

Caracterização do potencial evocado auditivo de tronco encefálico em recém-nascidos infectados pelo Zika vírus

Characterization of auditory brainstem response in newborns infected by Zika virus

Raquel Fátima Arruda Nogueira¹ , Priscila de Araújo Lucas^{1,2} , Rachel Rocha Cintra¹ , Gabriela Coelho Pereira De Luccia Dutra¹ , Thalita Mara de Oliveira² 

RESUMO

Objetivo: Caracterizar as avaliações seqüenciais do potencial evocado auditivo de tronco encefálico em recém-nascidos infectados pelo Zika vírus, correlacionando com a presença de microcefalia e com os sintomas de Zika nas mães durante a gestação. **Métodos:** Estudo descritivo, longitudinal e quantitativo, do qual participaram 20 recém-nascidos, filhos de mães infectadas pelo Zika vírus no período gestacional. Foram analisados os prontuários desses bebês, que passaram por duas avaliações eletrofisiológicas, uma no primeiro mês de vida e outra, após 6 meses. Os dados comparativos foram tabulados e analisados por meio de estatística descritiva e inferencial. **Resultados:** Setenta por cento dos bebês apresentaram microcefalia e 55% das mães tiveram os sintomas da infecção pelo Zika no primeiro trimestre de gestação. Não houve alteração significativa dos limiares eletrofisiológicos em nenhum dos momentos. Houve mudança estatisticamente significativa, principalmente das latências das ondas III e V, entre os exames, caracterizando maturação da via auditiva nos bebês. Não foi encontrada correlação entre a microcefalia e alterações nas latências do PEATE. **Conclusão:** Bebês portadores de Zika apresentaram limiares eletrofisiológicos dentro da normalidade e diminuição das latências absolutas das ondas III e V e interpicos, confirmando a ação citotóxica do Zika. Houve dois casos de piora significativa do limiar eletrofisiológico. Não foi observada correlação entre resultados do PEATE e época de aparecimento dos sintomas durante a gestação, ou a presença de microcefalia.

Palavras-chave: Audição; Recém-nascido; Zika vírus; Microcefalia; Eletrofisiologia

ABSTRACT

Purpose: To characterize sequential assessments of auditory brainstem responses in newborns infected by Zika virus, correlating with presence of microcephaly and with Zika virus symptoms in mothers during pregnancy. **Methods:** A descriptive, longitudinal and quantitative study, in which 20 newborns, children of mothers infected by Zika virus during pregnancy, participated. Medical records of these babies were analyzed, and they underwent two electrophysiological assessments, one in the first month of life and the other, after 6 months. Comparative data were tabulated and analyzed using descriptive and inferential statistics. **Results:** Seventy percent of babies had microcephaly and 55% of mothers had symptoms of Zika infection in the first trimester of pregnancy. There was no significant alteration in electrophysiological thresholds at any moments. There was a statistically significant change, mainly in the latencies of waves III and V, between the tests, characterizing maturation of the auditory pathway in babies. No correlation was found between microcephaly and changes in ABR latencies. **Conclusion:** Babies with Zika had normal electrophysiological thresholds and decreased absolute latencies of waves III and V and interpeaks, confirming the cytotoxic action of Zika. There were two cases of significant worsening of the electrophysiological threshold. There was no correlation between ABR results and time of onset of the symptoms during pregnancy, or presence of microcephaly.

Keywords: Hearing; Newborn; Zika virus; Microcephaly; Electrophysiology

Trabalho realizado no Hospital Universitário Júlio Muller – HUJM, Universidade Federal de Mato Grosso – UFMT – Cuiabá (MT), Brasil, pelos acadêmicos e docentes do Curso de Fonoaudiologia, Centro Universitário de Várzea Grande – UNIVAG – Cuiabá (MT), Brasil.

¹Centro Universitário de Várzea Grande – UNIVAG – Cuiabá (MT), Brasil.

²Hospital Universitário Júlio Muller – HUJM, Universidade Federal de Mato Grosso – UFMT – Cuiabá (MT), Brasil.

Conflito de interesses: Não.

Contribuição dos autores: RFAN realizou a revisão da literatura, contato com as mães para realização das coletas, análise dos prontuários e dos PEATE, discussão dos dados e redação do artigo; PAL orientadora do estudo, realizou a coleta dos dados por meio dos PEATE, definiu critérios de inclusão e exclusão, acompanhou a análise e discussão dos dados e a escrita do artigo; RRC coorientadora do estudo, realizou a correção e formatação do texto, deu suporte na revisão de literatura, apoiou a tradução para o inglês, auxiliou na análise e discussão dos dados e na redação do artigo; GCPLD realizou a correção e formatação do texto, deu suporte na revisão de literatura, auxiliou na análise e discussão dos dados e na redação do artigo; TMO realizou atendimento como médica infectologista pediátrica, solicitando e analisando os exames de confirmação de sorologia do Zika vírus e encaminhando os pacientes para o PEATE.

Financiamento: Nada a declarar.

Autor correspondente: Priscila de Araújo Lucas. E-mail: prilucas@hotmail.com

Recebido: Março 11, 2020; **Aceito:** Agosto 04, 2020

INTRODUÇÃO

O Zika vírus (ZIKV) é um arbovírus transmitido no Brasil pelo mosquito *Aedes* (i.e. *Aedes Aegypti* e *Aedes Albopictus*)⁽¹⁾.

Entre outubro de 2014 e março de 2015, os nove estados da Região Nordeste do Brasil notificaram a ocorrência de uma síndrome exantemática, que foi relacionada ao ZIKV após sua detecção em amostras de sangue de pacientes com sintomas semelhantes aos da dengue. Em maio de 2015, confirmou-se a transmissão autóctone do ZIKV no Brasil, levando o país ao maior número de casos positivos para a síndrome congênita associada infecção pelo vírus Zika (SCZ) na América Latina⁽¹⁾.

Segundo o Boletim Epidemiológico divulgado pelo Ministério da Saúde⁽²⁾, entre novembro de 2015 e setembro de 2019, no estado do Mato Grosso, foram identificados 465 casos suspeitos, dos quais 80 foram confirmados e 106 ainda estão em investigação. No Brasil, no mesmo período, foram registrados 3.483 casos confirmados de SCZ.

Em outubro de 2015, concomitante ao surto da SCZ no Brasil, ocorreu um aumento de casos de microcefalia em recém-nascidos (RN), segundo relatos de médicos do Rio Grande do Norte⁽¹⁾. Tal fato fez com que o Ministério da Saúde levantasse suspeita de uma possível relação entre a SCZ e malformações do sistema nervoso central (SNC)⁽¹⁾. Após consolidadas importantes evidências que sustentavam esse fato, em novembro de 2015, o Ministério da Saúde reconheceu a relação entre a presença da SCZ e a ocorrência de microcefalia, que é a medida da circunferência cefálica ao nascer, menor ou igual a dois desvios padrões abaixo da média para a idade gestacional e sexo da criança^(3,4).

Além da microcefalia, estudos apontaram outras manifestações clínicas atribuídas à SCZ, dentre as quais, as alterações auditivas, que também podem ocorrer como consequência da própria microcefalia⁽⁴⁻⁶⁾.

Órgãos nacionais e internacionais^(7,8), preconizam a microcefalia e a SCZ como indicadores de risco para deficiência auditiva (IRDA). A triagem auditiva neonatal (TAN) tem por finalidade a identificação precoce da deficiência auditiva em neonatos e lactentes. Em crianças com IRDA, a TAN é realizada por meio dos potenciais evocados auditivos de tronco encefálico (PEATE), devido à maior prevalência de perdas auditivas retrococleares, que não são identificadas pelo exame de otoemissões acústicas (OEA)⁽⁸⁾.

Perdas auditivas retrococleares são caracterizadas por afecções do nervo auditivo, que fazem com que as informações processadas corretamente pela orelha interna não sejam adequadamente transmitidas na forma de impulsos elétricos para o cérebro⁽⁹⁾. Recente estudo revelou presença de alterações auditivas em recém-nascidos (RN) que foram expostos ao ZIKV em algum período da gestação, relacionando a perda da audição a uma das alterações neurosensoriais que compõem a SZC⁽⁵⁾.

Infecções virais são causadoras de até 40% de todas as perdas auditivas congênitas, mas podem acarretar, também, perdas auditivas tardias. Tipicamente, as perdas auditivas induzidas por viroses são sensorioneurais, com graus variando entre moderado e profundo. Indivíduos afetados pelo vírus Herpes Zóster podem apresentar alterações auditivas sensorioneurais de origem retrocolear⁽¹⁰⁾. Um estudo observou que crianças com toxoplasmose, entre 1 e 3 meses, são cinco vezes mais propícias a apresentar alteração no PEATE, do que crianças da mesma faixa de idade, sem a infecção⁽¹¹⁾. Até o momento,

alguns estudos que avaliaram a função auditiva de crianças com SCZ, por meio do PEATE, foram publicados, mas ainda não há consenso em relação às sequelas auditivas da Zika congênita^(4,12,13).

A existência de casos de RN com SCZ no Hospital Universitário Julio Müller (HUJM) e a constatação de que o ZIKV pode trazer consequências neurológicas e auditivas para esses bebês motivou a necessidade de se realizar um estudo que buscasse caracterizar os achados audiológicos do PEATE, que é uma importante ferramenta no diagnóstico de perdas auditivas retrococleares nessa população.

Dessa forma, o objetivo deste estudo foi caracterizar os achados do PEATE, entre o nascimento e os 6 meses de vida, em recém-nascidos com SCZ, correlacionando, ou não, com a presença de microcefalia e com os sintomas de Zika nas mães, durante a gestação.

MÉTODO

O presente estudo foi realizado após aprovação pelo Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) do HUJM, sob o número 2.112.529. Os participantes do estudo foram dispensados da assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE), pelo CEP, pois a coleta foi baseada na análise dos resultados dos exames nos prontuários.

Trata-se de estudo descritivo, longitudinal e quantitativo, realizado nos anos de 2016 e 2017, no Hospital Universitário Júlio Müller (HUJM), filiado à Universidade Federal do Mato Grosso, localizado no município de Cuiabá (MT). O HUJM é uma das referências no estado do Mato Grosso no diagnóstico e acompanhamento dos pacientes infectados pelo ZIKV, para onde as mães com suspeita de infecção pelo ZIKV, na gestação, são encaminhadas pela rede básica de saúde, a fim de que, após o parto, seus RN sejam submetidos a exame de neuroimagem e avaliados por uma equipe multiprofissional, composta por médico infectopediatra, neuropediatra, oftalmologista e fonoaudióloga audiológica.

Foram analisados prontuários de RN do estado de Mato Grosso, de ambos os sexos, nascidos a termo, cujas mães referiram suspeita de infecção pelo ZIKV no período gestacional, com sorologia positiva para ZIKV, com ou sem microcefalia e que passaram por avaliação audiológica por meio do PEATE nos primeiros 30 dias de vida (avaliação inicial) e aos 6 meses de idade (avaliação sequencial).

Os exames utilizados para identificação do vírus nesses RN foram os estabelecidos por protocolos publicados pelo Ministério da Saúde: a *polymerase chain reaction* (PCR – reação em cadeia de polimerase), indicada para a detecção do vírus nos primeiros dias da doença materna, durante a gestação, caso a mãe tenha apresentado sintomas sugestivos da infecção pelo ZIKV; o teste sorológico da imunoglobulina M (IgM), que identifica anticorpos na corrente sanguínea, durante a fase inicial da infecção pelo ZIKV, com média de duração de cinco semanas a cinco meses no soro, do paciente infectado e o teste da imunoglobulina G (IgG), para verificar se a pessoa já teve contato com o Zika em algum momento da vida⁽⁷⁾. O diagnóstico de microcefalia, por sua vez, foi realizado por médico pediatra, ou infectopediatra ou neuropediatra, segundo as diretrizes da OMS⁽³⁾.

Foram excluídos do estudo prontuários de neonatos síndromicos; de neonatos com sorologia positiva para outras viroses como sífilis, rubéola, herpes, toxoplasmose e HIV; de

neonatos prematuros; de RN com histórico familiar de perda auditiva; de bebês que foram expostos a ototóxicos; daqueles que não compareceram ao segundo PEATE e de bebês com alteração condutiva nos PEATE, alteração essa caracterizada pelo aumento das latências absolutas das ondas I, III e V, com limiares eletrofisiológicos normais ou alterados.

Em um primeiro momento, foram analisados 56 prontuários de RN, cujas mães tinham suspeita clínica de terem contraído o ZIKV na gestação. Foram, então, recrutados 20 prontuários dos bebês selecionados dentro dos critérios de elegibilidade para o estudo. Essa análise permitiu checar o histórico dos RN selecionados, bem como os resultados das duas TAN realizadas, conforme diretrizes recomendadas pelo *Joint Committee on Infant Hearing (JCIH)*⁽⁸⁾, uma nos trinta primeiros dias de vida e outra, 6 meses depois, para os bebês com IRDA.

Os exames foram realizados em uma sala do HJUM, devidamente equipada e eletricamente preparada para o procedimento, de acordo com critérios predefinidos pelo serviço. Os PEATE foram obtidos com os RN em sono natural, a pele limpa com pasta abrasiva Nuprep® e utilização o gel condutor Pasta Ten 20® para fixação dos eletrodos na seguinte ordem: eletrodo ativo na parte superior da frente, próximo à implantação do cabelo; eletrodos de referência nas mastoídes direita e esquerda e eletrodo terra lateralmente, na frente, de acordo com o Sistema Internacional 10-20. A impedância entre os eletrodos permaneceu abaixo de 5 Ohms.

Os PEATE foram realizados com o equipamento modelo MEB 9400K, marca Nihon Kohden®, iniciando a pesquisa com o estímulo clique na polaridade rarefeita, em 80 dBnHL, buscando verificar a integridade neurofisiológica da via auditiva, para análise das latências absolutas das ondas I, III, V e das latências interpícos I-III; III-V; I-V. A seguir, foi realizada a pesquisa do limiar eletrofisiológico com o estímulo acústico clique, inicialmente, na intensidade de 80 dBnHL, diminuindo gradativamente de 20 em 20 dB, até a onda V não ser mais visualizada. Depois disso, a intensidade foi aumentada de 10 em 10 dB, até se obter a menor intensidade na qual a onda V apareceu em menor amplitude, sendo este ponto considerado o limiar eletrofisiológico. O estímulo apresentado foi o clique com polaridade rarefeita, velocidade de apresentação de 27,1 cliques por segundo e janela de gravação de 12 ms, com filtro passa-banda de 100 Hz e 3000 Hz. Para a análise do traçado gerado, um total de 1000 cliques foi apresentado duas vezes, para que se pudesse observar reprodutibilidade entre os traçados. A marcação dos picos das ondas I, III e V foi realizada de forma conjunta e simultânea, por dois examinadores experientes, que avaliaram os pacientes. O padrão adotado para o equipamento utilizado foi obtido por Rosa et al.⁽¹⁴⁾.

Após o levantamento dos dados das duas avaliações, foi feita uma comparação entre os resultados dos dois exames de cada bebê. Os dados comparativos foram tabulados e analisados por meio de estatística descritiva e inferencial. Os testes utilizados foram o teste de igualdade de duas proporções, Wilcoxon, Qui-Quadrado e Mann-Whitney, sendo em todos adotado o nível de significância de 5% (p-valor de 0,05).

RESULTADOS

No presente estudo, foram avaliados 20 RN infectados pelo ZIKV, sendo 12 (60%) do gênero feminino e 8 (40%) do gênero masculino. Foram utilizados testes estatísticos não

paramétricos, pois a normalidade das variáveis quantitativas de desfecho principal foram testadas por meio do teste de Kolmogorov-Smirnov (KS), chegando-se à conclusão de que não existiu distribuição de normalidade assegurada.

Na Tabela 1 estão representados os resultados encontrados para a época de aparecimento dos sintomas de infecção pelo ZIKV nas mães, presença ou não de microcefalia no RN e distribuição de gênero na amostra. O teste de igualdade de duas proporções revelou significância estatística na distribuição das variáveis época de aparecimento dos sintomas (p=0,002) e presença de microcefalia (p=0,011).

A Tabela 2 retrata a análise descritiva das variáveis analisadas no potencial evocado de tronco encefálico durante as avaliações iniciais e sequenciais.

A Tabela 3 refere-se à comparação quantitativa entre as latências absolutas, latências interpícos, diferença interaural do intervalo I-V e diferença interaural da latência da onda V, além do limiar eletrofisiológico entre a avaliação inicial e sequencial do PEATE dos RN. Como os dados são pareados (quando o mesmo sujeito é pesquisa e controle dele mesmo), foram excluídos os casos em que não existiram respostas para ambos os momentos. Essa exclusão (somente nesta análise) foi feita variável por variável. Utilizou-se, assim, o teste de Wilcoxon.

Na Tabela 4, é demonstrada a comparação dos percentuais dos resultados qualitativos das latências absolutas, latências interpícos, diferença interaural do intervalo I-V e da latência absoluta da onda V do PEATE, na avaliação inicial e sequencial, por meio do teste de igualdade de duas proporções. Os resultados das latências foram nomeados como ausente, aumentado, diminuído ou preservado. Vale salientar que, por não haver neste estudo um grupo controle, os valores encontrados foram preservados pela faixa etária, usando critério de referência estabelecido na literatura⁽¹⁴⁾.

Na Tabela 5, está representada a relação entre a média dos limiares eletrofisiológicos nos exames iniciais e sequenciais com a microcefalia e a época de aparecimento dos sintomas. O teste Mann-Whitney revelou que não houve relação estatisticamente significativa entre as variáveis.

Para a relação entre as latências absolutas, interpícos, diferença interaural do intervalo I-V e da latência absoluta da onda V com a microcefalia e a época de aparecimento dos sintomas nas gestantes, respectivamente, o teste de Qui-Quadrado não mostrou relação estatisticamente significativa.

Tabela 1. Caracterização da amostra

Época dos sintomas na mãe	N	%	P-valor
1º Trim	11	55,00%	Ref.
2º Ttim	2	10,00%	0,002
3º Trim	2	10,00%	0,002
NS	4	20,00%	0,022
SS	1	5,00%	<0,001
Microcefalia	N	%	P-valor
Não	6	30,00%	0,011
Sim	14	70,00%	
Sexo	N	%	P-valor
Feminino	12	60,00%	0,206
Masculino	8	40,00%	

Teste de igualdade de duas proporções

Legenda: SS = sem sintomas; NS = não soube informar; N = número de sujeitos; % = percentual; Trim = trimestre; Ref = referência

Tabela 2. Análise descritiva das latências absolutas, interpicos e limiar eletrofisiológico da avaliação inicial e sequencial

		Média	Mediana	Desvio Padrão	N
Avaliação Inicial	I (OD)	1,59	1,6	0,11	20
	I (OE)	1,57	1,6	0,13	19
	III (OD)	4,24	4,2	0,29	20
	III (OE)	4,22	4,15	0,27	20
	V (OD)	6,45	6,45	0,36	20
	V (OE)	6,48	6,5	0,45	20
	I-III (OD)	2,6	2,55	0,26	20
	I-III (OE)	2,57	2,5	0,29	19
	III-V (OD)	2,2	2,2	0,25	20
	III-V (OE)	2,23	2,15	0,29	20
	I-V (OD)	4,84	4,9	0,32	20
	I-V (OE)	4,8	4,9	0,35	19
	LIMIAR (OD)	36,5	30	10,4	20
	LIMIAR (OE)	37,5	30	14,1	20
Avaliação Sequencial	DIFERENÇA INTERAURAL - V	0,16	0,1	0,239	20
	DIFERENÇA INTERAURAL I-V	0,095	0,1	0,091	19
	I (OD)	1,57	1,6	0,1	19
	I (OE)	1,55	1,6	0,12	18
	III (OD)	3,84	3,9	0,23	19
	III (OE)	3,83	3,9	0,2	18
	V (OD)	5,85	5,9	0,27	19
	V (OE)	5,81	5,85	0,25	18
	I-III (OD)	2,22	2,2	0,21	19
	I-III (OE)	2,22	2,3	0,23	18
	III-V (OD)	1,97	2	0,14	19
	III-V (OE)	1,95	1,9	0,13	18
	I-V (OD)	4,24	4,2	0,22	19
	I-V (OE)	4,23	4,2	0,25	18
LIMIAR (OD)	36,3	30	10,1	19	
LIMIAR (OE)	33,9	30	5	18	
DIFERENÇA INTERAURAL - V	0,122	0,1	0,088	18	
DIFERENÇA INTERAURAL I-V	0,1	0,1	0,077	18	

Teste de Wilcoxon

Legenda: OD=orelha direita; OE = orelha esquerda; N = número de sujeitos**Tabela 3.** Comparação quantitativa das latências absolutas, latências interpicos, diferença interaural do intervalo I-V e da latência absoluta da onda V e limiar eletrofisiológico entre a avaliação inicial e avaliação sequencial

		Média	Mediana	Desvio Padrão	N	P-valor
I (OD)	AI	1,59	1,6	0,11	19	0,581
	AS	1,57	1,6	0,1	19	
I (OE)	AI	1,57	1,6	0,13	18	0,686
	AS	1,55	1,6	0,12	18	
III (OD)	AI	4,24	4,2	0,3	19	<0,001
	AS	3,84	3,9	0,23	19	
III (OE)	AI	4,21	4,1	0,28	18	<0,001
	AS	3,83	3,9	0,2	18	
V (OD)	AI	6,45	6,5	0,37	19	<0,001
	AS	5,85	5,9	0,27	19	
V (OE)	AI	6,41	6,4	0,38	18	<0,001
	AS	5,81	5,85	0,25	18	
I-III (OD)	AI	2,6	2,5	0,26	19	<0,001
	AS	2,22	2,2	0,21	19	
I-III (OE)	AI	2,58	2,5	0,3	18	0,001
	AS	2,22	2,3	0,23	18	
III-V (OD)	AI	2,19	2,2	0,25	19	0,004
	AS	1,97	2	0,14	19	
III-V (OE)	AI	2,17	2,1	0,19	18	<0,001
	AS	1,95	1,9	0,13	18	
I-V (OD)	AI	4,83	4,9	0,33	19	<0,001
	AS	4,24	4,2	0,22	19	
I-V (OE)	AI	4,79	4,8	0,36	18	<0,001
	AS	4,23	4,2	0,25	18	

Teste de igualdade de duas proporções

Legenda: OD = orelha direita; OE = orelha esquerda; AI = avaliação inicial; AS = avaliação sequencial; N = número de sujeitos

Tabela 3. Continuação...

		Média	Mediana	Desvio Padrão	N	P-valor
LIMIAR (OD)	AI	36,8	30	10,6	19	0,666
	AS	36,3	30	10,1	19	
LIMIAR (OE)	AI	35	30	7,1	18	0,414
	AS	33,9	30	5	18	
DIFERENÇA INTERAURAL - V	AI	0,106	0,1	0,094	18	0,596
	AS	0,122	0,1	0,088	18	
DIFERENÇA INTERAURAL I-V	AI	0,1	0,1	0,091	18	0,951
	AS	0,1	0,1	0,077	18	

Teste de igualdade de duas proporções

Legenda: OD = orelha direita; OE = orelha esquerda; AI = avaliação inicial; AS = avaliação sequencial; N = número de sujeitos

Tabela 4. Comparação qualitativa das latências absolutas, latências interpicos, diferença interaural do intervalo I-V e da latência absoluta da onda V entre a avaliação inicial e avaliação sequencial

		AI		AS		P-valor
		N	%	N	%	
I (OD)	\	0	0%	1	5%	0,311
	D	9	45%	0	0%	<0,001
	P	11	55%	19	95%	0,003
I (OE)	\	1	5%	2	10%	0,548
	D	8	40%	1	5%	0,008
	P	11	55%	17	85%	0,038
III (OD)	\	0	0%	1	5%	0,311
	D	4	20%	9	45%	0,091
	P	16	80%	10	50%	0,047
III (OE)	\	0	0%	2	10%	0,147
	D	4	20%	8	40%	0,168
	P	16	80%	10	50%	0,047
V (OD)	\	0	0%	1	5%	0,311
	D	3	15%	8	40%	0,077
	P	17	85%	11	55%	0,038
V (OE)	\	0	0%	2	10%	0,147
	A	1	5%	0	0%	0,311
	D	4	20%	9	45%	0,091
	P	15	75%	9	45%	0,053
I-III (OD)	\	0	0%	1	5%	0,311
	A	1	5%	0	0%	0,311
	D	2	10%	8	40%	0,028
	P	17	85%	11	55%	0,038
I-III (OE)	\	1	5%	2	10%	0,548
	A	1	5%	0	0%	0,311
	D	1	5%	6	30%	0,037
	P	17	85%	12	60%	0,077
III-V (OD)	\	0	0%	1	5%	0,311
	D	0	0%	1	5%	0,311
	P	20	100%	18	90%	0,147
III-V (OE)	\	0	0%	2	10%	0,147
	D	0	0%	1	5%	0,311
	P	20	100%	17	85%	0,072
I-V (OD)	\	0	0%	1	5%	0,311
	D	1	5%	7	35%	0,018
	P	19	95%	12	60%	0,008
I-V (OE)	\	1	5%	2	10%	0,548
	D	1	5%	8	40%	0,008
	P	18	90%	10	50%	0,006
	NL	19	95%	18	90%	0,548
DIFERENÇA INTERAURAL - V	\	1	5%	2	10%	0,548
DIFERENÇA INTERAURAL I-V	NL	19	95%	18	90%	0,548

Teste de igualdade de duas proporções

Legenda: OD = orelha direita; OE = orelha esquerda; AI = avaliação inicial; AS = avaliação sequencial; N = número de sujeitos; \ = ausente; D = diminuída; P = preservada; A = aumentada; NL = normal; % = percentual

Tabela 5. Relação entre média dos limiares eletrofisiológicos com microcefalia e época de aparecimento dos sintomas na avaliação inicial e avaliação sequencial

Microcefalia x limiar		Média	Mediana	Desvio Padrão	N	P-valor
AI (OD)	Não	41,7	40	11,7	6	0,081
	Sim	34,3	30	9,4	14	
AI (OE)	Não	36,7	35	8,2	6	0,638
	Sim	37,9	30	16,3	14	
AS (OD)	Não	36,7	35	8,2	6	0,575
	Sim	36,2	30	11,2	13	
AS (OE)	Não	33,3	30	5,2	6	0,74
	Sim	34,2	30	5,1	12	
Época de aparecimento dos sintomas x limiar		Média	Mediana	Desvio Padrão	N	P-valor
AI (OD)	1º Sem.	35,5	30	10,4	11	0,533
	2º/3º Sem.	37,5	35	9,6	4	
AI (OE)	1º Sem.	34,5	30	6,9	11	0,503
	2º/3º Sem.	47,5	35	28,7	4	
AS (OD)	1º Sem.	35	30	9,7	10	0,115
	2º/3º Sem.	45	45	12,9	4	
AS (OE)	1º Sem.	35	35	5,3	10	0,626
	2º/3º Sem.	33,3	30	5,8	3	

Teste de igualdade de duas proporções

Legenda: OD = orelha direita; OE = orelha esquerda = N = número de sujeitos; AI = avaliação inicial; AS = avaliação sequencial; Sem. = semestre

DISCUSSÃO

Em maio do ano de 2015, o ZIKV foi identificado como agente etiológico de doença exantemática no Brasil. Em outubro do mesmo ano, neuropediatras do estado de Pernambuco alertaram sobre uma epidemia de microcefalia, chegando a serem registrados no Sistema de Informação de Nascidos Vivos (SINASC), até 21 de novembro de 2015, 739 casos de suspeita de microcefalia em 190 municípios do Brasil, o que levou o Ministério da Saúde a decretar estado de emergência e investigar a possível relação entre microcefalia e o ZIKV⁽¹⁵⁾. Da mesma forma, estudo realizado nessa população demonstrou a relação entre o ZIKV e alterações das funções sensoriais, como visão e audição⁽¹⁶⁾, sendo que o Ministério da Saúde determinou, recentemente, a presença da microcefalia como um IRDA⁽¹⁷⁾. Diante desse panorama, o presente estudo avaliou a função auditiva de 20 RN, filhos de mães contaminadas pelo ZIKV durante a gestação, a fim de caracterizar os achados de PEATE, entre o nascimento e os 6 meses de vida.

A análise dos dados obtidos (Tabela 1) confirmou a possível relação entre a contaminação pelo ZIKV e a ocorrência de microcefalia, uma vez que a maioria dos pacientes da amostra apresentou esse sinal, reforçando, portanto, a relação causal entre a infecção pelo ZIKV e a ocorrência de microcefalia, sugerida em estudos prévios⁽¹⁷⁾.

Observou-se, também, (Tabela 1) que a maior parte das mães referiu os sintomas do ZIKV no primeiro trimestre da gestação. Esse dado é semelhante ao de estudos anteriores⁽¹⁸⁾ e reafirma a diretriz do Ministério da Saúde de que é importante orientar as mulheres e casais sobre a prevenção da infecção pelo ZIKV durante toda a gestação, mas, principalmente, no primeiro trimestre⁽⁷⁾. Concordando com os dados apresentados nesta pesquisa (Tabela 1), um estudo publicado em 2018, contendo uma amostra de 19 crianças com microcefalia decorrente do ZIKV, mostrou que a maioria das crianças foi infectada no primeiro trimestre da gestação⁽¹³⁾.

Os resultados do presente estudo (Tabela 2) demonstraram os dados descritivos das variáveis analisadas no PEATE, na avaliação inicial e sequencial. Notou-se que a maioria das variáveis possuía baixa variabilidade, pois o coeficiente de variação (CV) era menor que 50%, resultado que demonstra que os dados eram homogêneos. Percebeu-se que existiu uma diminuição dos valores de latências absolutas (III e V) e interpicos (I-III, III-V e I-V), na avaliação sequencial. Os dados (Tabela 2) mostraram, também, que a infecção pelo ZIKV não alterou significativamente os limiares eletrofisiológicos dos RN em nenhum dos momentos. Pesquisa realizada no estado de Pernambuco, entre 2015 e 2016, confirmou as possíveis relações entre a infecção congênita por ZIKV e a presença de alterações auditivas. Contudo, os autores relataram resultados relacionados apenas ao tipo de perda auditiva, em que, das 69 crianças com microcefalia, quatro apresentaram perda auditiva do tipo sensorioneural⁽⁵⁾. Outro estudo relatou o caso de um RN com microcefalia, cujo PEATE para cliques apontou ausência de resposta bilateralmente e PEATE de frequência específica com estímulo *toneburst* confirmou perda auditiva bilateral, com presença de resposta apenas em 99 dBNA, em 2000 Hz, na orelha direita⁽⁴⁾. Estudo mais recente, realizado por meio do PEATE em crianças com microcefalia decorrente do ZIKV, não avaliou os limiares eletrofisiológicos, apenas a integridade da via auditiva⁽¹³⁾. Embora ainda não haja consenso em relação às possíveis alterações de limiares nessa população, a pesquisa desse dado se faz importante, em função da necessidade de monitoramento auditivo preconizada pelo Comitê Multiprofissional em Saúde Auditiva (COMUSA) e pelo *Joint Committee on Infant Hearing* (JCIH), que na Declaração de Posição do ano de 2019, considerou que a exposição ao ZIKV na gestação, ou com resultados consistentes de SZC, deve receber a triagem auditiva neonatal ao nascimento, preferencialmente, por meio do PEATE.

Verificou-se que as diferenças quantitativas das variáveis analisadas no PEATE, nos dois momentos de avaliação, foram significativas em relação à latência absoluta das ondas III, V

e intervalos interpícos, em ambas as orelhas (Tabela 3). Não houve diferença significativa da onda I, diferença interaural da onda V e interpíco I-V, ou do limiar eletrofisiológico.

De acordo com a literatura, a onda I é gerada na porção distal do nervo coclear, informa a velocidade de condução periférica e encontra-se praticamente madura ao nascimento⁽¹⁹⁾. Isso indica que a maturação das vias auditivas envolve diferentes mecanismos nas áreas centrais e periféricas, uma vez que a condução do estímulo depende de mudanças na velocidade associadas à mielinização e mudanças na eficiência sináptica dos vários núcleos da via auditiva⁽²⁰⁾. Assim, a estabilidade em relação à latência da onda I encontrada no presente estudo justifica-se por esse fato e confirma resultados de estudos anteriores⁽¹⁹⁻²²⁾.

Por outro lado, observou-se que houve diferença significativa para a ocorrência das ondas III e V e todos os interpícos (Tabela 3). Comparando-se os exames nos dois momentos, foi possível notar uma diminuição das latências dessas ondas entre os exames iniciais e sequenciais. A onda III é formada na região do complexo olivar superior (ponte) e a onda V, em nível do lemnisco lateral (baixo mesencéfalo). A literatura estabelece bem que o processo maturacional da via auditiva ocorre na ordem caudal-rostral, isto é, quanto mais rostral for a estrutura, mais tempo leva para atingir a total maturação⁽²³⁾. O processo de desenvolvimento do sistema auditivo se dá pelo incremento da mielinização neuronal e maior sincronização de condução elétrica, que, na fase pré-natal, é direcionada por fatores biológicos intrínsecos ao indivíduo. Nessa fase, o desenvolvimento pode ser alterado por fatores genéticos ou alterações no controle metabólico. Já nas fases perinatal e pós-natal, a priori, é a privação sensorial que exerce um impacto negativo sobre o desenvolvimento auditivo⁽²⁴⁾.

Dessa forma, pode-se interpretar que a diferença observada na latência das ondas III e V se explica pela ocorrência, na maioria dos bebês, de maturação auditiva entre os exames ao nascimento e com 6 meses de idade. Em relação à análise dos intervalos interpícos I-III, III-V e I-V (Tabela 3), houve diferença significativa entre os momentos, determinada pela diminuição da latência dos intervalos I-III, III-V e I-V, confirmando a ocorrência de maturação auditiva entre o exame inicial e o sequencial. Esse dado converge com a literatura, que estabelece que, conforme ocorre o amadurecimento das vias auditivas, acontece, também, o encurtamento das latências absolutas das ondas e dos intervalos interpícos, sendo a latência da onda V a última a diminuir^(23,25).

Ainda em relação a esses dados, houve um aspecto relevante que não foi evidenciado na análise inferencial, mas foi observado na análise descritiva. Em dois bebês da amostra, ambos com microcefalia, houve presença das ondas I, III e V no PEATE inicial e ausência delas no PEATE sequencial. No primeiro bebê, isso ocorreu em ambas as orelhas e, no segundo, apenas na orelha esquerda. Essa evidência revela a possibilidade de uma SCZ ocasionar alterações tardias na via auditiva, porém, outros estudos serão necessários para elucidar essa questão. Entretanto, a exemplo de outro tipo de infecção congênita de origem viral, a citomegalovirose, que pode causar perda auditiva de início tardio, não identificável logo ao nascimento⁽¹⁰⁾, esses dados já demonstram a necessidade de monitoramento audiológico dos bebês acometidos pelo ZIKV até, pelo menos, os 30 meses de vida, conforme recomendações do JCIH⁽⁸⁾.

O nível de maturação revela a velocidade de condução e eficácia das sinapses ao longo do nervo auditivo até o tronco encefálico. em neonatos⁽²¹⁾. De acordo com a literatura, as

respostas do PEATE em neonatos e lactentes sofrem influência do processo maturacional do sistema auditivo⁽²⁵⁾. No caso de neonatos prematuros, o efeito da maturação é ainda mais evidente, sendo, assim, o padrão de resposta dessas crianças, diferente das nascidas a termo^(19,26). A amostra do presente estudo contou apenas com neonatos nascidos a termo. Visto que grande parte deles apresentou sinais de maturação da via auditiva, com diminuição de latências, em comparação aos valores de normalidade, supõe-se uma relação entre a contaminação pelo ZIKV e a alteração no padrão de maturação das estruturas auditivas do tronco encefálico. Estudos já realizados a respeito do poder de toxicidade do ZIKV mostraram que o vírus atua lesando as células que dão origem aos neurônios, prejudicando, dessa forma, a comunicação neural, ocasionando um córtex diminuído e, inclusive, hipoplasia em nível do tronco encefálico⁽¹⁸⁾.

Sobre a análise das diferenças interaurais do intervalo interpíco I-V, ou da latência absoluta da onda V (Tabela 3), não foi observada diferença estatisticamente significativa entre os momentos, uma vez que as mudanças observadas nas latências absolutas das ondas III e V, entre os dois exames, decorrentes do processo maturacional observado, não alteraram significativamente os valores dos intervalos interpícos.

Para análise do exposto na Tabela 4, vale ressaltar que, por não haver neste estudo um grupo controle, os valores encontrados foram pareados pela faixa etária, usando critério de referência estabelecido na literatura⁽¹⁴⁾. Portanto, de uma forma geral, a onda I, ao longo do tempo, tendeu a atingir valores de latência preservada. Por outro lado, as ondas III e V e interpícos tiveram seus valores de latência diminuídos ao longo do tempo, em comparação aos valores de normalidade (controle). A hipótese para tal achado se deve ao poder citotóxico do ZIKV. A literatura sobre a neurobiologia do ZIKV versa que a infecção pelo vírus em humanos leva à diminuição do crescimento neurológico, devido à supressão direta da neurogênese por ação de proteínas não estruturais do ZIKV (NS4A e NS4B) e por apoptose celular. Sugere-se que há uma vulnerabilidade específica das células precursoras neurais à infecção, levando à morte celular. Além disso, há receptores na membrana celular das células-tronco neuronais que facilitam a endocitose viral e são capazes de promover sinalização celular que altera a neurogênese e a sobrevivência celular⁽²⁷⁾. Sendo assim, aventa-se que, devido ao encurtamento estrutural do tronco encefálico, causado pelo ZIKV, as latências observadas no PEATE se apresentaram de forma diminuída, se comparadas com os padrões de normalidade estabelecidos na literatura, para crianças neurologicamente normais.

Não se observou correlação entre o limiar eletrofisiológico e a microcefalia, ou a época de surgimento dos sintomas na mãe (Tabela 5). Futuros estudos, com amostras maiores, poderão elucidar melhor a existência, ou não, dessa relação.

Também não foi possível observar correlação estatisticamente significativa entre as latências do PEATE, tanto no exame inicial, quanto no sequencial, com a microcefalia e o momento do surgimento dos sintomas na mãe durante a gestação. Estudos deram conta de que, em relação às infecções virais, o risco de dano cerebral, bem como a gravidade e extensão das alterações, têm relação direta com o período gestacional em que o feto foi infectado. Sequelas neurológicas tendem a ser mais severas e extensas quando a infecção ocorre durante o primeiro trimestre gestacional e mais brandas quando ocorre no terceiro trimestre⁽²⁸⁾. Sendo assim, acredita-se que análises futuras, com amostras

maiores, serão necessárias para evidenciar a existência, ou não, dessa relação, no caso da SCZ.

Confirmado o achado destacado na Tabela 5, o estudo de Marques Abramov et al.⁽¹³⁾ também não encontrou correlação significativa entre as latências das ondas do PEATE e o perímetro cefálico das crianças avaliadas, concluindo não existir dependência entre a microcefalia e alterações na via auditiva em nível do tronco encefálico. Por outro lado, estudo publicado em 2010⁽²⁹⁾, mostrou que a latência absoluta da onda V e as latências interpós III-V e I-V foram significativamente maiores em crianças microcefálicas sem ZIKV, do que em crianças normais. O referido estudo concluiu que o comprometimento auditivo na microcefalia é um déficit neurológico comum, que pode ser autenticamente avaliado por meio do PEATE, e que o comprometimento auditivo em microcefálicos é, principalmente, devido à insuficiência dos componentes centrais da via auditiva em nível do tronco encefálico. Nesse âmbito, análises das amplitudes das ondas seriam interessantes para elucidar essa questão, uma vez que a amplitude da resposta no traçado do PEATE revela a quantidade de fibras acionadas em resposta ao estímulo auditivo.

Finalmente, ressalta-se que os estudos atuais não são capazes de garantir a atividade do ZIKV na via auditiva. Hipóteses são postuladas, sem, no entanto, conseguirem confirmar a origem do prejuízo auditivo nesses casos, se é periférico ou central, permanente ou temporário, progressivo, ou não.

O presente estudo teve como principal limitação o número de bebês acompanhados longitudinalmente. Amostras mais representativas seriam necessárias para generalização dos resultados. Além disso, um monitoramento auditivo até os 3 anos de idade seria importante, na tentativa de verificar o potencial citotóxico do ZIKV para gerar perdas auditivas tardias.

Estudos futuros, em modelos animais, permitirão buscar respostas quanto à patogênese do ZIKV. Estudos nos pacientes portadores da SCZ, por meio de um *follow-up* prolongado, são necessários, para que se possa responder sobre as características dos prejuízos audiológicos nesses pacientes e para determinar as diretrizes para o acompanhamento dos casos⁽³⁰⁾.

CONCLUSÃO

A comparação das avaliações iniciais e sequenciais mostrou que bebês portadores de Zika apresentaram limiares eletrofisiológicos dentro da normalidade e diminuição das latências absolutas das ondas III e V e interpós, durante o monitoramento semestral, se comparados com os valores de referência (controle) para a faixa etária, confirmando a ação citotóxica do ZIKV e não relacionados à presença ou ausência da microcefalia. Houve dois casos de piora significativa do limiar eletrofisiológico, remetendo para a possibilidade de alterações auditivas tardias. Não foi observada correlação entre resultados do PEATE e época de aparecimento dos sintomas durante a gestação, ou a presença de microcefalia.

REFERÊNCIAS

1. Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Zika virus in Brazil: the SUS role. Brasília: Ministério da Saúde; 2017. 136 p.
2. Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Síndrome congênita associada à infecção pelo vírus Zika: situação epidemiológica, ações desenvolvidas e desafios, 2015 a 2019. Bol Epidemiol. 2019;50(N. esp.):1-31.
3. World Health Organization. Screening, assessment and management of neonates and infants with complications associated with Zika virus exposure in utero. Geneva: WHO; 2016.
4. Leal MC, Muniz LF, Caldas SS No, Van Der Linden V, Ramos RC. Sensorineural hearing loss in a case of congenital Zika virus. Braz J Otorhinolaryngol. 2020;86(4):513-5. <https://doi.org/10.1016/j.bjorl.2016.06.001>.
5. 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. MMWR Morb Mortal Wkly Rep. 2016;65(34):917-9. <http://dx.doi.org/10.15585/mmwr.mm6534e3>. PMID:27585248.
6. Ashwal S, Michelson D, Plawner L, Dobyns W, Quality Standards Subcommittee of the American Academy of Neurology and the Practice Committee of the Child Neurology Society. Practice parameter: evaluation of the child with microcephaly (an evidence-based review). Neurology. 2009;73(11):887-97. <http://dx.doi.org/10.1212/WNL.0b013e3181b783f7>. PMID:19752457.
7. Brasil. Protocolo de atenção à saúde e resposta à ocorrência de microcefalia. Brasília: Ministério da Saúde; 2016.
8. 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.
9. Stach BA, Ramachandran VS. Hearing disorders in children. In: Madell, J.R., Flexer C, editors. Pediatric audiology: diagnosis, technology, and management. 2nd ed. New York: Thieme; 2008. p. 3-12.
10. Cohen BE, Durstenfeld A, Roehm PC. Viral causes of hearing loss: a review for hearing health professionals. Trends Hear. 2014;18:1-17. <http://dx.doi.org/10.1177/2331216514541361>. PMID:25080364.
11. Fontes AA, Carellos EV, Romanelli RC. Study of brainstem auditory evoked potentials in early diagnosis of congenital toxoplasmosis. Braz J Otorhinolaryngol. 2019;85(4):447-55. <https://doi.org/10.1016/j.bjorl.2018.03.012>.
12. Borja A, Lioioli AG. Triagem auditiva em crianças expostas ao zika vírus durante a gestação. Rev. Ciênc. Méd. Biol. 2017;16(3):271-6. <http://dx.doi.org/10.9771/cmbio.v16i3.24387>.
13. Marques Abramov D, Saad T, Gomes-Junior SC, de Souza E Silva D, Araújo I, Lopes Moreira ME, et al. Auditory brainstem function in microcephaly related to Zika virus infection. Neurology. 2018;90(7):e606-14. <http://dx.doi.org/10.1212/WNL.0000000000004974>. PMID:29352094.
14. Rosa LAC, Suzuki MR, Angrisani RG, Azevedo MF. Potencial evocado auditivo de tronco encefálico: valores de referência em relação à idade. CoDAS. 2014;26(2):117-21. <https://doi.org/10.1590/2317-1782/2014469IN>.
15. Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância da Saúde. Protocolo de vigilância e resposta à microcefalia relacionada à infecção pelo vírus Zika. Versão 12 - 09/12/2015. Brasília: Ministério da Saúde; 2015.
16. Ribeiro BNF, Muniz BC, Gasparetto EL, Ventura N, Marchiori E. Congenital Zika syndrome and neuroimaging findings: what do we know so far? Radiol Bras. 2017 Set-Out;50(5):314-22. PMID:29085165.
17. Fantinato FF, Araújo EL, Ribeiro IG, Andrade MR, Dantas AL, Rios JM, et al. Descrição dos primeiros casos de febre pelo vírus Zika investigados em municípios da região Nordeste do Brasil, 2015.

- Epidemiol Serv Saude. 2016;25(4):683-90. <http://dx.doi.org/10.5123/S1679-49742016000400002>. PMID:27869981.
18. Zare Mehrjardi M, Poretti A, Huisman TAGM, Werner H, Keshavarz E, Araujo Júnior E. Neuroimaging findings of congenital Zika virus infection: a pictorial essay. *Jpn J Radiol*. 2017;35(3):89-94. <http://dx.doi.org/10.1007/s11604-016-0609-4>. PMID:28074379.
 19. Schuler-Faccini L, Ribeiro EM, Feitosa IML, Horovitz DDG, Cavalcanti DP, Pessoa A, et al. Possível associação entre a infecção pelo vírus zika e a microcefalia: Brasil, 2015. *Weekly*. 2016;65(3):59-62. PMID:26820244.
 20. Amorim RB, Agostinho-Pesse RS, Alvarenga KF. The maturational process of the auditory system in the first year of life characterized by brainstem auditory evoked potentials. *J Appl Oral Sci*. 2009;17(N. spe.):57-62. <https://doi.org/10.1590/S1678-77572009000700010>.
 21. Guilhoto LMFF, Quintal VS, da Costa MTZ. Brainstem auditory evoked response in normal term neonates. *Arq Neuropsiquiatr*. 2003;61(4):906-8. <http://dx.doi.org/10.1590/S0004-282X2003000600003>. PMID:14762588.
 22. Ken-Dror A, Pratt H, Zeltzer M, Sujov P, Katzir J, Benderley A. Auditory brain-stem evoked potentials to clicks at different presentation rates: estimating maturation of pre-term and full-term neonates. *Electroencephalogr Clin Neurophysio*. 1987 Maio 1;68(3):209-18. [http://dx.doi.org/10.1016/0168-5597\(87\)90028-1](http://dx.doi.org/10.1016/0168-5597(87)90028-1). PMID:2436880.
 23. Robertson D. Functional significance of dendritic swelling after loud sounds in the guinea pig cochlea. *Hear Res*. 1983;9(3):263-78. [http://dx.doi.org/10.1016/0378-5955\(83\)90031-X](http://dx.doi.org/10.1016/0378-5955(83)90031-X). PMID:6841283.
 24. Angrisani RG, Diniz EM, Guinsburg R, Ferraro AA, Azevedo MF, Matas CG. Auditory pathway maturational study in small for gestational age preterm infants. *CoDAS*. 2014;26(4):286-93. <http://dx.doi.org/10.1590/2317-1782/201420130078>. PMID:25211687.
 25. Morgan DE, Zimmerman MC, Dubno JR. Auditory brain stem evoked response characteristics in the full-term newborn infant. *Ann Otol Rhinol Laryngol*. 1987 Mar 29;96(2 Pt 1):142-51. <http://dx.doi.org/10.1177/000348948709600202>. PMID:3566056.
 26. Moore JK, Linthicum FH Jr. The human auditory system: a timeline of development. *Int J Audiol*. 2007;46(9):460-78. <http://dx.doi.org/10.1080/14992020701383019>. PMID:17828663.
 27. Sleifer P, da Costa SS, Côser PL, Goldani MZ, Dornelles C, Weiss K. Auditory brainstem response in premature and full-term children. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol*. 2007;71(9):1449-56. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijporl.2007.05.029>. PMID:17629955.
 28. Li H, Saucedo-Cuevas L, Shresta S, Gleeson JG. The neurobiology of Zika Virus. *Neuron*. 2016;92(5):949-58. <http://dx.doi.org/10.1016/j.neuron.2016.11.031>. PMID:27930910.
 29. Das P, Bandyopadhyay M, Ghugare BW, Ghate J, Singh R. Auditory evaluation of the microcephalic children with brain stem evoked response audiometry (BERA). *Indian J Physiol Pharmacol*. 2010;54(4):376-80. PMID:21675037.
 30. Barbosa MHM, Magalhães-Barbosa MC, Robaina JR, Prata-Barbosa A, Lima MAMT, Cunha AJLA. Auditory findings associated with Zika virus infection: an integrative review. *Rev Bras Otorrinolaringol (Engl Ed)*. 2019;85(5):642-63. <http://dx.doi.org/10.1016/j.bjorl.2019.05.002>.