponsors, both for-profit and non-profit, that interfere with authors’ access to all of the study’s data or that interfere with their ability to analyze and interpret the data and to prepare and publish manuscripts independently when and where they choose.”

All authors must disclose all relationships or interests that could inappropriately influence or bias their work. Examples of potential conflicts of interest include but are not limited to financial interests (such as membership, employment, consultancies, stocks/shares ownership, honoraria, grants or other funding, paid expert testimonies and patent-licensing arrangements) and non-financial interests (such as personal or professional relationships, affiliations, personal beliefs).

Authors can disclose potential conflicts of interest via the online submission system during the submission process. Declarations regarding conflicts of interest can also be collected via the **MDPI disclosure form**. The corresponding author must include a summary statement in the manuscript in a separate section “Conflicts of Interest” placed just before the reference list. The statement should reflect all the collected potential conflict of interest disclosures in the form.

See below for examples of disclosures:

Conflicts of Interest: Author A has received research grants from Company A. Author B has received a speaker honorarium from Company X and owns stocks in Company Y. Author C has been involved as a consultant and expert witness in Company Z. Author D is the inventor of patent X.

If no conflicts exist, the authors should state:

Conflicts of Interest: The authors declare no conflicts of interest.

### **Editorial Procedures and Peer-Review**

#### *Initial Checks*

All submitted manuscripts received by the Editorial Office will be checked by a professional in-house *Managing Editor* to determine whether they are properly prepared and whether they follow the ethical policies of the journal, including those for human and animal experimentation. Manuscripts that do not fit the journal's ethics policy or do not meet the standards of the journal will be rejected before peer-review. Manuscripts that are not properly prepared will be returned to the authors for revision and resubmission. After these checks, the *Managing Editor* will consult the journals’ *Editor-in-Chief* or *Associate Editors* to

Once a manuscript passes the initial checks, it will be assigned to at least two independent experts for peer-review. A single-blind review is applied, where authors' identities are known to reviewers. Peer review comments are confidential and will only be disclosed with the express agreement of the reviewer.

Optional Open Peer-Review

### *Editorial Decision and Revision*

- *Accept* *after* *Minor* *Revisions:*  
The paper is in principle accepted after revision based on the reviewer's comments. Authors are given five days for minor revisions.
- *Reconsider* *after* *Major* *Revisions:*  
The acceptance of the manuscript would depend on the revisions. The author needs to provide a point by point response or provide a rebuttal if some of the reviewer's comments cannot be revised. Usually, only one round of major revisions is allowed. Authors will be asked to resubmit the revised paper within a suitable time frame, and the revised version will be returned to the reviewer for further comments.
- *Reject* *and* *Encourage* *Resubmission:*  
If additional experiments are needed to support the conclusions, the manuscript will be rejected and the authors will be encouraged to re-submit the paper once further experiments have been conducted.
- *Reject:*  
The article has serious flaws, and/or makes no original significant contribution. No offer of resubmission to the journal is provided.

All reviewer comments should be responded to in a point-by-point fashion. Where the authors disagree with a reviewer, they must provide a clear response.

#### *Author Appeals*

Authors may appeal a rejection by sending an e-mail to the Editorial Office of the journal. The appeal must provide a detailed justification, including point-by-point responses to the reviewers' and/or Editor's comments. The *Managing Editor* of the journal will forward the manuscript and related information (including the identities of the referees) to the Editor-in-Chief, Associate Editor, or Editorial Board member. The academic Editor being consulted will be asked to give an advisory recommendation on the manuscript and may recommend acceptance, further peer-review, or uphold the original rejection decision. A reject decision at this stage is final and cannot be reversed.

In the case of a special issue, the *Managing Editor* of the journal will forward the manuscript and related information (including the identities of the referees) to the *Editor-in-Chief* who will be asked to give an advisory recommendation on the manuscript and may recommend acceptance, further peer-review, or uphold the original rejection decision. A reject decision at this stage will be final and cannot be reversed.

#### *Production and Publication*

Once accepted, the manuscript will undergo professional copy-editing, English editing, proofreading by the authors, final corrections, pagination, and, publication on the **www.mdpi.com** website.

### **Clinical Trials Registration**

#### *Registration*

Authors are strongly encouraged to pre-register clinical trials with an international clinical trials register or and to cite a reference to the registration in the Methods section. Suitable databases include **clinicaltrials.gov**, the **EU Clinical Trials Register** and those listed by the World Health Organisation **International Clinical Trials Registry Platform**.

#### *CONSORT Statement*

*Viruses* requires a completed CONSORT 2010 **checklist** and **flow diagram** as a condition of submission when reporting the results of a randomized trial. Templates for these can be found here or on the CONSORT website (<http://www.consort-statement.org>) which also describes several CONSORT checklist extensions for different designs and types of data beyond two group parallel trials. At minimum, your article should report the content addressed by each item of the checklist. Meeting these basic reporting requirements will greatly improve the value of your trial report and may enhance its chances for eventual publication.

## ANEXO C – COMPROVANTE DE ACEITE EIA

**Fwd: 35º EIA - Resultado de trabalho**

1 mensagem

**Leonardo Gleygson** <contatolgleygson@outlook.com>  
Para: "delgado.lais@gmail.com" <delgado.lais@gmail.com>

21 de abril de 2020 20:19

Enviado do meu iPhone

Início da mensagem encaminhada:

**De:** 35º EIA <cientifico@tribecaeventos.com.br>  
**Data:** 4 de fevereiro de 2020 12:51:56 BRT  
**Assunto:** 35º EIA - Resultado de trabalho



São Paulo, 04 de fevereiro de 2020.

Prezado(a) **LEONARDO GLEYGSON ANGELO VENÂNCIO**,

A Academia Brasileira de Audiologia tem grande satisfação em informar que o seu trabalho intitulado **"FREQUENCY FOLLOWING RESPONSE: ANÁLISE TEMPORAL DAS RESPOSTAS EVOCADAS AUDITIVAS EM CRIANÇAS INFECTADAS PELO ZIKA VÍRUS COM E SEM MICROCEFALIA"** foi recomendado pela Comissão Científica para concorrer a Prêmio no 35º Encontro Internacional de Audiologia, a ser realizado de 19 - 21 de março de 2020, no Centro de Convenções Frei Caneca em São Paulo - SP.

A apresentação será na modalidade pôster e as orientações estarão disponíveis em breve no site <http://www.audiologiabrasil.org.br/eia/>.

Lembramos que o apresentador(a) do pôster obrigatoriamente deve ser um dos autores e estar inscrito no evento conforme normas. Cada apresentador (a) será responsável por suas despesas para participação no evento. A confirmação da participação se dará mediante pagamento da taxa de inscrição que deverá ser realizada até o dia **07/02/2020**. O **NÃO** pagamento da inscrição até a data informada, implicará na exclusão do trabalho da lista de apresentações.

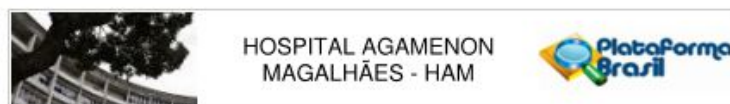
O certificado será emitido com o título do trabalho e os nomes dos autores, conforme cadastrado no momento da submissão, estando disponível para impressão no site <http://www.audiologiabrasil.org.br/eia/> 30 dias após o congresso. Os certificados serão emitidos somente para trabalhos apresentados.

Dúvidas e informações adicionais: Departamento científico, e-mail: [cientifico@tribecaeventos.com.br](mailto:cientifico@tribecaeventos.com.br) ou pelo telefone (51) 99702-1511.

Atenciosamente,

Comissão científica 35º EIA

## ANEXO D – PARECER COMITÊ DE ÉTICA



### PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

#### DADOS DA EMENDA

**Título da Pesquisa:** AVALIAÇÃO AUDIOLÓGICA E DO COMPORTAMENTO COMUNICATIVO DE CRIANÇAS COM SUSPEITA INFECÇÃO CONGÊNITA POR ZIKA VÍRUS

**Pesquisador:** Mariana de Carvalho Leal Gouveia

**Área Temática:**

**Versão:** 2

**CAAE:** 54085516.5.0000.5197

**Instituição Proponente:** Hospital Agamenon Magalhães - HAM

**Patrocinador Principal:** Financiamento Próprio

#### DADOS DO PARECER

**Número do Parecer:** 3.072.730

#### Apresentação do Projeto:

INCLUSÃO DOS ASPECTOS COMUNICATIVOS NO PROJETO "AVALIAÇÃO AUDIOLÓGICA E DE CRIANÇAS COM SUSPEITA INFECÇÃO CONGÊNITA POR ZIKA VÍRUS"

#### Objetivo da Pesquisa:

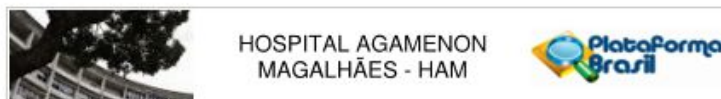
Trata-se de Emenda com justificativa PARA INCLUSÃO DOS ASPECTOS COMUNICATIVOS NO PROJETO "AVALIAÇÃO AUDIOLÓGICA E DE CRIANÇAS COM SUSPEITA INFECÇÃO CONGÊNITA POR ZIKA VÍRUS"

1. Durante a realização da pesquisa, observou-se que algumas crianças apresentam perda auditiva e, conseqüentemente, apresentarão alterações relacionadas ao desenvolvimento da linguagem oral, as quais poderão ser identificadas a partir dos marcos do comportamento comunicativo.
2. Mesmo as crianças que não apresentaram perda auditiva, observouse um padrão de comportamento comunicativo restrito em função das comorbidades associadas à infecção.
3. A intervenção precoce é um importante aliado na minimização das sequelas, podendo proporcionar uma melhor qualidade de vida ao paciente e seus familiares.

**Endereço:** Estrada do Arraial, 2723  
**Bairro:** Prédio Anexo a Emergência Geral  
**UF:** PE **Município:** RECIFE  
**Telefone:** (81)3184-1769

**CEP:** 52.051-380

**E-mail:** cepham@hotmail.com



Continuação do Parecer: 3.072.730

4. A partir da caracterização do comportamento comunicativo desse grupo, será possível propor alternativas de tratamento de acordo com as suas necessidades e possibilidades.

5. Há poucos estudos na literatura que tenham investigado os aspectos do comportamento comunicativo de crianças com suspeita infecção congênita por Zika vírus.

**Avaliação dos Riscos e Benefícios:**

Apresentados de forma adequada

**Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:**

Estudo de relevância dada a escassez de dados em literatura em relação a este patologia

**Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:**

adequados

**Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:**

sem pendências

**Considerações Finais a critério do CEP:**

Diante do exposto em Reunião Extraordinária deste Comitê, conclui-se pela aprovação da referida Emenda.

O pleito acompanhou Parecer do Relator e liberamos em conformidade com as atribuições definidas na Resolução 466/12, suas complementares e Normativas em vigor.

**Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:**

| Tipo Documento                            | Arquivo                                | Postagem               | Autor                               | Situação |
|-------------------------------------------|----------------------------------------|------------------------|-------------------------------------|----------|
| Informações Básicas do Projeto            | PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_100835_1_E1.pdf | 31/10/2018<br>10:34:07 |                                     | Aceito   |
| Outros                                    | JUSTIFICATIVA.pdf                      | 31/10/2018<br>10:31:28 | Mariana de Carvalho<br>Leal Gouveia | Aceito   |
| Projeto Detalhado / Brochura Investigador | PROJETO_ZIKA_MODIFICADO.pdf            | 31/10/2018<br>10:31:18 | Mariana de Carvalho<br>Leal Gouveia | Aceito   |
| Projeto Detalhado / Brochura Investigador | PROJETOZIKA.pdf                        | 10/03/2016<br>23:42:36 | Mariana de Carvalho<br>Leal Gouveia | Aceito   |
| Outros                                    | LattesCrisMarcela.pdf                  | 10/03/2016<br>23:40:57 | Mariana de Carvalho<br>Leal Gouveia | Aceito   |

**Endereço:** Estrada do Arraial, 2723

**Bairro:** Prédio Anexo a Emergência Geral

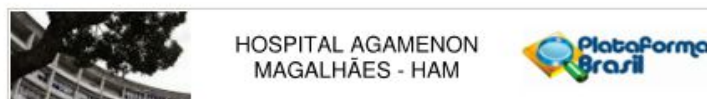
**UF:** PE

**Município:** RECIFE

**CEP:** 52.061-380

**Telefone:** (81)3184-1769

**E-mail:** cepham@hotmail.com

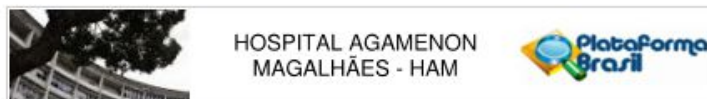


Continuação do Parecer: 3.072.730

|                                                           |                               |                        |                                     |        |
|-----------------------------------------------------------|-------------------------------|------------------------|-------------------------------------|--------|
| Declaração de Pesquisadores                               | Confidencialidadecompleto.pdf | 09/03/2016<br>08:59:24 | Mariana de Carvalho<br>Leal Gouveia | Aceito |
| TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência | TCLE.pdf                      | 08/03/2016<br>00:42:02 | Mariana de Carvalho<br>Leal Gouveia | Aceito |
| Projeto Detalhado / Brochura Investigador                 | PROJETO.pdf                   | 08/03/2016<br>00:41:43 | Mariana de Carvalho<br>Leal Gouveia | Aceito |
| Cronograma                                                | CRONOGRAMADETALHADO.pdf       | 08/03/2016<br>00:29:59 | Mariana de Carvalho<br>Leal Gouveia | Aceito |
| Outros                                                    | lattesTAMIREs.pdf             | 08/03/2016<br>00:17:10 | Mariana de Carvalho<br>Leal Gouveia | Aceito |
| Outros                                                    | LATTESSILVIOALDAS.pdf         | 08/03/2016<br>00:16:49 | Mariana de Carvalho<br>Leal Gouveia | Aceito |
| Outros                                                    | LATTESREBEKA.pdf              | 08/03/2016<br>00:16:03 | Mariana de Carvalho<br>Leal Gouveia | Aceito |
| Declaração de Instituição e Infraestrutura                | AUTORIZACAOHAM.pdf            | 08/03/2016<br>00:09:32 | Mariana de Carvalho<br>Leal Gouveia | Aceito |
| Outros                                                    | LATTESLILIAN.pdf              | 08/03/2016<br>00:07:18 | Mariana de Carvalho<br>Leal Gouveia | Aceito |
| Outros                                                    | LATTESMARIANA.pdf             | 08/03/2016<br>00:06:16 | Mariana de Carvalho<br>Leal Gouveia | Aceito |
| Declaração de Instituição e Infraestrutura                | Carta_hc.pdf                  | 08/03/2016<br>00:03:06 | Mariana de Carvalho<br>Leal Gouveia | Aceito |
| Declaração de Instituição e Infraestrutura                | Anuencia.pdf                  | 18/02/2016<br>22:54:34 | Mariana de Carvalho<br>Leal Gouveia | Aceito |
| Folha de Rosto                                            | Folha_rosto.pdf               | 18/02/2016<br>22:53:05 | Mariana de Carvalho<br>Leal Gouveia | Aceito |
| Orçamento                                                 | ORCAMENTO.pdf                 | 18/02/2016<br>04:23:53 | Mariana de Carvalho<br>Leal Gouveia | Aceito |

**Situação do Parecer:**  
Aprovado

**Endereço:** Estrada do Arraial, 2723  
**Bairro:** Prédio Anexo a Emergência Geral  
**UF:** PE **Município:** RECIFE  
**Telefone:** (81)3184-1769 **E-mail:** cepham@hotmail.com



Continuação do Parecer: 3.072.730

**Necessita Apreciação da CONEP:**

Não

RECIFE, 11 de Dezembro de 2018

---

Assinado por:  
**CARLOS ALBERTO SÁ MARQUES**  
(Coordenador(a))

**Endereço:** Estrada do Arraial, 2723  
**Bairro:** Prédio Anexo a Emergência Geral  
**UF:** PE      **Município:** RECIFE  
**Telefone:** (81)3184-1769      **CEP:** 52.051-380  
**E-mail:** capham@hotmail.com