



FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ
INSTITUTO NACIONAL DE INFECTOLOGIA EVANDRO CHAGAS
DOUTORADO EM PESQUISA CLÍNICA EM DOENÇAS INFECCIOSAS

DULCE HELENA GONÇALVES OROFINO

**AVALIAÇÃO CARDIOLÓGICA DE RECÉM NATOS E LACTENTES COM
EXPOSIÇÃO VERTICAL AO ZIKA VÍRUS**

Rio de Janeiro

2019

**AVALIAÇÃO CARDIOLÓGICA DE RECÉM NATOS E LACTENTES COM
EXPOSIÇÃO VERTICAL AO ZIKA VÍRUS**

DULCE HELENA GONÇALVES OROFINO

Tese apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Pesquisa Clínica em Doenças Infecciosas, do Instituto Nacional de Infectologia Evandro Chagas, para obtenção do grau de Doutora em Ciências, sob a orientação da Dr.^a Sonia Regina Lambert Passos e da Dr.^a Raquel de Vasconcellos Carvalhaes de Oliveira.

Rio de Janeiro

2019

DULCE HELENA GONÇALVES OROFINO

**AVALIAÇÃO CARDIOLÓGICA DE RECÉM NATOS E LACTENTES COM
EXPOSIÇÃO VERTICAL AO ZIKA VÍRUS**

Tese apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Pesquisa Clínica em Doenças Infecciosas, do Instituto Nacional de Infectologia Evandro Chagas, para obtenção do grau de Doutora em Ciências.

Orientadores: Dr.^a Sonia Regina Lambert Passos
Dr.^a Raquel de Vasconcellos Carvalhaes de Oliveira.

BANCA EXAMINADORA

Dr.^a Claudia Leite Moraes (Presidente)

Dr.^a Sheila Mora Pone (Revisora)

Dr.^a Eliane Maria Garcez Oliveira da Fonseca

Dr.^a Maria Cristina Caetano Kuschnir

Dr.^a Tania Regina Saad Sales

Dr.^a Cristiane da Cruz Lamas (Suplente)

Para minha neta Helena, nascida no turbilhão que foi o ano de 2018, por confirmar minha certeza de que o amor pelos outros nos faz pessoas melhores. Que você cresça acreditando que “se o mundo não for minimamente bom para todos não será bom de verdade para ninguém”.

AGRADECIMENTOS

A todos os bebês que nasceram durante a epidemia de Zika vírus e que, com seu grande sofrimento, fizeram despertar um pouquinho da atenção de todo o Brasil para as crianças com necessidades especiais, tão negligenciadas desde sempre pelo poder público e pela sociedade civil.

Às gestantes de bebês com microcefalia e a todos os familiares que se envolveram no doloroso processo de aguardar o nascimento de um bebê com um grave problema congênito, o meu enorme respeito e agradecimento pela participação nessa e em tantas outras pesquisas sobre o tema Zika vírus.

Às companheiras de trabalho da Cardiopediatria do Instituto Fernandes Figueira e da Escola de Medicina Souza Marques, Dr.^a Carla Verona B. Farias, Dr.^a Maria de Fatima M. P. Leite, Dr.^a Andrea V. Goldenzon, Dr.^a Marise Elia de Marsilacc, pela solidariedade e apoio em todos os momentos em que foi necessário me ausentar de minhas funções para cumprir as exigências do doutorado.

Às minhas orientadoras Dr.^a Sonia Passos e Dr.^a Raquel Oliveira, pela paciência e competência no processo difícil de orientação de um curso de doutorado e pelo apoio incondicional em todos os momentos.

À aluna de iniciação científica Letícia Lima, pela delicadeza e presteza nas ajudas solicitadas por mim. Aos colegas médicos do Instituto Fernandes Figueira, em especial à Dr.^a Sheila Pone e ao Dr. Marcos Pone envolvidos também nas pesquisas com os pacientes acometidos pela Síndrome da Zika Congênita, o meu muito obrigada pela parceria, fundamental para um bom resultado de qualquer pesquisa científica.

À minha mãe, meu pai e meus filhos tão amados, porque existem e me tornam uma pessoa melhor.

RESUMO

Introdução: O vírus Zika (ZIKV) foi identificado pela primeira vez no Brasil em abril de 2015. No final desse mesmo ano foi constatado um aumento do número de notificações de recém natos portadores de microcefalia, inicialmente no Nordeste brasileiro e, em seguida, em todas as regiões do Brasil. Em fevereiro de 2016 foi encontrado material genético do ZIKV no sistema nervoso central (SNC) de um natimorto com microcefalia nascido de mãe que relatava infecção provável pelo ZIKV na gestação. A partir daquele momento, foram também descritas nos recém natos expostos verticalmente ao ZIKV, alterações específicas de SNC, alterações oftalmológicas e ortopédicas que passaram a se chamar Síndrome da Zika Congênita (SZC). **Objetivo:** Descrever a presença de alterações cardiológicas em uma amostra de recém natos e lactentes expostos verticalmente ao ZIKV através da realização de ecocardiograma (ECO) e Holter de 24 horas e avaliar a confiabilidade das medidas cavitárias e fração de ejeção do ventrículo esquerdo através do ECO realizado por duplas de cardiopediatras. **Método:** Estudo observacional descritivo de alterações ao ECO de 120 neonatos e lactentes nascidos entre novembro de 2015 e janeiro de 2017 com exposição vertical confirmada ao ZIKV, acompanhados no Instituto Fernandes Figueira (IFF) da Fiocruz. O ECO foi realizado por três cardiopediatras com aparelho Siemens Acuson X 300. A confirmação de exposição vertical ao ZIKV foi realizada pela reação em cadeia da polimerase (PCR) positiva no sangue ou líquido amniótico da gestante e/ou no líquido ou urina do recém nato. Para o estudo de confiabilidade foram selecionados aleatoriamente 50 bebês nos quais o ECO foi realizado em dois momentos, com intervalo máximo de 15 dias por dois especialistas independentes. Foram calculados Coeficiente de Correlação Intraclasse (ICC) e obtidos os gráficos de Bland-Altman das medidas cavitárias e da fração de ejeção. Para o estudo do Holter de 24 horas foram selecionados pacientes cujos responsáveis aceitaram participar do estudo e os exames foram analisados por dois cardiologistas especializados nesse método. O Holter avaliou a presença de arritmias além de descrever medidas de variabilidade de frequência cardíaca (VFC). Foi utilizado o teste de Mann Whitney para avaliar associação entre alterações ao Holter e as seguintes características da amostra: sexo, presença de SZC, microcefalia grave, ter nascido prematuro (PT) ou pequeno para idade gestacional (PIG), ter tido sofrimento fetal. **Resultados:** O estudo de avaliação ecocardiográfica mostrou que há uma prevalência 10 vezes maior de cardiopatias congênitas nessa amostra quando comparada à população geral de nascidos vivos, mas não foram encontradas cardiopatias graves que necessitem de intervenção nos primeiros meses de vida. O estudo com Holter 24 horas não mostrou arritmias, mas evidenciou uma menor VFC no grupo com SZC e microcefalia grave. A avaliação da confiabilidade demonstrou que as diferenças entre as aferições independentes ao ECO realizadas por duplas de cardiopediatras foram clinicamente irrelevantes e que não modificaram o laudo final de exame normal comparado aos valores considerados normais ao ECO. **Conclusões:** O estudo indica que não há necessidade de incluir o ecocardiograma fetal e/ou neonatal na rotina de acompanhamento das gestantes com infecção pelo ZIKV e/ou dos recém natos logo após ao nascer e sugere que o Holter de 24 horas possa ser utilizado para prever uma pior evolução neurológica nos expostos verticalmente ao ZIKV que nascem sem todos os critérios que compõem a SZC. Isso antecipa o acompanhamento com equipe multidisciplinar de reabilitação que é sabidamente muito importante no acompanhamento desses pacientes.

Palavras chave: Zika vírus, ecocardiograma, cardiopatias congênitas, síndrome da Zika congênita, confiabilidade, interobservador, Holter, arritmias, variabilidade da frequência cardíaca.

ABSTRACT

Background: Zika virus (ZIKV) was first identified in Brazil in April 2015. At the end of the same year there was an increase in the number of reports of newborns with microcephaly, initially in the Brazilian Northeast and then in all regions of Brazil. In February 2016 genetic material of ZIKV was found in the central nervous system (CNS) of a stillborn with microcephaly born to mother who had probable infection by ZIKV during pregnancy. From that moment, specific alterations of the central nervous system, ophthalmological and orthopedic alterations that have come to be called Congenital Zika Syndrome (SZC) were also described in the newborns in utero exposed to ZIKV. **Objectives:** To describe cardiac findings observed in a sample of neonates and infants with in utero exposure to ZIKV through an echocardiogram (ECHO) and 24-hour Holter and to evaluate the reliability of cavity measurements and left ventricular ejection fraction through the ECHO performed by cardiologists. **Methods:** Cross sectional study of ECHO findings of 120 neonates and infants born between November 2015 and January 2017 with confirmed antenatal exposure to ZIKV, accompanied at the Fernandes Figueira Institute (IFF) of Fiocruz. The ECHO was performed by three cardiopediatricians with Siemens Acuson X300 device. Antenatal exposure to ZIKV was confirmed by positive polymerase chain reaction (PCR) in the pregnant woman's blood or amniotic fluid and / or in the newborn's cerebrospinal fluid and/or urine. For the reliability study, 50 infants were randomly selected in which ECHO was performed in two moments, with a maximum interval of 15 days by two independent experts. Intraclass Correlation Coefficient (ICC) was calculated and the Bland-Altman plots of cavity measurements and ejection fraction were obtained. For the 24-hour Holter study patients were selected whose caregivers agreed to participate in the study and the examinations were analyzed by two experts in this method. Holter evaluated the presence of arrhythmias in addition to describing measures of heart rate variability (HRV). The Mann Whitney test was used to evaluate the association between findings in Holter and the following characteristics of the sample: sex, presence of SZC, severe microcephaly, being born preterm or small for gestational age, had fetal distress. **Results:** The ECHO evaluation study showed that there is a 10 times higher prevalence of congenital heart diseases in this sample when compared to the general population of live births, but no severe heart diseases requiring intervention in the first months of life were found. The 24-hour Holter study did not show arrhythmias, but showed a lower HRV in the group with SZC and severe microcephaly. The reliability assessment showed that the differences between the independent ECHO measurements performed by experts were clinically irrelevant and did not modify the final normal exam report compared to normal ECHO values. **Conclusions:** The study indicates that there is no need to include fetal and / or neonatal echocardiography in routine follow-up of pregnant women with ZIKV infection and / or newborns soon after birth and suggests that the 24-hour Holter can be used to predict worse neurological evolution in those with in utero exposure to ZIKV that are born without all the criteria that compose SZC. This anticipates the follow-up with a multidisciplinary team of rehabilitation that is known to be very important in the follow-up of these patients.

Keywords: echocardiography, congenital heart diseases, congenital Zika syndrome, reliability, interobserver, Holter monitoring, arrhythmias, heart rate variability.

LISTA DE FIGURAS

Figura 6.1 - Bland-Altman plots of measurements of aorta and left ventricle in diastole diameter in 50 infants with in utero exposure to ZIKV.....44

Figura 6.2 - Bland-Altman plots of measurements of LVS, IVS, LVPW, LVEJ, RV and LA in 50 infants with in utero exposure to ZIKV.45

LISTA DE TABELAS

Tabela 5.1 - Characteristics of 13 patients with abnormal ECHO findings.....	24
Tabela 5.2 - Differences between patients with and without major ECHO findings....	24
Tabela 6.1 - Dimensions (in centimeters) of two independent echocardiographic measurements from different raters in 50 infants (medians and interquartile ranges) with in utero exposure to ZIKV, and respective normal values.	36
Tabela 6.2 - Reliability of target parameters in two independent echocardiographic measurements by two raters, expressed as intraclass correlation coefficients (ICC) and respective 95% confidence intervals in 50 infants with in utero exposure to ZIKV.....	37
Tabela 7.1 - Medianas de parâmetros de variabilidade de frequência cardíaca em 15 lactentes com exposição vertical ao ZIKV segundo os sub-grupos da amostra.....	56

LISTA DE ABREVIATURAS

ECO: ecocardiograma

IC 95%: intervalo de confiança de 95%

IFF: Instituto Fernandes Figueira

IgG: imunoglobulina G

IgM: imunoglobulina M

INI: Instituto Nacional de Infectologia

MSL: morte súbita do lactente

PCR: reação em cadeia da polimerase

SGB: Síndrome de Guilhan-Barré

SNA: sistema nervoso autonômico

SNC: sistema nervoso central

TCLE: termo de consentimento livre e esclarecido

Vb: variação entre indivíduos

Vt: variação total

Ve: variação não pretendida

VE: ventrículo esquerdo

VFC: variação da frequência cardíaca

ZIKV: Zika vírus

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	13
1.1 Epidemiologia do Zika vírus	13
1.2 Características clínicas e diagnóstico laboratorial do Zika vírus	13
1.3 Mecanismos de transmissão do Zika vírus	14
1.4 Microcefalia e Síndrome da Zika Congênita	15
1.5 Situação atual do ZIKV no Brasil	15
1.6 Alterações cardiológicas e arboviroses	16
1.7 Exames de imagem em cardiologia pediátrica	17
1.7.1 Ecocardiograma.....	17
1.7.2 Holter de 24 horas	18
1.8 Confiabilidade de Medidas	19
2 JUSTIFICATIVA	23
3 OBJETIVOS	24
3.1 Objetivo Geral	24
3.2 Objetivos Específicos	24
4 MÉTODOS	25
4.1 População do estudo	25
4.2 Cálculo amostral	25
4.3 Critérios de Elegibilidade	25
4.4 Avaliação cardiológica	26
5.1° ARTIGO Cardiac findings in infants with in utero exposure to Zika virus- a cross	28
6.2° ARTIGO Reliability of echocardiographic measurements in infants exposed to Zika virus	38
7.3° ARTIGO: Achados ao Holter-24 horas de lactentes com exposição vertical ao Zika vírus	55
8.CONCLUSÕES	69
9.CONSIDERAÇÕES FINAIS	70
10. BIBLIOGRAFIA	72
ANEXO 1 Parecer consubstanciado de aprovação CEP-UNI	79

1 INTRODUÇÃO

1.1 Epidemiologia do Zika vírus

O vírus Zika (ZIKV) é um arbovírus do gênero *Flavivirus*, família *Flaviviridae*, transmitido por mosquitos da espécie *Aedes* (1). Esse vírus tem dois genótipos: genótipo africano que é encontrado apenas no continente africano e genótipo asiático, associado às epidemias que ocorreram no sudeste asiático, ilhas do Pacífico e mais recentemente, nas Américas (2). O ZIKV recebeu a mesma denominação do local de origem de sua identificação em 1947, após detecção em macacos sentinelas para monitoramento da febre amarela, na floresta Zika, em Uganda (3). Em 2007, o vírus foi encontrado pela primeira vez fora dos continentes africano e asiático, na Micronésia (Yap Island) e nessa ocasião, mais de 70% dos residentes com mais de três anos de idade foram infectados em um período de 4 meses (4). Em 2013, outro surto da doença foi descrito na Polinésia Francesa quando 11% da população foi infectada. De lá, o vírus alcançou outras ilhas do Pacífico e os primeiros casos de infecção pelo vírus no ocidente foram descritos em Easter Island, Chile, em fevereiro de 2014 possivelmente trazido da Polinésia Francesa durante um festival cultural (5).

O Brasil foi o país das Américas com maior número de casos de infecção pelo vírus desde que esse atingiu o continente americano. Estima-se que a partir de março de 2015 tenha havido entre 500.000 a 1.500.000 de pessoas infectadas (6).

1.2 Características clínicas e diagnóstico laboratorial do Zika vírus

Os critérios clínicos para o diagnóstico dessa arbovirose, que era considerada uma doença autolimitada e sem complicações até a descrição no Brasil da Síndrome da Zika Congênita (SZC) em 2017, são exantema maculopapular pruriginoso e pelo menos dois dos sintomas e sinais a seguir: febre baixa de duração de 1 a 2 dias, conjuntivite não purulenta, poliartralgia e edema periarticular. Outros sinais e sintomas podem estar presentes como mialgia, dor retro-ocular, vômitos e linfadenomegalia. Considera-se que 80% dos pacientes infectados são assintomáticos (7). 4 A partir do final do mês de fevereiro de 2015, o Ministério da Saúde do Brasil observou um aumento de notificações e iniciou monitoramento de casos de doença exantemática (“dengue-like”) sem causa definida, na Região Nordeste, abrangendo os estados da

Bahia, Maranhão, Pernambuco, Rio Grande do Norte, Sergipe e Paraíba e todos os casos apresentavam evolução benigna com regressão espontânea mesmo sem intervenção clínica, com mais de 6.800 casos identificados até aquele momento. Em junho de 2015, foi relatada pela primeira vez a presença do ZIKV em território brasileiro (8).

O diagnóstico laboratorial da infecção aguda é a única forma de confirmação da doença visto que não há nenhuma característica clínica que seja patognomônica. A melhor forma de confirmação diagnóstica é através da reação em cadeia da polimerase (PCR), que se encontra positiva até 10 dias do início da doença em amostras de sangue e até 30 dias em amostras de urina. A sorologia (IgM e IgG) nunca foi validada e tem como principal problema a possibilidade de reações cruzadas com outras arboviroses como dengue e chikungunya (9). A infecção pelo ZIKV também está relacionada a síndromes neurológicas, como a Síndrome de Guillain-Barré (SGB) (10). Na Micronésia, a incidência histórica média de SGB era de 5 casos por ano. Durante um surto do ZIKV naquela região, foram diagnosticados 40 casos de SGB, número 20 vezes maior do que o normalmente observado. Situação semelhante foi observada na Polinésia Francesa (10). No Brasil, foram confirmados 42 casos de SGB em pacientes com sintomas sugestivos de infecção pelo ZIKV somente no estado da Bahia, em julho de 2015. Em novembro de 2015, sete de dez pacientes com sintomas neurológicos associados a quadros sugestivos de dengue, tiveram amostras de sangue confirmadas para o ZIKV (11).

1.3 Mecanismos de transmissão do Zika vírus

O modo mais frequente de transmissão do ZIKV é por picada do mosquito *Aedes aegypti*, mesmo transmissor da dengue e chikungunya e o principal vetor urbano das três doenças. Outro mosquito tem sido proposto como transmissores e devido à sua ampla distribuição, o combate ao vetor se configura a principal arma contra a disseminação dessas doenças (12). Em relação às demais vias de transmissão, a identificação do vírus em líquido amniótico indica que este atravessa a barreira transplacentária, sendo esta a via de maior importância devido ao risco de dano ao embrião (13). A identificação do vírus na urina, leite materno e saliva pode ter efeito prático apenas no diagnóstico da doença. Não há indícios ainda que essas vias sejam importantes para a transmissão do vírus para outra pessoa. Estudos realizados

na Polinésia Francesa não identificaram a replicação do vírus em amostras do leite, indicando a presença de fragmentos do vírus que não seriam capazes de produzir doença. A presença de vírus no esperma até três meses depois da doença aguda com manutenção da infectividade e possibilidade de transmissão via sexual também foi descrita (14). A possibilidade de transmissão por transfusão sanguínea também foi documentada na Polinésia Francesa (15).

1.4 Microcefalia e Síndrome da Zika Congênita

Microcefalia é definida como um perímetro cefálico menor ou igual a dois desvios padrões da média para sexo e idade gestacional (16). Em outubro de 2015, o Ministério da Saúde do Brasil detectou um aumento das notificações de recém natos com microcefalia em Pernambuco. Considerando-se que as mães desses bebês relatavam a ocorrência de exantema durante a gestação, aventou-se a possibilidade de transmissão vertical do ZIKV e sua relação com a microcefalia (17). Após a detecção do vírus através de biologia molecular (PCR) em amostras de tecidos de um natimorto com microcefalia na Paraíba, o Ministério da Saúde emitiu nota confirmando a relação entre microcefalia e infecção intrauterina pelo ZIKV (18). Estudo conduzido no IFF com uma coorte de recém natos de mães com infecção confirmada pelo ZIKV na gestação mostrou 42% de incidência de alterações graves no sistema nervoso central, incluindo 4 recém natos microcéfalos. Não foi observada maior frequência de alterações neurológicas com infecção em algum período específico da gestação (19). A descrição de outras 6 alterações associadas à exposição intrauterina ao ZIKV levou à denominação de SZC ao conjunto de achados que inclui microcefalia, alterações oftalmológicas e auditivas, alterações específicas na tomografia computadorizada de crânio e artropose (20).

1.5 Situação atual do ZIKV no Brasil

O boletim epidemiológico emitido pelo Ministério da Saúde define como gestantes com infecção suspeita por ZIKV, em qualquer idade gestacional, com doença exantemática aguda, excluídas outras hipóteses de causas infecciosas e não infecciosas conhecidas e todo feto de mãe com história de exantema na gestação, com perímetro cefálico menor ou igual a dois desvios padrões da média para idade

gestacional e sexo ou qualquer outra alteração neurológica sugestiva de infecção congênita, excluídas outras causas possíveis (infecciosas e não infecciosas) e como casos confirmados, toda gestante suspeita com diagnóstico laboratorial de ZIKV e todo feto suspeito com história de mãe com exantema durante a gestação e excluídas as outras possíveis causas (infecciosas ou não) com ou sem confirmação laboratorial de infecção pelo ZIKV. Em todos esses casos, os pacientes devem ser encaminhados para acompanhamento da gestação e dos conceptos (21).

O número de casos prováveis e de casos confirmados mostrou uma importante redução nos anos de 2016, 2017 e 2018 quando comparado ao período de ocorrência da epidemia (2015). Em 2018, até a semana epidemiológica 30, foram registrados 6.371 casos prováveis de doença pelo ZIKV no país, com taxa de incidência de casos prováveis de 3,1 casos/100 mil hab. Desses, 2.616 (41,1%) foram confirmados (22,23).

1.6 Alterações cardiológicas e arboviroses

A infecção pelo vírus da dengue, que é o flavivírus mais estudado na literatura, causa alterações cardiológicas de magnitude clínica que varia de leve a severa. No Brasil, até 2008, a infecção pelo vírus da dengue mantinha um padrão clínico de manifestações leves. A partir de 2008, repetindo o padrão conhecido no sudeste asiático, a infecção começou a se apresentar como grave em 10% dos casos e com óbito em 1%. Esses pacientes apresentavam alterações cardiológicas tais como disfunção miocárdica leve a severa (alguns com miocardite fulminante), confirmadas por ecocardiograma, eletrocardiograma, ressonância magnética e estudo anatomopatológico (imunohistoquímica) (24). A infecção pelo vírus da dengue 7 adquirida por transmissão vertical foi descrita em diversos países, mas não houve, até o momento, relato de malformações congênitas no feto causadas pela infecção durante a gestação. Há porém, relatos de apresentação de dengue leve a severa, em recém natos cujas mães tinham história de infecção provável ou confirmada pelo vírus da dengue no final da gestação (25). A passagem de anticorpos via placentária se faz de forma mais significativa no terceiro trimestre de gestação, portanto os recém natos prematuros apresentam menor quantidade de anticorpos. Foi descrito que a infecção pelo vírus da dengue no início da gestação pode levar a risco de abortamento de 10% e o risco de morte fetal nas infecções contraídas na fase final da gestação é de até

13% enquanto o de prematuridade varia de 13 a 50% (24). Por ser um evento de início recente em todo o mundo, não havia até a ocorrência da epidemia de ZIKV no Brasil nenhum relato na literatura de alterações cardiológicas causadas pela infecção por esse vírus. Estudo realizado em Pernambuco, Brasil em 2017, mostrou aumento de prevalência de cardiopatias congênitas em bebês expostos verticalmente ao ZIKV, com microcefalia mas sem confirmação laboratorial de exposição vertical ao ZIKV (26).

1.7 Exames de imagem em cardiologia pediátrica

1.7.1 Ecocardiograma

O ecocardiograma (ECO) é um exame de diagnóstico por imagem utilizado há mais de 30 anos que se baseia na emissão de feixes de ultrassom através de transdutores de alta frequência, fornecendo a imagem das estruturas cardíacas. O rápido avanço e o aprimoramento tecnológico têm permitido uma alta acurácia diagnóstica no período intrauterino (feto), neonatal, infância e adolescência. Atualmente, o ECO é o método de imagem padrão-ouro para o diagnóstico da maioria das cardiopatias congênitas e adquiridas assim como para a avaliação das alterações funcionais e hemodinâmicas que ocorrem em todas as faixas etárias. É um exame não invasivo, seguro, com aquisição rápida e em tempo real da imagem, baixo custo, ausência de contraindicações e facilidade de deslocamento do aparelho permitindo a realização do exame em várias situações como no ambulatório ou nas unidades de terapia intensiva (27). Atualmente, as máquinas de ECO permitem a realização de modos monodimensional e bidimensional, mapeamento de fluxo em cores e estudo com *Doppler* espectral pulsado e contínuo. No modo 8 monodimensional, uma única linha de sinais investiga o campo ultrassonográfico e ele é utilizado para avaliação do tamanho das cavidades, medida da espessura do septo e parede posterior do ventrículo esquerdo (VE) e função ventricular. O modo bidimensional permite a identificação detalhada dos aspectos anatômicos das estruturas cardíacas. O estudo do *Doppler* associado ao fluxo em cores permite mensurar as velocidades dos fluxos transvalvares e intracavitários e determinar a direção desses fluxos no interior das cavidades cardíacas (27).

A análise quantitativa das estruturas cardíacas é crucial no diagnóstico e manejo dos pacientes portadores de cardiopatias congênitas ou adquiridas. Na faixa etária pediátrica, a avaliação da dimensão das estruturas cardíacas indexadas à superfície corporal permite de forma segura a distinção entre um valor normal e outro anormal. A avaliação ecocardiográfica da função sistólica ventricular é de extrema importância na prática clínica, tendo em vista que a detecção de disfunção terá impacto direto na decisão terapêutica. Essa avaliação deve ser realizada de forma qualitativa e quantitativa, tendo em vista que a estimativa visual da função global e regional é altamente dependente da experiência do examinador e pode apresentar variabilidade significativa tanto intra quanto interobservador. Com relação à avaliação da função sistólica do VE, ela é feita entre outras maneiras, através do cálculo de fração de ejeção pelo método de *Teichholz*, sendo normal um valor acima de 55%, cálculo esse feito pelo *software* do aparelho de ecocardiograma (27).

1.7.2 Holter de 24 horas

O Holter de 24 horas (também chamado eletrocardiograma ambulatorial) consiste no registro do traçado eletrocardiográfico durante 24 horas, permitindo assim observar com maiores detalhes qualquer alteração que possa ocorrer na atividade elétrica do coração. Não causa nenhum desconforto, não necessita sedação e não é invasivo. É obtido com o paciente vivendo sua rotina habitual. Os laudos do exame descrevem as arritmias encontradas como taqui e bradiarritmias, bloqueios sinoatriais e atrioventriculares, assim como a frequência cardíaca média, máxima e mínima e alterações do intervalo QT. Além disso, faz a análise da variabilidade de frequência cardíaca (VFC) por medidas de domínio de tempo descrevendo a média dos valores de R-R (medida entre duas ondas R consecutivas do traçado) e também o SDNN (desvio padrão dos intervalos R-R durante todo o tempo de “traçado limpo” do Holter), pNN50 (número médio de vezes por hora em que os intervalos R-R excedem 50 milissegundos) e rMMSD (a raiz quadrada média das diferenças sucessivas entre os batimentos cardíacos normais). A VFC está diretamente relacionada ao funcionamento do sistema nervoso autônomo (SNA) e seus braços simpático e parassimpático. A análise da VFC pode ser feita também por medidas de domínio de frequência (baixa, alta e muito alta) e todas essas medidas são realizadas após o *software* que analisa o exame ter excluído os períodos de traçado com interferências

(28). Estudos realizados desde a década de 80 vem sugerindo que a avaliação da VFC possa ser um instrumento útil para oferecer informações sobre o neurodesenvolvimento em crianças expostas a algum risco de dano cerebral no período perinatal porque a VFC estaria relacionada não à integridade funcional do SNA mas a de todo o SNC (29,30). Esses estudos mostraram uma menor VFC nos pacientes que evoluíram com piora da evolução neurológica em alguns meses. Também, em um estudo de coorte na década de 1990, que acompanhou 6.914 pacientes desde o nascimento e que tiveram registro de Holter de 24 horas nos primeiros meses de vida, foi observada diferença estatisticamente significativa nos valores de FC e VFC medidos através do R-R, no grupo que evoluiu com morte súbita do lactente (MSL) quando comparado ao restante da amostra, sendo a VFC menor no grupo de 16 crianças que tiveram MSL durante o acompanhamento da coorte (31). Esse estudo sugeriu que a instabilidade cardíaca possa causar arritmias potencialmente letais e durante o período de maior desenvolvimento do SNA, que coincide com o período de maior risco de MSL, algumas crianças apresentem desenvolvimento acelerado ou assimétrico do braço simpático do SNA, colocando-as sob maior risco de MSL.

1.8 Confiabilidade de Medidas

Pesquisadores de vários campos vem, ao longo do tempo, interessados em avaliar erros de medições em estudos qualitativos como questionários e quantitativos como testes laboratoriais e interpretação de exames complementares. Os estudos de confiabilidade em epidemiologia datam de mais de um século, mas, no campo das pesquisas clínicas, o interesse é mais recente e surgiu para estudar melhor as diferenças de diagnósticos relatadas por médicos, diferença na acurácia de aparelhos de medição utilizados em laboratórios ou ainda, diferença em treinamento de médicos que trabalham com diversos tipos de tecnologias, como exames de imagem (32). Enquanto nas áreas de Psicologia e Educação existe consenso sobre o significado do conceito de confiabilidade, os pesquisadores das Ciências da Saúde ainda divergem bastante em relação à compreensão e interpretação de seu significado. Dessa forma, são utilizados diversos sinônimos como reprodutibilidade, repetibilidade, concordância, consistência, associação e precisão, entre outros (32) e essa diversidade de termos usados, algumas vezes com o mesmo significado e outras com

significados diferentes, torna confusa a interpretação do conceito e dos resultados de estudos pela comunidade médica que, de forma objetiva, deve ser quem precisa ser sensibilizada pelo resultado desses estudos. Nos estudos de confiabilidade, pretende-se, por exemplo, avaliar a quantidade de erro (aleatório ou sistemático) que ocorre quando as mesmas medidas são realizadas por dois ou mais observadores no mesmo grupo de sujeitos ou quando dois testes diagnósticos estão sendo avaliados para se determinar a possibilidade de substituição de um pelo outro com a certeza de que o teste a ser utilizado está medindo o que se propõe a medir. Entende-se por erro aleatório qualquer fator ao acaso que esteja interferindo no processo de medição de algum fenômeno. Assumindo-se que em qualquer processo de medição haverá algum erro aleatório, o que se procura medir em estudos de confiabilidade é a magnitude desse erro (32). Erros sistemáticos são aqueles que ocorrem nos processos de medição de forma repetida, por exemplo, por erro de calibração de um aparelho, por dificuldade visual do observador de algum fenômeno que faça com que ele, repetidamente, observe de forma errada o fenômeno a ser medido. Segundo Streiner & Norman (2015), não se mensura a confiabilidade de um determinado teste ou medida, mas sim a confiabilidade desse teste ou medida quando aplicado àquela determinada população em que o estudo foi realizado. Portanto, segundo esse autor, a confiabilidade é um conceito relativo à população na qual esse teste ou medida está sendo realizado e sua aplicabilidade à outras populações precisa sempre ser questionada (33).

Existem algumas ferramentas estatísticas para avaliar a confiabilidade de medidas e, entre elas o Coeficiente de Correlação Intraclasse-CCI (ICC do inglês *Intraclass correlation coefficient*) é uma das mais utilizadas. Ele faz a estimativa da fração da variabilidade total de medidas devido a variações entre os indivíduos. O valor do CCI obtém-se dividindo o valor da variação entre os indivíduos (V_b) pela variação total (V_t), que inclui a variação entre indivíduos e a variação não pretendida (o “erro- V_e ”). Foi chamada por Fischer de correlação “intraclasse” porque avalia a relação entre múltiplos observadores da mesma variável (33). Pode-se avaliar também a confiabilidade intraobservadores, que mede a quantidade de erros possíveis quando a mesma medida é realizada pelo mesmo observador em momentos diferentes (33). A análise do erro existente nas medidas realizadas também precisa ser acompanhada de uma avaliação da magnitude do erro. Se a medida a ser avaliada tem um intervalo de normalidade esperado, a confiabilidade pode não ser excelente

as o resultado final não mostrar erros que impliquem em condutas clínicas diferentes (33,34). O coeficiente de correlação intraclassa (CCI) é uma medida de correlação que avalia a homogeneidade de medidas contínuas dentro de uma amostra, daí sua grande utilização em estudos de confiabilidade. É calculado pela razão de variâncias, portanto, quanto mais próximo de 1, mais próximos são os valores dos dois grupos. A interpretação dos valores de CCI aceita por diversos autores e aplicada nesse estudo é a seguinte:

Valor	Classificação
$CCI \geq 0,75$	Excelente
$0,40 \leq CCI < 0,75$	Satisfatória
$CCI < 0,40$	Pobre

Considera-se então que, quanto maior o CCI (mais próximo de 1), menor a contribuição dos erros no processo de medida (35). Embora estabelecido de forma arbitrária, a interpretação de que um CCI acima de 0,75 seja um valor aceitável para se considerar como excelente a confiabilidade do teste ou medida é aceito pela maioria da comunidade científica (35).

Consensos e diretrizes médicas utilizam critérios clínicos e de exames complementares para orientar diagnósticos e sugerir condutas terapêuticas. Para isso, avalia-se a acurácia diagnóstica dos parâmetros utilizados através da medida de sensibilidade e especificidade, sendo a confiabilidade pré-requisito da acurácia (36).

O gráfico Bland-Altman é um instrumento utilizado para avaliar os limites de concordância entre duas medidas quantitativas. São utilizados média e desvio padrão das medidas para calcular limites estatísticos de concordância. Trata-se de um gráfico de dispersão em que o eixo Y é a diferença entre as duas medidas emparelhadas e o eixo X é a média destas medidas. Na sua representação, o diâmetro dos pontos é diretamente proporcional à frequência de concordância entre os examinadores (37, 38).

O gráfico de Bland-Altman tem como vantagem a possibilidade de chamar atenção para aumento do erro relacionado ao tamanho da medida, por exemplo.

Portanto, quanto mais próximo do zero estão as diferenças entre as medidas, maior a concordância entre essas medidas e o limite de concordância até dois desvios padrões a mais ou menos da diferença das medidas é um intervalo considerado clinicamente irrelevante (32). Segundo Abhaya Indrayan (34), a concordância entre duas medidas quantitativas pode ser avaliada através do CCI ou dos limites de concordância através do gráfico de Bland Altman, porém o autor entende que seria melhor chamar de limites de “discordância”.

Há poucas informações na literatura sobre a confiabilidade dos parâmetros obtidos através do ecocardiograma e que são utilizados nos consensos de cardiologia para orientar o manejo de cardiopatias congênitas e adquiridas como fechamento de canal arterial, de comunicação interventricular e comunicação interatrial e indicação de valvoplastias nos casos de insuficiências valvares como insuficiência mitral e aórtica reumáticas e, além disso, a informação existente mostra que a confiabilidade não é boa, dificultando a generalização de condutas e a aplicação das orientações que são estabelecidas nessas diretrizes e consensos (39,40,41,42). 13

2 JUSTIFICATIVA

A associação de infecção pelo ZIKV durante a gravidez e a ocorrência de microcefalia nos conceptos foi descrita pela primeira vez na literatura chamando atenção para a importância da avaliação de outras possíveis malformações que poderiam estar associadas nesses casos. Além disso, considerei importante entender se o diagnóstico de miocardite em recém natos (através da detecção de disfunção sistólica do ventrículo esquerdo - VE) mesmo sem história epidemiológica confirmada de exposição ao ZIKV, pudesse ser indicativo de solicitação de exames para confirmação do vírus e de investigação e acompanhamento neurológico dessas crianças.

No momento inicial da epidemia, os bebês foram submetidos à avaliação multidisciplinar, sendo relevante discutir se a avaliação cardiológica rotineira com exames de imagem dos recém natos com exposição antenatal ao vírus e assintomáticos do ponto de vista cardiológico seria necessária ou não, fazendo com que a alocação de recursos da saúde pudesse ser realizada de forma mais racional.

Estudos de confiabilidade contribuem entre outras coisas, para que seja avaliada a necessidade de maior treinamento entre os médicos de uma equipe que realizam os mesmos exames. Importante analisar se, apesar dos resultados de medidas de confiabilidade poderem mostrar confiabilidade diferente de excelente, os valores medidos estarem dentro da faixa de normalidade do que a equipe está medindo. Isso tem importância clínica porque mostra que as condutas da equipe estão padronizadas e facilita a interpretação pelos médicos assistentes.

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo Geral

Avaliar cardiologicamente recém natos e lactentes com exposição vertical ao ZIKV.

3.2 Objetivos Específicos

1.Descrever os achados na avaliação ecocardiográfica de recém natos e lactentes com exposição vertical ao ZIKV.

2.Avaliar a confiabilidade interobservador de um conjunto de resultados de medidas cavitárias e de função de VE obtidas pelo ecocardiograma.

3.Descrever os achados presentes à monitorização por Holter 24 horas de lactentes com exposição vertical ao ZIKV.

4 MÉTODOS

Estudo prospectivo, observacional, de descrição de alterações ao ecocardiograma bidimensional com color doppler e ao Holter de 24 horas de recém natos e lactentes com diagnóstico de exposição vertical ao ZIKV. Em uma parte da amostra que foi selecionada de forma aleatória, o ecocardiograma foi realizado de forma repetida no intervalo máximo de 15 dias por dois cardiopediatras para um estudo de confiabilidade de medidas cavitárias e da função do VE. Os profissionais que consistiram nas duplas de examinadores estavam cegados em relação aos resultados do exame anterior.

4.1 População do estudo

Recém natos e lactentes incluídos no estudo “Exposição Vertical ao Zika vírus e suas Consequências no Neurodesenvolvimento da Criança”, aprovado no Comitê de Ética em Pesquisa do Instituto Fernandes Figueira (IFF) sob o número CAAE 52675616.0.0000.5269. Esses bebês nasceram no IFF ou foram encaminhados para acompanhamento por haver suspeita de exposição vertical ao ZIKV de acordo com a determinação do Ministério da Saúde (21).

4.2 Cálculo amostral

Cenários de tamanho amostral mínimo necessário para estimativas com 95% de confiança (erro alfa de 5%) foram realizados no Win Pepi versão 11.62. Sendo necessário examinar 139 crianças, para estimar uma proporção de arritmia cardíaca ou alteração ao ecocardiograma de 10%, com erro absoluto de 5%. Para o estudo de confiabilidade, estimando-se um valor esperado de CCI $\geq 0,75$, com probabilidade de 90% e intervalo de confiança (IC) de 95%, foram necessários 44 ecocardiogramas realizados por dois examinadores.

4.3 Critérios de Elegibilidade

Inclusão:

Recém natos e lactentes incluídos no estudo “Exposição Vertical ao Zika vírus e suas Consequências para o Neurodesenvolvimento da Criança” no período de 201

5 a 2018 cujos pais ou responsáveis concordaram em participar do estudo e assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE).

Exclusão:

Recém natos e lactentes com alterações cromossômicas detectadas durante a vida fetal ou a qualquer momento após o nascimento e recém natos de mães com diagnóstico confirmado durante a gestação de outras infecções de transmissão vertical (dengue, rubéola) sabidamente relacionadas a alterações cardiológicas nos conceitos.

Este estudo é um subprojeto do projeto intitulado “Exposição Vertical ao Zika vírus e suas Consequências para o Neurodesenvolvimento da Criança” que abrange investigação da clientela pediátrica com microcefalia, de mães que referem ou não síndrome febril aguda durante a gestação, que estão em acompanhamento para vários desfechos clínico- laboratoriais e de imagem no Instituto Fernandes Figueira (IFF). Foi aprovado no Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) do IFF e do Instituto Nacional de Infectologia (INI)-Fiocruz (ANEXO 1).

4.4 Avaliação cardiológica

Os ecocardiogramas foram executados pelas três cardiopediatras do setor de Cardiopediatria do IFF, todas com mais de 15 anos de especialização e com título de especialista em Cardiologia Pediátrica pelas Sociedades Brasileiras de Pediatria e de Cardiologia, no aparelho Acuson X300 e os exames foram realizados durante o fluxo normal do ambulatório de cardiopediatria do IFF. Nenhum paciente necessitou sedação para realização do ECO e aqueles selecionados aleatoriamente para o estudo de confiabilidade das medidas cavitárias e de fração de ejeção do VE retornaram no prazo máximo de 15 dias. O estudo detalhado das estruturas cardíacas foi feito pelo modo bidimensional e as medidas cavitárias foram realizadas nos cortes estabelecidos na literatura: modo monodimensional do corte parasternal longitudinal de eixo longo do VE, ao nível dos folhetos aórticos (para medidas de aorta e átrio esquerdo) e do corte parasternal de eixo curto de VE ao nível dos folhetos da valva mitral para as demais medidas (27). Todos os pacientes que tiveram o diagnóstico de cardiopatia congênita foram absorvidos pelo ambulatório e encontram-se em acompanhamento. O estudo de Holter foi realizado com monitorização contínua por 24 horas e com o paciente em sua rotina habitual, realizada com aparelho DMS 300,

modelo Satélite Resting v.78 e análise em três derivações nos pacientes que os responsáveis concordaram com a realização do exame. A monitorização foi feita com o paciente internado por motivos clínicos e/ou cirúrgicos, no dia anterior à alta hospitalar. O acompanhante do paciente foi orientado a preencher uma ficha de atividades que aconteceram durante o exame (choro, nebulização com simpaticomiméticos, febre).

As sessões de METODOS, RESULTADOS, DISCUSSÃO encontram-se nos três artigos a seguir.

5.1° ARTIGO Cardiac findings in infants with in utero exposure to Zika virus- a cross

RESEARCH ARTICLE

Cardiac findings in infants with in utero exposure to Zika virus- a cross sectional study

Dulce H. G. Orofino^{1,2,3*}, Sonia R. L. Passos^{3*}, Raquel V. C. de Oliveira^{3*}, Carla Verona B. Farias^{4†}, Maria de Fatima M. P. Leite^{5†}, Sheila M. Pons^{6†}, Marcos V. de S. Pons^{6†}, Helena A. R. Teixeira Mendes^{7,8†}, Maria Elizabeth L. Moreira^{9†}, Karin Nielsen-Saines^{9†}

1 Department of Pediatrics, Fernandes Figueira Institute, Oswaldo Cruz Foundation, Rio de Janeiro, Brazil, **2** Souza Marques School of Medicine, Rio de Janeiro, Brazil, **3** Laboratory of Clinical Epidemiology, Evandro Chagas National Institute of Infectology, Oswaldo Cruz Foundation, Rio de Janeiro, Brazil, **4** Department of Infectious Diseases, Fernandes Figueira Institute, Oswaldo Cruz Foundation, Rio de Janeiro, Brazil, **5** Department of Clinical Research, Fernandes Figueira Institute, Oswaldo Cruz Foundation, Rio de Janeiro, Brazil, **6** Department of Medicine, Division of Infectious Diseases, University of California, Los Angeles, California, United States of America

* These authors contributed equally to this work.
† CVBMF, McRMPL, SMP, MVISP, HARTM, MELM, and KNS also contributed equally to this work.
* dulceorofino@yahoo.com.br



OPEN ACCESS

Citation: Orofino DHG, Passos SRL, de Oliveira RVC, Farias CVB, Leite MFM, Pons SM, et al. (2018) Cardiac findings in infants with in utero exposure to Zika virus- a cross sectional study. *PLoS Negl Trop Dis* 12(3): e0006262. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0006262>

Editor: Walderez D. Dutra, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Minas Gerais, BRAZIL

Received: October 6, 2017

Accepted: March 4, 2018

Published: March 26, 2018

Copyright: © 2018 Orofino et al. This is an open access article distributed under the terms of the [Creative Commons Attribution License](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original author and source are credited.

Data Availability Statement: All relevant data are within the paper and its Supporting Information files.

Funding: Sonia Regina Lambert Passos was supported by MCTI (Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) Grants 443648/2016-1 and 310765/2016-1; supported by Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES)/Grant 88881130739/2016-01 and by Universidade

Abstract

Background

Antenatal exposure to Zika virus (ZIKV) is related to severe neurological manifestations. A previous study in Brazil reported an increased incidence of non-severe congenital heart defects in infants with diagnosis of congenital Zika syndrome but without laboratory confirmation of ZIKV infection in the mother or infant. The objective of this study is to report echocardiographic (ECHO) findings in infants with laboratory confirmed antenatal exposure to ZIKV.

Methodology

Cross sectional study of cardiologic assessments of infants born between November 2015 and January 2017 with confirmed vertical exposure to ZIKV in Rio de Janeiro, Brazil.

Results

The study enrolled 120 children with a median age of 97 days (1 to 376 days). In utero exposure to ZIKV was confirmed in 97 children (80.8%) through positive maternal polymerase chain reaction (PCR) results during pregnancy or a positive PCR result at birth; 23 additional children (19.2%) had maternal positive PCR results during pregnancy and postnatally. Forty-eight infants (40%) had cardiac defects noted on ECHO. Thirteen infants (10.8%) had major cardiac defects (atrial septal defect, ventricular septal defect, patent ductus arteriosus). None of the defects were severe. The frequency of major defects was higher in infants whose mothers had a rash in the 2nd trimester of pregnancy, or who had altered Central Nervous System (CNS) imaging postnatally or were preterm.

Editorial de São Paulo Produtividade. Helena Aleonor Rosa Teixeira Mendes was supported by Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) Grant 808871/2016/2016-00. The funders had no role in study design, data collection and analysis, decision to publish, or preparation of the manuscript.

Competing interests: The authors have declared that no competing interests exist.

Conclusions

Infants with *in utero* ZIKV exposure have a higher prevalence of major cardiac defects, however none were severe enough to require immediate intervention. For this reason, guidelines for performance of postnatal ECHO in this population should follow general newborn screening guidelines, which significantly reduces the burden of performing emergent fetal or neonatal ECHOs in a setting where resources are not available, such as most Brazilian municipalities.

Author summary

We performed cardiologic assessment of 120 infants born between November 2015 and January 2017 with confirmed vertical exposure to Zika virus (ZIKV). The diagnosis of ZIKV exposure was confirmed by PCR in maternal blood specimens and/or amniotic fluid during pregnancy and/or infant specimens including PCR of the cerebrospinal fluid (CSF) and/or urine following birth. Our study found a 10.8% incidence of structural heart defects in infants with a history of intrauterine exposure to ZIKV, a rate considerably higher than that observed in the general population. However, no patients were found to have severe structural heart defects. The presence of major defects was increased in infants whose mothers had a history of rash in the 2nd trimester, infants with altered CNS imaging and/or preterm infants. As severe heart defects requiring immediate intervention were not identified, guidelines for performance of postnatal ECHO in this population should follow the same criteria as the ones applicable to newborns in general, particularly since resources for performance of fetal and neonatal echocardiograms are not routinely available in most Brazilian municipalities.

Introduction

Zika virus (ZIKV) is an arbovirus of the Flavivirus genus like Dengue virus (DENV) and Yellow Fever virus (YFV) [1]. In response to the search for the causative agent of a "dengue-like" exanthematous disease in 2013, ZIKV was identified for the first time in Brazil by reverse transcriptase polymerase chain reaction (RT-PCR) in blood samples from patients in the Northeast region of the country [1]. Autochthonous transmission of ZIKV was confirmed in Brazil months later [2]. That same year, an increase in the number of infants with microcephaly born months after the outbreak was observed [3], thereby corroborating the possibility of congenital defects caused by vertical transmission of ZIKV. In 2016 the virus was identified by RT-PCR in tissue samples from two neonates with severe microcephaly [4] and by the detection of ZIKV in the amniotic fluid from two fetuses of women with history of rash during pregnancy [5,6,7]. Diagnosis of vertical exposure to ZIKV is therefore based on positive RT-PCR in mothers with suspected symptoms during pregnancy [5]. Congenital Zika syndrome, resulting from vertical transmission of the virus, includes microcephaly, specific findings from imaging of the central nervous system, visual and auditory deficits, and arthrogryposis [8,9,10].

Just as there are no reports, prior to 2015, of severe neurological manifestations related to vertical transmission of any Flavivirus, there are no reports of congenital heart defects in patients with confirmed vertical exposure to these viruses. A study in 2015 in Pernambuco State, Brazil, with 103 patients with diagnosis of congenital Zika syndrome but without

Laboratory confirmation of ZIKV infection in mothers or infants showed an increased incidence of non-severe congenital heart defects [11].

With the increase in the number of studies ordered in mother-infant pairs with suspected or confirmed ZIKV infection in pregnancy, it becomes important to verify which tests are really necessary to promote better use of health resources in Brazil and elsewhere while still enabling optimal care for these patients [12]. During the ZIKV epidemic in Rio de Janeiro, we performed 2D echocardiogram in neonates and infants with suspected *in utero* exposure to the virus. The present study describes the cardiac findings identified in this population.

Methods

We performed a cross-sectional study of infants born between November 2015 and January 2017 who had confirmed vertical exposure to ZIKV and were followed at our outpatient Pediatric Infectious Disease Clinic at the Fernandes Figueira Institute (IFF-FIOCRUZ). The infants who received echocardiograms were born either at IFF or other institutions with positive ZIKV maternal PCR results during pregnancy or positive PCR results at birth. Our institution is a national research referral center for high risk pregnancies and high risk infants. For this reason, during the Zika epidemic we were the major referral center in Rio de Janeiro for cases of suspected maternal or infant ZIKV infection.

All infants had negative serology result for other congenital infections including toxoplasmosis, rubella, cytomegalovirus, hepatitis B, C and HIV, in addition to no diagnosis of genetic syndromes potentially accompanied by congenital heart defects. None of the children had previous fetal ECHOs. The diagnosis of ZIKV exposure was confirmed by RT-PCR in a blood sample from the mother and/or in the amniotic fluid during pregnancy and/or in infant specimens including PCR of the cerebrospinal fluid (CSF) and/or urine following birth.

The following data were abstracted from medical records: maternal history of rash during pregnancy, gestational age at birth, diagnosis of congenital Zika syndrome, results of infants' CNS imaging, and PCR results of maternal and infant specimens.

Minor ECHO defects were defined as: persistent foramen ovale (PFO), patent ductus arteriosus (PDA) in premature infants up to three months of age or in term infants up to 15 days of age, physiological tricuspid regurgitation, and physiological pulmonary branch stenosis in premature infants. All other ECHO defects were considered major structural defects. Congenital heart defects that required any therapeutic intervention in the first days of life were considered severe structural heart defects [13].

Infant cardiologic evaluation included a complete clinical examination and full 2D and M-mode transthoracic echocardiography with pulsed and continuous Doppler and color Doppler, performed by pediatric cardiologists from the Pediatric Cardiology Department of IFF. The equipment used was the Siemens Acuson X300 Echocardiography system, and the studies were performed without sedation. The cardiologic evaluation was performed between 1 and 376 days of age.

Data analysis was descriptive and used absolute and relative frequencies of qualitative variables, like gender, PCR results and major ECHOs defects. Additionally, the 95% confidence interval (95% CI) of relative frequencies was provided. Age in days was described by the median, minimum and maximum. The association between qualitative variables and major ECHO defects (presence or absence) was based on the comparison of absolute and relative frequencies, considering differences of at least 10 percentage points (pp) as indicative of a potential difference between patients with and without major ECHO alterations. In addition, individual data were provided on all patients with major ECHO defects. Due to the study's descriptive design and the small number of major ECHO defects, we avoid using statistical

testing and we added Fisher exact test as only an additional information. The R software version 3.3.3 and the package `epiDisplay` were used to perform the data analyses.

The study was approved by the Institutional Review Board of the Brazilian National Institute of Infectious Diseases (INI-FIOCRUZ). All parents or guardians provided written informed consent. All data analyzed were anonymized.

Results

Among 186 children who met inclusion criteria (maternal and/or infant PCR results confirming in utero ZIKV exposure) 120 were brought by their parents or guardians to the pediatric clinic for a cardiac consult and performance of an echocardiogram. Sixty-six children were excluded from the study because they did not come for an echo study. The median age among the 120 participants was 97 days (1 to 376 days) with equal distribution of boys and girls. Eighty-nine subjects (74.2%; 95%CI = 65.4–81.7) were born at term. Ninety-seven infants (80.8%; 95%CI = 72.6–87.4) had confirmation of *in utero* exposure to ZIKV by a positive maternal PCR during pregnancy or a positive PCR result at birth. A total of 23 additional children (19.2%; 95%CI = 12.6–27.6) had positive maternal PCR results during pregnancy and a positive PCR result at birth. A total of 84 infants in the cohort had microcephaly and 25 had the diagnosis of vertical exposure to ZIKV because microcephaly was diagnosed on the morphologic ultrasound during pregnancy or were born with congenital Zika syndrome.

Forty-eight infants (40%; 95%CI = 31.2–49.3) had cardiac defects noted on ECHO. A PFO was the most common finding responsible for 72.9% (35 patients, 95%CI = 58.2–84.7) of ECHO abnormalities. Infants with a PFO had a median age of 29 days, ranging from 2 to 372 days. PDA was found in 6 patients (12.5%, 95%CI = 4.7–25.2). The median age of infants with PDA was 98 days, ranging from 2 to 288 days. Ventricular septal defects (VSDs) were seen in 4 patients (4.2%, 95%CI = 0.5–14.5) all of them were small perimembranous VSDs. Atrial septal defects (ASDs) of the small ostium secundum type were present in three patients (6.3%, 95%CI = 0.1–17.2). Physiological tricuspid regurgitation was seen in three patients (6.3%, 95%CI = 0.1–17.2) and arterial pulmonary hypertension in one infant. No cases of altered ventricular function, pericardial effusion, or coronary anomalies were found. One additional patient presented with left ventricular hypertrophy without dysfunction which was unrelated to the mother's gestational diabetes. Two infants had more than one defect.

Of 48 infants with ECHO abnormalities, 13 infants had major structural defects noted, representing 10.8% of 120 infants (95%CI = 5.9% to 17.8%). None had severe structural cardiac defects. All infants in the group with major structural defects had positive PCR results in CSF and/or urine at birth as seen in Table 1. Six of 13 infants in the group with major defects had microcephaly and 5 had abnormal CNS imaging (Table 1).

Major heart defects were 14% more frequent in preterm infants than in term babies, 10% higher in infants whose mothers had a history of rash in the 2nd trimester as compared to other time points or no rash, and 11% higher in infants with altered CNS imaging tests. Despite this trend, no statistically significant association was identified. No difference in frequency of cardiac defects was found between infants with and without microcephaly (46.1% in the group with major cardiac defects and 42.9% in the group without cardiac defects). Distribution of findings in infants with normal and abnormal echocardiograms are outlined in Table 2.

Discussion

Our study found a 10.8% (IC 95% = 5.9% to 17.8%) prevalence of major structural heart defects in infants with a history of intrauterine exposure to ZIKV, a rate considerably higher

Table 1. Characteristics of 13 patients with abnormal ECHO findings.

Patient	Sex	Age at ECHO (days)	PCR (m) ^a	PCR (n) ^b	Microcephaly	CNS imaging ^c	Gestational age (weeks)	2D-Echo	Birth-trimester
1	Girl	188	Positive	Positive	Yes	Positive	36	PDA ^d	2nd
2	Girl	129	Positive	Positive	No	Negative	40	PDA	2nd
3	Boy	132	Positive	Positive	No	Negative	40	VSD ^e	2nd
4	Boy	1	Positive	Positive	Yes	Positive	38	PAH ^f	1st
5	Girl	178	Positive	Positive	Yes	Positive	37	PDA	1st
6	Boy	2	Positive	Positive	Yes	Positive	40	VSD	1st
7	Girl	96	Positive	NA	Yes	Negative	38	ASD ^g	2nd
8	Girl	18	Negative	Positive	No	Positive	37	ASD	2nd
9	Girl	2	Positive	NA	Yes	Negative	35	LVH ^h	2nd
10	Boy	35	Positive	NA	No	Negative	39	ASD	2nd
11	Boy	91	Positive	Positive	No	Negative	39	VSD	2nd
12	Girl	7	Negative	Positive	No	Negative	38	POF ⁱ , VSD, RSPH ^j	Normal
13	Boy	NA ^k	Positive	NA	No	NA	37	VSD, POF	Normal

^a Mother's PCR

^b Neonate's PCR

^c Central nervous system imaging

^d Patent ductus arteriosus

^e Ventricular septal defect

^f Pulmonary arterial hypertension

^g Atrial septal defect

^h Left ventricular hypertrophy

ⁱ Patent foramen ovale

^j Relative stenosis of pulmonary branches

^k Not available

<https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0000302.t001>

than that observed in the general population. However, no patients were found to have severe structural heart defects. These results are similar to those of a study from the state of Pernambuco, Brazil, which evaluated infants with congenital Zika syndrome but without laboratory

Table 2. Differences between patients with and without major ECHO findings.

		Normal			Abnormal				
		n	%	95%CI	n	%	95%CI		
Sex	Boys	33	49.5%	39.7%	59.4%	6	46.2%	19.2%	74.9%
	Girls	34	50.5%	40.6%	60.3%	7	53.8%	25.1%	80.9%
Gestational age ^a	Pre-term	26	24.3%	16.9%	53.9%	3	38.5%	13.9%	68.4%
	Term	41	75.7%	66.3%	83.3%	8	61.5%	31.6%	86.1%
Birth (trimester) ^a	No Birth	0	7.5%	3.3%	14.2%	2	15.4%	1.9%	43.9%
	1st	33	50.0%	22.3%	40.5%	5	23.1%	5.9%	53.9%
	2nd	48	44.9%	35.2%	54.6%	7	33.8%	25.1%	80.9%
	3rd	38	16.8%	10.3%	20.3%	1	7.7%	0.2%	30.9%
CNS imaging tests ^{a,b}	Negative	77	69.5%	59.8%	78.1%	7	56.3%	27.7%	84.8%
	Positive	32	30.5%	21.0%	40.2%	5	43.7%	15.2%	72.9%

^a Variables with at least 10 percentage points at the difference between percentage of abnormal and normal ECHO groups.

^b Central nervous system imaging tests

Note: Fisher exact test p-value: Sex = 1.000, Gestational age = 0.337, Birth = 0.513, CNS Imaging test = 0.595.

<https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0000302.t002>

confirmation of intrauterine exposure to ZIKV. That study demonstrated an incidence of 13.5% of major ECHO defects but also found no severe congenital heart defects [11].

The prevalence of major cardiac defects in our study was 10 times higher in ZIKV infants (33 cases in 120 infants) than that observed in the general population. The reported prevalence of congenital heart defects in live born infants in Atlanta and China respectively was 8.1 to 11.1/1,000 [13,14], with a 1.5/1000 prevalence of severe congenital heart defects reported in China and in the U.S. left-to-right shunts (VSD, ASD, and PDA) were the most frequent defects, and accounted for half of the congenital heart defects reported in Atlanta [13]. In the American study, muscular VSD was the most common defect while tetralogy of Fallot was the most common cyanotic heart defect (0.47/1,000). In the Chinese study, prevalence of all types of VSD was 3.7/1,000 and tetralogy of Fallot was also the most common cyanotic congenital heart defect. A study in Nigeria reported similar findings [15]. In Brazil, a recent study reported a prevalence of congenital heart disease of 0.5 per 1000 live births across the country. Nevertheless, this study strongly suggests that there is significant under reporting of cases of congenital cardiac diseases in the country [16]. Previous studies have described congenital heart disease rates in Brazil ranging from 1 per 1000 in live births and 88 per 1000 in stillbirths [17]. Prior literature on the status of cardiac surgery for congenital heart disease in Brazil emphasizes the significant lack of resources for surgical procedures, with an overall country deficit estimated at 80% (i.e., 80% of infants in need of cardiac surgery in the first year of life did not receive them) [16], whereas mortality data following congenital heart surgery from the Heart Institute of the University of Sao Paulo was reported at 8% in 2016 [18]. This underscores the precarious condition in our country for adequate identification and management of serious congenital heart disease. From our data it appears that Zika-affected infants do not require emergent cardiac interventions.

Except for two infants with left ventricular hypertrophy and pulmonary arterial hypertension, we found left-to-right shunts in all infants with major cardiac defects, which is similar to that reported in previous epidemiologic studies of congenital heart disease [13,14,17].

In our study the finding of PDA in three neonates who were less than 15 days of age was considered physiological, and the presence of a PFO in 29.2% of our subjects should be analyzed within the context of the infants' age (all subjects were less than 13 months of age). It is known that in postmortem analyses, the incidence of PFO is 27.3%, but taking age into account, a study showed an incidence of 34.3% in the first three decades of life and a progressive decrease in later decades [19]. However, these patients should be followed to assess whether there is any difference in the incidence of closure with age.

There was a trend in our study for major heart defects to be more frequently observed in infants with preterm birth, in those whose mothers had second trimester of pregnancy infection and in infants who had altered CNS imaging studies. Our findings however were not statistically significant, but this could be a function of sample size. We believe these factors merit further investigation in future Zika infant cohorts that have larger sample sizes.

Although our study found a higher prevalence of structural cardiac defects than anticipated, it did not demonstrate any severe structural heart defects in infants with *in utero* ZIKV exposure. None of the infants needed cardiac procedures or surgery in the first days to months of life. We believe postnatal assessments performed routinely in maternity hospitals in Brazil which entail a newborn physical exam and a newborn oxygen saturation test prior to discharge from the hospital would be sufficient for identification of infants with major structural heart defects. Our findings support the recommendation that fetuses or infants with suspected or confirmed ZIKV exposure *in utero* should receive the same cardiac follow-up recommended for pregnant women and newborns in general.

Our study is the first to report echocardiogram findings in infants with laboratory confirmed antenatal exposure to ZIKV. Given the seasonality of ZIKV infection, it is difficult to

predict whether it will be possible in the future to report on echocardiographic findings of a larger series of infants with laboratory confirmed diagnosis. It would be important however, to be able to replicate these findings in studies evaluating a larger number of subjects.

Conclusions

A higher frequency of major heart defects was noted in ZIKV exposed infants as compared to the general population. None of these defects, however were considered severe. In light of our findings, we believe recommendations for fetal echocardiograms in pregnant women with confirmed ZIKV infection and performance of postnatal ECHOs in their infants, should follow the same criteria as those established for the general population of mothers and infants. This entails a complete physical exam at birth and measure of oxygen saturation prior to discharge. Recommendations for emergent echocardiographic evaluations in the neonatal period for all Zika exposed infants do not appear to be warranted, as a higher prevalence of severe heart defects was not identified. This recommendation is very relevant to scenarios where performance of fetal and pediatric echocardiograms is not feasible, including most Brazilian municipalities which lack the ability to perform these studies. All patients in the study with positive ECHO findings are being monitored prospectively so that the spontaneous closure or possible complications are readily identified.

Supporting information

S1 Checklist, Strobe checklist.
(DOCX)

Author Contributions

Conceptualization: Dulce H. G. Orofino, Sonia R. L. Passos, Raquel V. C. de Oliveira, Maria Elizabeth L. Moreira.

Data curation: Dulce H. G. Orofino, Sonia R. L. Passos, Raquel V. C. de Oliveira, Carla Verona B. Farias, Maria de Fatima M. P. Leite, Sheila M. Pone, Marcos V. da S. Pone, Helena A. R. Teixeira Mendes, Karin Nielsen-Saines.

Formal analysis: Dulce H. G. Orofino, Sonia R. L. Passos, Raquel V. C. de Oliveira.

Funding acquisition: Dulce H. G. Orofino, Sonia R. L. Passos, Raquel V. C. de Oliveira.

Investigation: Dulce H. G. Orofino, Sonia R. L. Passos, Raquel V. C. de Oliveira, Carla Verona B. Farias, Maria de Fatima M. P. Leite, Sheila M. Pone, Marcos V. da S. Pone, Helena A. R. Teixeira Mendes.

Methodology: Dulce H. G. Orofino, Sonia R. L. Passos, Raquel V. C. de Oliveira, Carla Verona B. Farias.

Project administration: Dulce H. G. Orofino, Sonia R. L. Passos, Raquel V. C. de Oliveira, Carla Verona B. Farias, Maria de Fatima M. P. Leite, Sheila M. Pone, Marcos V. da S. Pone.

Resources: Dulce H. G. Orofino, Sonia R. L. Passos, Raquel V. C. de Oliveira.

Software: Dulce H. G. Orofino, Sonia R. L. Passos, Raquel V. C. de Oliveira.

Supervision: Dulce H. G. Orofino, Sonia R. L. Passos, Raquel V. C. de Oliveira, Maria Elizabeth L. Moreira.

Validation: Dulce H. G. Orofino, Sonia R. L. Passos, Raquel V. C. de Oliveira.

Visualization: Dulce H. G. Orofino, Sônia R. L. Passos, Raquel V. C. de Oliveira, Karin Nielsen-Saines.

Writing – original draft: Dulce H. G. Orofino, Sônia R. L. Passos, Raquel V. C. de Oliveira.

Writing – review & editing: Dulce H. G. Orofino, Sônia R. L. Passos, Raquel V. C. de Oliveira, Carla Verona B. Farias, Maria de Fatima M. P. Leite, Sheila M. Pires, Marcos V. da S. Pone, Helena A. R. Teixeira Mendes, Maria Elizabeth L. Moreira, Karin Nielsen-Saines.

References

- Campos GS, Bandeira AG, Sardi SE. Zika virus outbreak, Bahia, Brazil. *Emerg Infect Dis* 2016; 21:1860–6. <https://doi.org/10.3201/e21101860> PMID: 26401710
- Zanluca C, de Melo VC, Mosmann AL, Dos Santos GI, Dos Santos CH, Luc K. First report of autochthonous transmission of Zika virus in Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 2015; 110:666–72. <https://doi.org/10.1590/0074-02751103180> PMID: 26001233
- Schuler-Faccini L, Ribeiro EM, Pinho IM, Horowitz DD, Cavalcanti DP, Passoa A et al. (2016). Possible association between Zika virus infection and microcephaly—Brazil, 2015. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 95 59–62. <https://doi.org/10.1093/mmwr.mm9505a1> PMID: 26825544
- Martins RB, Shaunagar J, Keating NK, Silva-Fleming L, Muehlenbachs A, Gary J, Goldsmith C, Hale G, Ritter J et al. *Notes from the Field: Evidence of Zika Virus Infection in Brain and Placental Tissues from Two Congenitally Infected Newborns and Two Fetal Losses, Brazil, 2015.* *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 2016; 95: 158–160 <https://doi.org/10.1093/mmwr.mm9508a1> PMID: 26400058
- Bassi P, Passini JP, Raja Gabaglia C, Carmaciano L, Wakimoto M, Ribeiro-Nogueira PM et al. Zika Virus Infection in Pregnant Women in Rio de Janeiro—Preliminary Report. *N Engl J Med* 2016 Mar 4; Epub ahead of print <https://doi.org/10.1056/NEJMp1603412> PMID: 26945829
- de Oliveira CS, da Costa Vasconcelos PF. Microcephaly and Zika virus. *J Pediatr (Rio J)* 2016; 92: 103–105 <https://doi.org/10.1016/j.jped.2016.02.003> PMID: 27000749
- Sano M, Sacramento GA, Khouf R, de Rosário MS, Costa F, Anisharjo G et al. Zika Virus Infection and Stillbirths: A Case of Hydrops Fetalis, Hydronecephaly and Fetal Demise. *PLoS Negl Trop Dis* 2016; 10: e0004517 <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0004517> PMID: 26914330
- Moore CA, Staples JE, Doherty WB, Passoa A, Ventura CV, Fonseca EB et al. Characterizing the Pattern of Anomalies in Congenital Zika Syndrome for Pediatric Clinicians. *JAMA Pediatr*. 2017 Mar 1; 171(3):288–295. <https://doi.org/10.1001/jamapediatrics.2016.3682> PMID: 27912890
- Ventura LO, Ventura CV, Lawrence L, van der Linden V, van der Linden A, Goss AL et al. Visual impairment in children with congenital Zika syndrome. *J AAPOS*. 2017 Apr 24; pii: S1091-8521(17)30111-7. <https://doi.org/10.1016/j.jaapos.2017.04.003> [Epub ahead of print] PMID: 28492178
- Russell K, Oliver SE, Lewis L, Barfield WD, Cragan J, Meaney-Delman D et al. Update: Interim Guidance for the Evaluation and Management of Infants with Possible Congenital Zika Virus Infection—United States, August 2016. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep*. 2016 Aug 26; 65(33):870–876. <https://doi.org/10.1093/mmwr.mm6503a1> PMID: 27088530
- Cavalcanti DD, Alves LV, Furtado GJ, Santos CC, Feitosa FG, Ribeiro MC, et al. Echocardiographic findings in infants with presumed congenital Zika syndrome: Retrospective case series study. *PLoS ONE* 12(4): e0179065. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0179065> PMID: 28429895
- Brazil. Ministério da Saúde (MS). Diretrizes metodológicas: estudos de avaliação econômica de tecnologias em saúde. Brasília: MS; 2009. (accessed 2013 Oct 30). Available at: http://www.saude.gov.br/images/publicacao-wa/wafiles/ati_economicas_tecnologias_saude_2009.pdf
- Reiter MD, Strickland MJ, Pfeifer-Colarusso T, Mohle WT, Corneo A. Prevalence of congenital heart defects in metropolitan Atlanta, 1998–2005. *J Pediatr*. 2008 Dec; 153(6):807–13. <https://doi.org/10.1016/j.peds.2008.05.059> Epub 2008 Jul 26. PMID: 18617650
- Qu Y, Liu X, Zhang J, Chen G, Mai J, Guo X et al. Incidence of Congenital Heart Disease: The 9-Year Experience of the Guangdong Registry of Congenital Heart Disease, China. *PLoS One*. 2016 Jul 13; 11(7): e0199257. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0199257> eCollection 2016. PMID: 27426588
- Abdulcadir M, Abdulkadir Z. A systematic review of trends and patterns of congenital heart disease in children in Nigeria from 1964–2015. *AF Health Sci*. 2016 Jun; 16(2):367–77. <https://doi.org/10.4314/ahs.v16i2.5> PMID: 27805650
- Pinto Junior VC, Branco KMP, Cavalcanti RC, Carneiro Junior W, Lima JRC, de Freitas SM et al. Epidemiology of congenital heart disease in Brazil. *Brazilian Journal of Cardiovascular Surgery*. 2002; 219–224. <https://doi.org/10.5805/1678-9741.20103016> PMID: 28107454

17. Pedro CA, Haddad J, Pedro SF, Peirone A, Pila CB, Marin-Neto JA. Psychiatric and congenital heart disease in South America: an overview. *Heart*. 2009 Sep; 95(17):1385–90. <https://doi.org/10.1136/hrt.2008.152017> PMID: 19174420
18. Cuneo LF, Jatene MB, Rao AA, Tanamas C, Perho J, Moreira LF, Ank E, Trindade E, Stolf AMG. Evaluation of surgical treatment of congenital heart disease in patients aged above 16 years. *Arq. Bras. Cardiol*. 98(5), 380–387. Epub March 28, 2012. <https://doi.org/10.1594/S0066-762X2013000000000> PMID: 22402107
19. Hagen PT, Scholtz DG, Edwards WD. Incidence and size of patent foramen ovale during the first 10 decades of life: an autopsy study of 965 normal hearts. *Mayo Clin Proc* 1984; 59:17–25. PMID: 6694427

6.2º ARTIGO Reliability of echocardiographic measurements in infants exposed to Zika virus.

Submetido ao periódico Archives of Diseases in Childhood. Esse artigo responde ao segundo objetivo da tese e avalia a confiabilidade interobservador de um conjunto de medidas cavitárias e de fração de ejeção do ventrículo esquerdo realizadas no ecocardiograma de recém natos e lactentes com exposição vertical ao Zika vírus.

Reliability of echocardiographic measurements in infants exposed to Zika virus.

Dulce Helena Gonçalves Orofino ^{a,b,d} MD, MSc; Sonia Regina Lambert Passos^{a,c} MD, PhD; Thiago Moreira Ramos ^{a,c}, Leticia Machado Lima e Silva^{a,c}; Carla Verona Barreto Farias^b MD, MSc; Maria de Fatima Moreira Pereira Leite^b MD, PhD; Rafaela Valentim Goldenzon ^{a,c}; Raquel de Vasconcellos Carvalhaes de Oliveira^a PhD.

- a. Fundação Oswaldo Cruz, Instituto Nacional de Infectologia Evandro Chagas, Rio de Janeiro, Brazil.
- b. Instituto da Criança da Mulher e do Adolescente Fernandes Figueira, Department of Pediatrics, Fiocruz, Rio de Janeiro, Brazil.
- c. Universidade Estácio de Sá, Rio de Janeiro, Brazil.
- d. Escola de Medicina Souza Marques, Rio de Janeiro, Brazil..

Corresponding Author: Dulce Helena Gonçalves Orofino. email: dulceorofino@yahoo.com.br.
Mailing Address: Department of Pediatrics, Fernandes Figueira Institute, Oswaldo Cruz Foundation, Av. Rui Barbosa, 716, Flamengo, Rio de Janeiro, RJ, Brazil, CEP: 20021-140.
Phone 55 (21) 2554-1700.

Word count: 2273

ABSTRACT: Objectives: To assess the reliability of echocardiographic cardiac chamber measurements in infants in utero exposed to Zika virus. Design: Blinded cross-sectional diagnostic study with two independent measurements by two different raters of cardiac chamber dimensions using echocardiography. Setting: The outpatient clinic of a national reference center for maternal and child health, Rio de Janeiro, Brazil. Patients: We studied 50 infants with in utero exposure to Zika virus ranging from 30 to 270 days old. Main outcome: The analysis included the measurements of the aortic root, left atrium, end diastolic left ventricle, systolic left ventricle, left ventricular ejection fraction, ventricular end diastolic septal thickness, end diastolic thickness of the left ventricular posterior wall and right ventricle. Bland-Altman plots were used to explore differences. Reliability according to intraclass correlation coefficients (ICC) was interpreted as follows: excellent ≥ 0.75 , fair to good $0.4 \leq \text{ICC} < 0.75$, and poor with $\text{ICC} < 0.4$. Main outcome measures: All parameters had mean difference of diameters near to zero, excluding left ventricle ejection fraction. Ventricular end-diastolic septal thickness and end-diastolic-thickness of the left ventricular posterior wall showed few unique mean values. Reliability was excellent for the aortic root and end diastolic left ventricle ($\text{ICC}=0.86$ and 0.91 , respectively), fair/good to poor for other parameters and the left ventricle ejection fraction, ventricular end diastolic septal thickness and the end diastolic thickness of the left ventricular posterior wall showed the lowest reliability ($\text{ICC}=0.46, 0.37, 0.53$, respectively). Conclusion: The minor divergences did not affect the echocardiography results in our sample. However, caution is required to interpret results of measures with low reliability.

Key words: Reliability, interobserver, echocardiography, Zika virus.

INTRODUCTION:

Echocardiography (ECHO) is currently the gold standard imaging method for the diagnosis of most congenital and acquired cardiopathies and for the evaluation of myocardial function and cardiac chamber size and overload. It is a non-invasive and safe test with rapid real-time acquisition of images at low cost and without contraindications. Echocardiographic measures of left ventricular (LV) and right ventricular (RV) structure and function are used to define ventricular function and guide decisions to the need for indication of inotropic medications, to assess the hemodynamic repercussions of patent ductus arteriosus (PDA) in premature infants and the possible need for pharmacological or surgical closure, to assess the repercussions and indication of closure of pulmonary hyper-flow congenital cardiopathies like ventricular septal defect (VSD) and atrial septal defect (ASD), for pharmacological and surgical treatment of valvular regurgitations like mitral valve insufficiency (MVI) and aortic valve insufficiency (AVI), and to determine the most adequate surgical procedure in cases of complex congenital cardiopathies.[1] Despite the clinical and research importance placed on pediatric echocardiographic measurements, little has been published about the reliability of these measurements for which multiple raters independently measure the same sample when the true value is not known.[2]

Studies from the 1970s and 1980s provided the normal parameters for cardiac cavity dimensions until 2000,[3,4] when the results from a study in 2,036 children were published, redefining the normal ranges for parameters through the production of graphs that used body surface as a criterion and established mean values \pm two standard deviations for each measurement.[5]

As with any measurement, echocardiographic quantification is subject to error, so it is important to assess the degree of inter-observer reliability. Intraclass correlation coefficient (ICC) estimates the fraction of the total variability of measurements due to inter-individual variations. Variation due to errors should include different components, depending on the study design.[6] The Bland-Altman plot is used to assess agreement between two quantitative measurements. The mean and standard deviation of the measurements are used to calculate the agreement's statistical limits. Bland-Altman is a scatter plot in which the Y axis is the difference between the two paired measurements and the X axis is the mean of these measurements. The diameter of the points is directly proportional to the frequency of inter-rater agreement[7,8].

33

The closer to zero are the differences between measurements, the greater the agreement between these measurements and the limit of agreement up to two standard deviations plus or minus the difference of the measurements is a range considered clinically irrelevant [9].

In previous study, our search group showed cardiac alterations associated with in utero exposure to ZIKV: 10% of patients presented major defects such as ASD, VSD, and PDA but no severe defects were found [10].

We study the reliability of cardiac chamber measurements using ECHO in a sample of patients with cardiac defects without hemodynamic repercussions from a cohort of infants in utero exposed to ZIKV followed by a Brazilian national reference center to maternal and child health. All the infants were referred for a clinical and echocardiographic evaluation because of the antenatal exposure to ZIKV.

METHODS:

Settings and participants: This is a blinded cross-sectional diagnostic study with two independent measurements from two different raters of cardiac dimensions using ECHO of infants born between November 2015 and January 2017 who were followed at our outpatient Pediatric Infectious Disease Clinic at the Fernandes Figueira Institute (IFF-FIOCRUZ). The infants who performed echocardiograms were born either at IFF or other institutions with positive ZIKV maternal PCR results during pregnancy or positive PCR results at birth. Our institution is a national research referral center for high risk pregnancies and infants. For this reason, during the Zika epidemic we were the major referral center in Rio de Janeiro for cases of suspected maternal or infant ZIKV infection and it was an opportunity to evaluate our cardiologist team in order to provide a better support to our patients. The sample size was calculated estimating an expected ICC value ≥ 0.75 , with a probability of 90% and with the respective 95% confidence intervals (95% CI). The study was approved by the Institutional Review Board of the Brazilian National Institute of Infectious Diseases (INI-FIOCRUZ). All parents or guardians provided written informed consent. All data analyzed were anonymized.

Procedures: The tests were performed by two pediatric cardiologists at the Department of Pediatric Cardiology of IFF, using an Acuson X300 echocardiography system, blinded in relation to the previous tests. All pediatric cardiologists are certified specialists in Pediatric Cardiology by the Brazilian Society of Cardiology and Brazilian Society of Pediatrics and have more than 15 years of practice in the specialty. No patient required sedation to undergo the tests,

34

which were repeated by the second rater with a maximum interval of 15 days. The tests were performed during the normal patient flow in the Pediatric Cardiology Outpatient Department of IFF, and the cavity measurements were taken routinely during ECHO examination.

The cardiological evaluation took place between 30 and 270 days of life and included measurements of aortic root, left atrium, end-diastolic left ventricle, systolic left ventricle, right ventricle, left ventricular ejection fraction, ventricular end-diastolic septum thickness, and end diastolic thickness of the left ventricular posterior wall. Measurements were taken at the cross-sections defined in the echocardiography guidelines, namely the unidimensional mode of the parasternal longitudinal section of the long axis of the left ventricle at the level of the aortic valve leaflets to measure the aorta and left atrium, and for the others, the parasternal section of the short axis of the left ventricle at the level of the mitral valve leaflets.[1]

Statistical Analysis: The analysis was performed in Med Calc 17.9 and the free software R 3.5.1 [11] using the BlandAltmanLeh and nopaco packages. The median values expressed in centimeters with the respective interquartile ranges (IQR) were summarized in tables and compared with the normal values according to body surface.[5] Due to rejection of the normality of measurements according to the boxplot and Shapiro-Wilk test, the two measurements were also compared using the Wilcoxon sign test and p value < 0,05 was considered a significant difference.

Intraclass correlation coefficients (ICC) were obtained by dividing the value of the variation of the individuals by the total variation (which is the variation of the individuals plus the unintended error) with the respective 95% confidence intervals (95% CI). Interpretation of ICC values was as follows: excellent reliability when ≥ 0.75 , fair to good with $0.4 \leq \text{ICC} < 0.75$, and poor when $\text{ICC} < 0.4$. [6] Bland-Altman plots were produced to explore the distribution of each ECHO measurement considering the size of the differences between the two independent raters, using as the reference the mean of the differences and limits determined by two standard deviations below and above the mean. Each point's size is determined by the value's frequency [7,8].

RESULTS:

We performed two echocardiograms by two different raters with maximum interval of 15 days in 50 infants of the 120 patients who were brought by their parents or guardians to the

35

pediatric clinic for a cardiac consult and performance of an echocardiogram because of the antenatal exposure to ZIKV. No infant had a diagnosis of congenital cardiopathy with hemodynamic repercussions. The mean age of the 50 infants was 111 days (95% CI= 94.7127.3), with body surface varying from 0.2 to 0.3 m²; 60% were girls, and 86% were term infants.

Table 1 showed the medians calculated for the measurements performed by raters 1 and 2.

Table 2 showed ICC for the measurements performed by raters 1 and 2.

Medians of aortic root, systolic left ventricle, end-diastolic left ventricle, ventricular end-diastolic septal thickness and end-diastolic-thickness of the left ventricular posterior wall did not show differences between two measurements ($p>0.05$, Table 1). Left ventricle ejection fraction was the parameter with significant difference between two raters ($p<0,05$, Table 1) and poor reliability but, even so, the values were within normal values (Table 1 and 2).

Diameters of aortic root and end-diastolic left ventricle showed excellent reliability (respective ICC 0,86 and 0,91, Table 2). When compared to others, the lowest structures were diameter of ventricular end-diastolic septal thickness and end-diastolic-thickness of the left ventricular posterior (Table 1) and they showed, also, the lowest ICC (Table 2).

36

Table 1: Dimensions (in centimeters) of two independent echocardiographic measurements from different raters in 50 infants (medians and interquartile ranges) with in utero exposure to ZIKV, and respective normal values.

	Rater 1		Rater 2		p value †	Reference value	
	Median (cm)	IIQ* (25 – 75%)	Median (cm)	IIQ* (25 – 75%)		Mean (cm)	95%CI‡
Aorta	1.1	1.1-1.2	1.1	1.0 – 1.2	0.401	1.13	(0.9-1.36)
Left atrium	1.4	1.2 – 1.6	1.4	1.3 – 1.6	0.688	1.53	(1.15-1.91)
Left ventricle in diastole	2.1	1.9 – 2.4	2.1	1.9 – 2.4	0.694	2.29	(1.8-2.58)
Left ventricle in systole	1.2	1.0 – 1.3	1.3	1.1 – 1.4	0.052	1.48	(1.08-1.88)
Interventricular septum	0.4	0.3 – 0.4	0.4	0.3 – 0.4	0.596	0.39	(0.25-0.53)
Left ventricular posterior wall	0.4	0.3 – 0.4	0.4	0.3 – 0.4	0.260	0.41	(0.28-0.54)
Right ventricle	0.9	0.7 – 1.0	0.9	0.8 – 0.9	0.381	0.87	(0.42-1.32)
Left ventricle ejection fraction	76.5	69.0-83.0	69.5	66.0 – 75.0	0.003	> 55%	

*Interquartile ranges; † Wilcoxon sign test (p value < 0,05); ‡ Confidence interval.

Table 2: Reliability of target parameters in two independent echocardiographic measurements by two raters, expressed as intraclass correlation coefficients (ICC) and respective 95% CI in 50 infants with in utero exposure to ZIKV.

Parameter (diameter in cm)	ICC			Interpretation
	ICC	95% CI	95% CI	
Aortic root	0.86	0.75	0.92	Excellent
Left atrium	0.60	0.30	0.77	Fair / Good
End-diastolic left ventricle	0.91	0.84	0.95	Excellent
Systolic left ventricle	0.61	0.31	0.78	Fair / Good
Ventricular end-diastolic septal thickness	0.39	-0.104	0.64	Poor
End-diastolic-thickness of the left ventricular posterior wall	0.53	0.17	0.73	Poor
Right ventricle	0.58	0.25	0.76	Fair / Good
Left ventricle ejection fraction	0.00	-1.57	0.17	Poor

The Bland Altman plots showed mean differences between two raters near to zero and almost all the measurements within two standard deviations above and below the difference of measurements (Figure 1 and 2). This is a very important information because the differences did not change medical decisions.

DISCUSSION:

This is one of the first studies on the reliability of echocardiographic parameters in infants. The parameters with better reliability were aortic root and end-diastolic left ventricle, while the other parameters varied from good/fair to bad, especially those with smaller dimensions, namely ventricular end-diastolic septal thickness and end-diastolic thickness of the left ventricular posterior wall. However, the disagreements occurred in approximately 0.5% of patients. The small divergences did not affect the echocardiographic test reports, which could be explained by the fact that differences of 1 mm altered the reliability of two measures but did not exceed the normal range for the cavity measurements assessed in this study. Since the system calculates left ventricle ejection fraction as the ratio between end-diastolic left ventricle and systolic left ventricle, it was mainly affected by the discrepancies in the measurements of the systolic left ventricle. However, the values measured by the two raters were within the normal values and no different medical decisions were made. Medical consensus and guidelines use clinical and complementary test criteria to orient diagnosis and treatment decisions. This involves assessing the parameters' diagnostic accuracy by measuring the sensitivity and specificity, with reliability as a prerequisite for accuracy.[12]

Echocardiography is an easy test to perform, and its use as a parameter to guide clinical or surgical approaches requires good reliability of measurements obtained by different observers. However, there is little information in the literature on the reliability of the parameters obtained with echocardiography and used in cardiology guidelines to indicate closure of the ductus arteriosus, VSD, and ASD or valvuloplasty in cases of valvular insufficiencies such as rheumatic mitral and aortic valve insufficiencies.

Geelhoed et al found good reliability for echocardiographic measurements of left heart structures in 28 healthy children with median age of 7.5 years.[13] Another study assessing reliability of left ventricular systolic function of 59 potential pediatric heart donors with less than 18 years reported that ICC between measurements done by local hospitals and by trained pediatric cardiologist at a pediatric heart center was 0.59 (fair to good) and in this study, 20% of echocardiograms with LV dysfunction by local measurements turned out to have normal

39

function when measured in the central laboratory.[14] Lipshultz et al compared measurements of LV dimension and wall thickness obtained on 735 children of HIV-mothers at 10 clinical sites and concluded that they differed so much that a central echocardiographic facility is needed to provide consistent and reliable data for research studies and clinically meaningful results.[15] None of these studies evaluated infants.

The low reliability of a test limits the generalization of approaches and recommendations in guidelines and consensus.[16,17] As an example, the score proposed by McNamara and Sehgal for closure of the PDA in premature infants included clinical criteria and echocardiographic measurements. Among the measurements tested, those with the highest predictive value for indication of closure of a hemodynamically significant PDA were the size of aortic root and left atrium, but they were also the parameters with the lowest inter-rater reliability.[16] In our study, the size of aortic root showed excellent reliability, while reliability of left atrium was fair. This suggests that the use of this score or any other to indicate closure of PDA may be compromised by the difficulty in reproducing these measurements by different observers and in distinct settings. Schwarz et al. (2016) studied the reliability of ECHO parameters for the diagnosis of PDA in low birth weight premature infants and found poor reliability for the size of aortic root and left atrium, while the reliability was somewhat better for other parameters (short axis of the ductus arteriosus, resistance index of the celiac artery and anterior cerebral artery, among others)but some of these parameters were not assessed in our study.[18]

Alterations in the Bland-Altman plot may occur due to the limited number of unique observations and the concentration of points at given mean values, which can lead to low overall agreement indices (e.g., ICC). ICC also considers normal data and is affected by the data's deviation from normality and variability, as is the Bland-Altman plot. Due to the non-normality of four of the parameters studied in the current sample (systolic left ventricle, ventricular enddiastolic septal thickness and end-diastolic-thickness of the left ventricular posterior wall and right ventricle), caution is recommended when interpreting the plots, as well as the reliability results (ICC).

This study has limitations. The sample size is small but similar to or larger than other studies on this topic in the literature. It is important to consider that our sample consisted of infants with antenatal exposure to ZIKV but without congenital cardiac defects with hemodynamic repercussions and so, our results can probably be applied to infants without ZIKV exposure and without cardiac defects with hemodynamic repercussions. To confirm our results it is important to expand this study for patients without antenatal exposure to ZIKV.

CONCLUSIONS: Although we found variable reliability for all the cardiac measurements, the minor divergences did not affect the echocardiography results in our sample and no different medical decisions were made. However, caution is required to interpret results of measures with low reliability (ventricular end-diastolic septal thickness, end-diastolic-thickness of the left ventricular posterior wall and left ventricle ejection fraction).

Funding: This study was supported by MCTI and Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq, Brasília) Grant 440846/2016-1 and Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES, Brasília) Grant 88881130793/201601. Sonia R.L. Passos had grants from CNPq 310765 /2016-1 and by Universidade Estácio de Sá Produtividade em Pesquisa, RJ. Thiago M Ramos had a scholarship by ITI A CNPq,Brasília Processo: 180767/2017-8 ; Leticia M.L. e Silva had a scholarship by Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES, Brasília) Grant 88887130789/2016-00 and Rafaela.V.Goldenzon by MCTI Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq, Brasília) Grant 182108/2016-3.The funders had no role in study design, data collection and analysis , decision to publish, or preparation of the manuscript.

Conflicts of interests: The authors have declared that no competing interests exist and none relationships with industry/other entities.

What is already known on this topic:

- 1) Clinical management of children with cardiac disease is frequently based on echocardiographic measurements of left and right ventricular structure and function.
- 2) The use of echocardiography as a parameter to guide clinical or surgical approaches requires good reliability of measurements obtained by different observers.
- 3) Despite the importance placed on pediatric echocardiographic measurements, little has been published about the reliability of these measurements in infants.

41

What the study adds:

- 1) The parameters with the best reliability were diameters of aortic root and end-diastolic left ventricle. The other parameters varied from good/fair to bad.
- 2) Although the reliability found was not excellent for all measurements, they did not exceed the normal range for the cavitory measurements.
- 3) Caution is required to use echocardiographic measurements in infants to orient diagnosis and treatment decisions.

REFERENCES:

1. Grau CRPC, Kozak MF, Guerra VC. Ecocardiografia. In: Croti UA, Mattos SS, Pinto Jr VC, Aiello VD, Moreira VM. *Cardiologia e Cirurgia Cardiovascular Pediátrica*. 2ª ed. São Paulo: Roca 2012: 119-40.
2. Fleiss, JL. *The design and analysis of clinical experiments*. New York, NY: John Wiley and Sons; 1986.
3. Epstein ML, Goldberg SJ, Allen HD, Konecke L, Wood J. Great vessel, cardiac chamber, and wall growth patterns in normal children. *Circulation* 1976Jun;51(6):1124-9.
4. Henry WL, Gardin JM, Ware JH. Echocardiographic measurements in normal subjects from infancy to old age. *Circulation* 1980Nov;62(5):1054-61.
5. Kampmann C, Wiethoff C, Wenzel A, et al. Normal values of M mode echocardiographic measurements of more than 2000 healthy infants and children in central Europe. *Heart* 2000;83(6):667-672. doi:10.1136/heart.83.6.667.
6. Shrout PE, Fleiss JL. Intraclass Correlations: Uses in Assessing Rater Reliability. *Psychological Bulletin* 1979;86(2):420-428

42

7. Bland JM, Altman DG. Statistical methods for assessing agreement between two methods of clinical measurement. *Lancet* 1986;1(8476):307–10. doi: 10.1016/S0140-6736(86)90837-

8. Giavarina D. Understanding Bland Altman analysis. *Biochemia Medica* 2015;25(2):141-151. doi:10.11613/BM.2015.015.

10. Indrayan A. Clinical Agreement in Quantitative Measurements. In: Doi SAR, Williams GM. *Methods in Clinical Epidemiology: Springer Series on Epidemiology and Public Health*. Springer, 2013. 17-27.

11. Orofino DHG, Passos SRL, de Oliveira RVC, Farias CVB, Leite MdFMP, Pone SM, et al. (2018) Cardiac findings in infants with in utero exposure to Zika virus- a cross sectional study. *PLoS Negl Trop Dis*. 2018 Mar 26;12(3): e0006362. doi: 10.1371/journal.pntd.0006362.
eCollection 2018 Mar

12. R Core Team (2015). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <https://www.R-project.org/>.

13. Bossuyt PMM, Reitsma JB, Bruns DE, et al. The STARD statement for reporting studies of diagnostic accuracy: explanation and elaboration. *Clin Chem*. 2003;49(1):7-18.

14. Geelhoed MJ, Snijders SP, Kleyburg-Linkers VE, Steegers EA, van Osch-Gevers L, Jaddoe VW. Reliability of echocardiographic measurements of left cardiac structures in healthy children. *Cardiol Young* 2009 Sep;19(5):494-500. doi: 10.1017/S1047951109990862. Epub 2009 Aug 20.

15. Chen S, Selamet Tierney ES, Khush KK, Nguyen J, Goldstein BA, May LJ, Hollander SA, Kaufman BD, Rosenthal DN. Reliability of echocardiographic measurements of left ventricular systolic function in potential pediatric heart transplant donors. *J Heart Lung Transp* 2015 Jan;34(1):100-6. doi: 10.1016/j.healun.2014.08.019. Epub 2014 Aug

43

28.

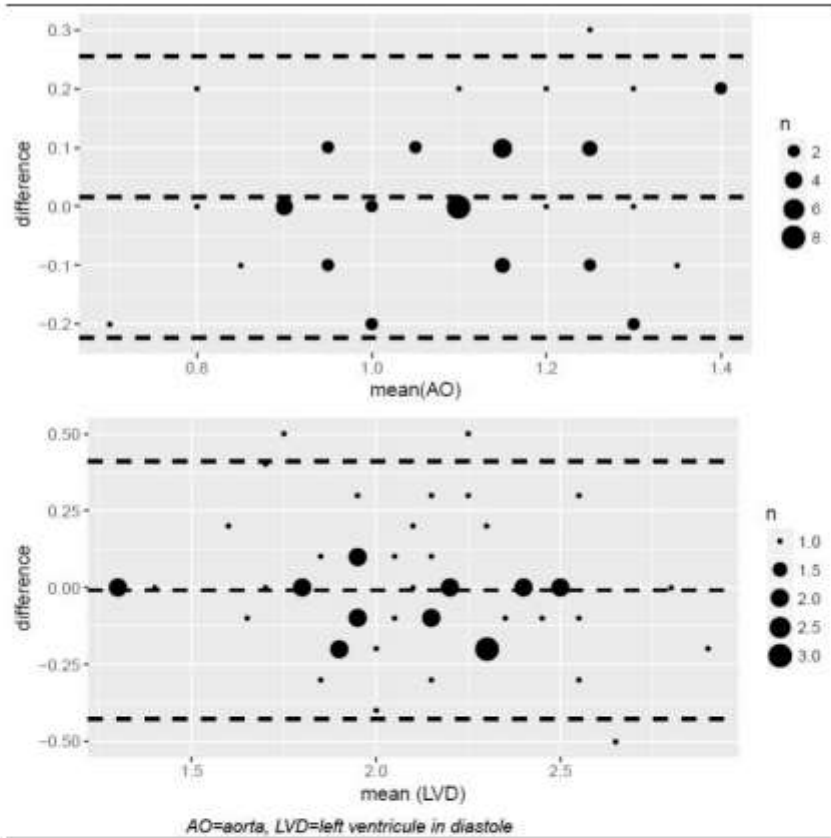
16.Lipshultz SE, Easley KA, Orav EJ, Kaplan S, Stare TJ, Bricker JT, Lai WW, Moodie DS, Sopko G, Schluchter MD, Colan SD. Reliability of Multicenter Pediatric Echocardiographic Measurements of Left Ventricular Structure and Function: The Prospective P²C² HIV Study. *Circulation*. 2001 Jul 17;104(3):310-6.

17.McNamara PJ, Sehgal A. Towards rational management of the patent ductus arteriosus: the need for disease staging. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Edition* 2007;92(6): F424-7. doi: 10.1136/adc.2007.118117.

18.Yyer P, Evans N. Re-evaluation of left atrium to aortic root ratio as a marker of patent ductus arteriosus.*Arch Dis Fetal Neonatal Ed* 1994;70:f112-7.

19.Schwarz C E, Preusche A, Baden W Poets C F,Franz A R.Repeatability of echocardiographic parameters to evaluate the hemodynamic relevance of patent ductus arteriosus in preterm infants: a prospective observational study. *BMC Pediatrics* 2016; 16: 18.

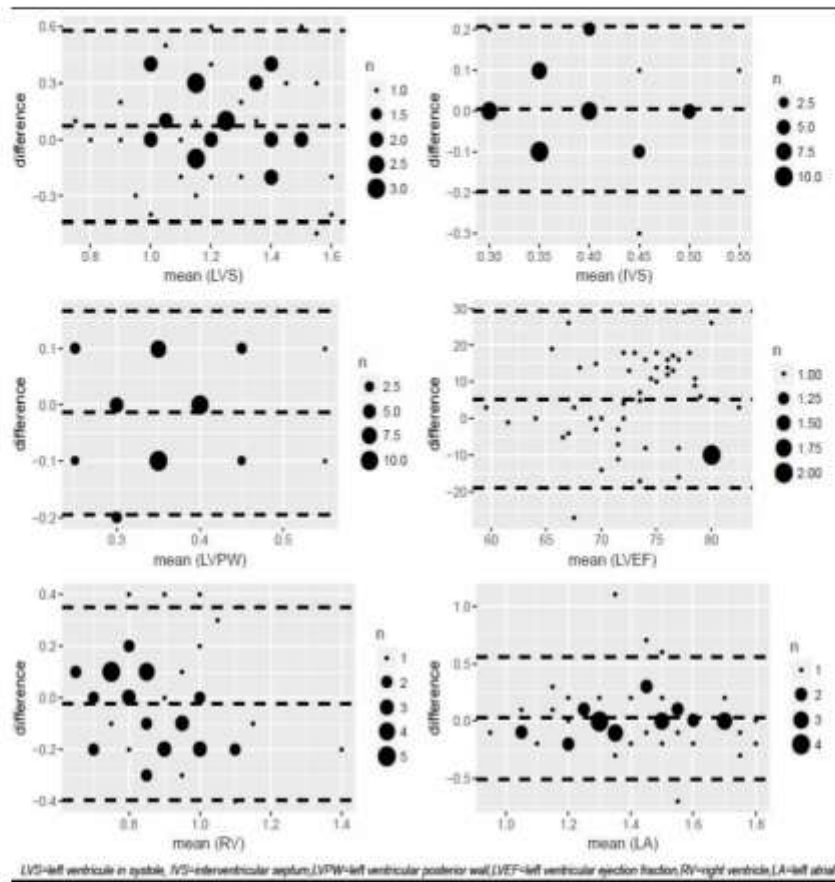
44



Legend Figure 1: Bland-Altman plot of ECHO measurements with excellent agreement by two pediatric cardiologists. Brazil, 2018.

Note:AO=aortic root, EDLV=end-diastolic left ventricle, SD=standard Deviation, CE1=cardiological evaluation 1 and CE2=cardiological evaluation 2. Excellent agreement (Mean difference between CEs near to zero and low differences).

45



Legend Figure 2: Bland-Altman plot of ECHO measurements with good to poor agreement by two pediatric cardiologists. Brazil, 2018.

Note: SLV= systolic left ventricle, EDVS= end diastolic ventricular septum, EDPW= enddiastolic-thickness of the left ventricular posterior wall, LVEF=left ventricular ejection fraction, RV=right ventricle, LA= left atrium, CE1= cardiological evaluation 1, CE2= cardiological evaluation 2, SD=standard deviation. LA: Good agreement (Mean difference between CEs near to zero). EDPW and EDVS: Poor agreement (Mean difference between CEs near to zero with few unique values). SLV and RV: Fair to good agreement (Mean difference between CEs near to zero but with some differences higher than 0.4 mm) and LVEF: Poor agreement (High variability of differences between the two CEs).

7.3° ARTIGO: Achados ao Holter-24 horas de lactentes com exposição vertical ao Zika vírus.

Formatado para a revista PLOS Neglected Tropical Diseases. Esse artigo responde ao terceiro objetivo da tese e descreve os achados ao Holter de 24 horas de lactentes com exposição vertical confirmada ao Zika vírus.

Full Title: Achados ao Holter-24 horas em lactentes com exposição intra útero confirmada ao Zika Vírus- estudo observacional.

Short Title: Achados ao Holter em lactentes expostos ao Zika vírus.

Dulce Helena Gonçalves Orofino ^{a,b,d} MD, MSc; Sonia Regina Lambert Passos^{a,c} MD, PhD; Sheila Moura Pone^b MD, PhD; Marcos Vinicius da Silva Pone^b MD, PhD; Elisa Barroso de Aguiar^b MD; Igo Oliveira de Araújo^b MD; Thiago Moreira Ramos^c; Leticia Machado Lima e Silva^c; Bruna Meneses^c; Luan Noé da Silva ^a; Raquel de Vasconcellos Carvalhaes de Oliveira^a PhD.

- a. Fundação Oswaldo Cruz, Instituto Nacional de Infectologia Evandro Chagas, Rio de Janeiro, Brazil.
- b. Instituto da Criança da Mulher e do Adolescente Fernandes Figueira, Department of Pediatrics, Fiocruz, Rio de Janeiro, Brazil.
- c. Universidade Estácio de Sá, Rio de Janeiro, Brazil.
- d. Escola de Medicina Souza Marques, Rio de Janeiro, Brazil.

Corresponding Author: Dulce Helena Gonçalves Orofino. email: dulceorofino@yahoo.com.br.
Mailing Address: Department of Pediatrics, Fernandes Figueira Institute, Oswaldo Cruz Foundation. Av. Rui Barbosa, 716, Flamengo, Rio de Janeiro, RJ, Brazil, CEP: 20021-140.
Phone 55 (21) 2554-1700.

Resumo: Introdução: A exposição vertical ao Zika vírus (ZIKV) está relacionada a graves manifestações neurológicas, oftalmológicas e ortopédicas chamadas de Síndrome da Zika Congênita (SZC) mas não foram avaliadas alterações na atividade elétrica do coração dessas crianças. Prevalência maior de alterações cardíacas estruturais foram descritas em portadores da SZC quando comparadas à população geral de nascidos vivos. Estudos anteriores mostraram que a análise da variabilidade da frequência cardíaca (VFC) pelo Holter de 24 horas permite prever pior evolução de lactentes com diagnóstico de comprometimento neurológico nos primeiros meses de vida e está associada em recém natos pequenos para a idade gestacional (PIG) a alterações cardiovasculares como hipertensão arterial. O objetivo do presente estudo é descrever os achados ao Holter de 24 horas de uma amostra de lactentes com exposição vertical confirmada ao ZIKV. Métodos: Estudo observacional descritivo de alterações eletrocardiográficas encontradas em lactentes expostos verticalmente ao ZIKV realizado através do Holter de 24 horas. A comprovação da exposição vertical foi feita pela reação em cadeia da polimerase (PCR) positiva no sangue da mãe durante a gestação e/ou na urina ou líquor do recém nato. A análise de dados foi descritiva e incluiu dois sub-grupos de pacientes de acordo com a presença ou ausência de sofrimento fetal, PCR positivo no recém nato, SZC, microcefalia grave, nascidos ou não PIG e prematuros (PT) ou não. Foram avaliadas frequência cardíaca (FC) média, máxima e mínima, pausas, presença de extrassístoles supraventriculares e ventriculares, alterações do segmento ST e do intervalo QT. A avaliação da VFC foi feita através do R-R, SDNN, pNN50 e rMMSD. Foi realizado o teste de Mann Whitney para verificar diferenças significativas entre os dois sub-grupos de pacientes. Resultados: A amostra foi composta de 15 lactentes e o exame foi realizado durante internação clínica ou cirúrgica, no dia anterior à alta hospitalar. A idade média foi de 16 meses, 9 eram do sexo masculino, dois com história de sofrimento fetal, 4 nascidos PIG e um PT, 12 com diagnóstico de SZC e dentre esses, 8 com microcefalia grave. A confirmação de exposição vertical ao ZIKV foi feita por PCR positivo do recém nato em 8 pacientes e no restante, por PCR positivo da mãe durante a gestação. Não foram observadas arritmias ou alterações do intervalo QT. A comparação da VFC através do teste de Mann Whitney mostrou diferença significativa entre pacientes com e sem SZC e entre os pacientes com e sem microcefalia grave sendo a VFC menor nos grupos com microcefalia grave e SZC. Conclusões: O estudo sugere que a avaliação da VFC pode ser usado como evento sentinela para avaliar possibilidade de comprometimento neurológico evolutivo nos recém natos

49

expostos verticalmente ao ZIKV e que nascem sem todas as características da SZC, permitindo início precoce de terapias de estimulação, além de sugerir também que complicações cardiovasculares possam surgir a médio e longo prazo.

Palavras chave: Zika virus, Holter, variabilidade de frequência cardíaca, arritmias.

Introdução:

O sistema nervoso autônomo (SNA) e o equilíbrio de seus braços simpático e parassimpático regulam a função cardiovascular desde a vida intrauterina. [1] Estudos relacionam o desequilíbrio entre o SNA simpático e parassimpático com o desenvolvimento de hipertensão arterial, doenças cardiovasculares, diabetes mellitus, asma, além de alterações cognitivas e de comportamento [2].

Um conhecimento profundo da anatomia e desenvolvimento do SNA tem permitido entender melhor o seu envolvimento nas arritmias cardíacas. Há na literatura pesquisas que sugerem que a desregulação do SNA causado por polimorfismos de gens que modulam o seu desenvolvimento pode estar implicada na morte súbita de lactentes (MSL) e também que o desequilíbrio entre o SNA simpático e parassimpático pode levar à arritmias cardíacas e que o predomínio de um sobre o outro pode variar dependendo do tipo de arritmias como por exemplo, na síndrome de Brugada em que os eventos arritmicos tem sido associados a períodos de maior tônus parassimpático e também na taquicardia ventricular polimórfica catecolaminérgica em que os eventos de arritmias ventriculares estão associadas ao predomínio do SNA simpático [3].

O exame considerado padrão ouro para o estudo da atividade elétrica do coração é o Holter de 24 horas, que faz o registro da atividade elétrica durante 24 horas com o paciente em sua rotina habitual [4]. Sabe-se que flutuações na frequência cardíaca (FC) são relacionadas à atividade neural e que a variabilidade da FC (VFC) que é obtida através do Holter de 24 horas é o resultado final de uma atividade integrada e rítmica de neurônios do SNA gerada por reflexos cardiorrespiratórios organizados sendo reconhecida como sinal de saúde do coração [5,6]. A avaliação da VFC é realizada por algumas medidas de domínio de tempo como a média dos valores de R-R (medida entre duas ondas R consecutivas do traçado), SDNN (desvio padrão dos intervalos R-R durante todo o tempo de “traçado limpo” do Holter), pNN50 (o número médio de vezes por hora em que os intervalos R-R excedem 50 milissegundos.) e rMMSD (a raiz quadrada média das diferenças sucessivas entre os batimentos cardíacos normais) e também por medidas de domínio de frequência (baixa,alta e muito alta) após o *software* que analisa o exame ter excluído os períodos de traçado com interferências. É esperado que a frequência cardíaca aumente rapidamente na primeira semana de vida e em seguida diminua e que a VFC diminua nesse período neonatal precoce (acompanhando a maior FC) e posteriormente aumente,

51

indicando um predomínio do parassimpático sobre o simpático após os 6 meses de idade [5,7].

Estudos realizados desde a década de 80 vem sugerindo que a avaliação da VFC possa ser um instrumento útil para oferecer informações sobre o neurodesenvolvimento em crianças expostas a algum risco de dano cerebral no período perinatal porque a VFC estaria relacionada não apenas à integridade funcional do SNA mas a de todo o SNC [8,9]. A epidemia de Zika vírus (ZIKV) que ocorreu a partir do início de 2015 foi acompanhada de graves danos ao sistema nervoso central (SNC) e a outros órgãos de alguns fetos expostos ao ZIKV no período intrauterino. Foram relatados achados ao ultrassom fetal como a microcefalia em 82,3% e achados à tomografia de crânio dos recém natos como a ventriculomegalia (93,8%), calcificações cerebrais (98,8%) e cerebelo ou vermis cerebelar mal desenvolvidos (51,8%) [10]. A síndrome da Zika congênita (SZC) é definida pela combinação de microcefalia, alterações específicas nos exames de imagem do SNC (tomografia computadorizada), alterações oftalmológicas e artrogrípse [11]. Apesar de não compor a SZC, estudos recentes avaliaram achados ao ecocardiograma bidimensional com doppler de recém natos e lactentes com exposição vertical confirmada ao ZIKV e mostraram uma prevalência 10 vezes maior de alterações estruturais do que na população geral de nascidos vivos. As cardiopatias mais encontradas foram as de hiperfluxo pulmonar (comunicação interatrial e interventricular e canal arterial patente). Não foi detectada nenhuma cardiopatia grave, com indicação de terapêutica medicamentosa ou cirúrgica nos primeiros meses de vida [12]. Não há dados na literatura relacionados a alterações na atividade elétrica do coração dessas crianças. Diante desses achados e em função da importância da VFC na avaliação da integridade do sistema nervoso, o estudo de Holter de 24 horas se justifica nos pacientes com exposição vertical confirmada ao ZIKV pelo potencial comprometimento do SNC nesses pacientes.

Métodos:

Foram incluídos 15 pacientes que fazem parte da coorte de recém natos e lactentes com exposição vertical ao ZIKV que teve início em novembro de 2015 e acontece até a presente data no Instituto Fernandes Figueira (IFF), Rio de Janeiro, Brasil e encontravam-se internados por motivos clínicos ou cirúrgicos. O Holter de 24 horas foi realizado no dia anterior à alta hospitalar. A confirmação de exposição vertical foi feita através da reação em cadeia da polimerase (PCR) positiva no sangue da mãe durante a gestação e/ou na urina ou líquor do recém nato logo após o nascimento [13]. A amostra foi dividida em sub-grupos de acordo com as seguintes características: sexo (feminino e masculino), PCR positivo ou negativo para ZIKV no recém nato, ter ou não registro de sofrimento fetal (escore de *Apgar* menor do que 6 aos 5

52

minutos de vida) [14], ter ou não nascido prematuro (PT) (idade gestacional menor do que 36 semanas e 6 dias) [15] ou pequeno para idade gestacional (PIG) (de acordo com definição estabelecida na literatura) [16], ter ou não microcefalia (perímetro cefálico -PC- menor do que dois desvios padrões -DP- para idade, sexo e idade gestacional) e microcefalia grave (PC menor do que três DP para idade, sexo e idade gestacional)[16] e ter ou não SZC[11]. Os acompanhantes dos pacientes foram orientados a preencher uma ficha de atividades durante as 24 horas mas como a maioria era portadora de comprometimento de sistema nervoso central, não houve relato de atividade física (andar, correr) em 14 dos 15 pacientes da amostra (apenas um paciente não tinha comprometimento das funções motoras), portanto, 14 pacientes ficaram em seus leitos durante todo o período do exame.

Foi realizada monitorização contínua por 24 horas e com o paciente em sua rotina habitual, realizada com aparelho DMS 300, modelo Satélite Resting v.78 e análise em três derivações. De acordo com as diretrizes do *Task Force of the European Society of Cardiology e North American Society of Pacing and Eletrophysiology* [17] foram analisados apenas os exames com mais de 18 horas de “traçado limpo”. Para determinar os parâmetros de VFC foi utilizado um software de Holter e todos os traçados foram subsequentemente analisados por um por dois cardiologistas especializados em análise de Holter. Foram também excluídos manualmente os complexos classificados como “ruído” ou com artefatos. Foram avaliadas FC máxima, mínima e média, pausas, presença de extrassístoles supraventriculares e ventriculares, eventos de bigeminismo ou trigeminismo, alterações do segmento ST e do QT. A avaliação de VFC foi realizada através das medidas de R-R e de SDNN-24 horas, pNN50 e rMMSD. Para avaliar diferenças nos valores medianos entre os grupos de pacientes da amostra foi aplicado o teste não-paramétrico de Mann-Whitney e considerado p-valores < 0,10 como sugestivos de diferença significativa.

O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Instituto Nacional de Infectologia (INI-FIOCRUZ) e todos os responsáveis concordaram em assinar o termo de consentimento livre e esclarecido. Os pacientes que apresentaram alguma alteração ao Holter de 24 horas foram incluídos no ambulatório de Cardiopediatria do IFF.

Resultados:

A amostra foi composta por 15 pacientes (9 do sexo masculino) com idade média de 16 meses. Dois pacientes tinham história de sofrimento fetal, 4 pacientes nascidos PIG, um paciente nascido PT, 12 tinham o diagnóstico de SZC e dentre esses, 8 apresentavam microcefalia grave.

53

A média de tempo de sono durante as 24 horas foi de 11 horas e 40 minutos (mínimo e máximo). Nenhum paciente foi excluído do estudo por ter menos de 18 horas de traçado limpo ao Holter. Não houve registro de pausas, ritmo juncional, extrassístoles supraventriculares ou ventriculares, bloqueios ou alterações do intervalo QT. A FC média foi mais alta entre os lactentes com microcefalia grave e SZC assim como as medidas de VFC que mostraram valores medianos menores nos grupos segundo a presença de SZC e microcefalia grave (Tabela 1). Não foi detectada diferença entre os grupos com e sem PCR positivo, com e sem sofrimento fetal e entre os grupos de nascidos ou não PIG ou PT. Os dados mostram que nos grupos com SZC e com microcefalia houve diferença significativa nos valores de medidas de SDNN ($p < 0,05$ nos dois grupos) e R-R ($p < 0,10$ no grupo com microcefalia e $p < 0,05$ no grupo com SZC) (Tabela 1). As medidas de FC média, pNN50 e rMSSD mostraram valores significativamente diferentes nos grupos com e sem microcefalia e SZC considerando-se um p-valor $< 0,10$.

Tabela 1: Medianas de parâmetros de variabilidade de frequência cardíaca em 15 lactentes com exposição vertical ao ZIKV segundo os sub-grupos da amostra.

Parâmetros		FCm*	n	pNN50**	rMSSD***	R-R†	SDNN††
Sexo	Feminino	122,5	6	15,5	37,0	480,7	67,5
	Masculino	128,0	9	5,0	24,0	465,1	65,0
	pvalor	0,7230		0,4780	0,4420	1,0000	0,9550
Sofrimento fetal	Não	128,0	13	5,0	25,0	465,1	65,0
	Sim	125,5	2	10,5	30,5	475,6	57,5
	pvalor	0,7990		0,8650	0,9320	1,0000	0,8000
PCR†	Não	139,0	7	5,0	24,0	455,8	58,0
	Sim	116,0	8	14,5	37,0	510,6	76,0
	pvalor	0,0558		0,2450	0,2020	0,1520	0,1210
PIG‡	Não	123,0	13	10,0	31,0	488,7	74,0
	Sim	132,5	2	2,5	19,0	445,1	62,5
	pvalor	0,6010		0,1490	0,1500	0,4890	0,3430
PT‡‡	Não	128,0	14	5,0	24,5	464,3	64,5
	Sim	103,0	1	25,0	49,0	604,5	78,0
	pvalor	0,1640		0,1040	0,1040	0,1330	0,6670
Microcefalia grave	Não	115,0	7	19,0	43,0	515,7	78,0
	Sim	137,0	8	3,5	22,0	446,7	59,5
	pvalor	0,0558¶		0,0716¶	0,0818¶	0,0541¶	0,0205¶¶
SZC	Não	114,0	3	19,0	44,0	521,2	83,0
	Sim	139,5	12	4,5	24,0	459,9	62,5
	pvalor	0,0601¶		0,0819¶	0,0507¶	0,0484¶¶	0,0484¶¶

*FCm: frequência cardíaca média em batimentos por minuto

**pNN50: número médio de vezes por hora em que os intervalos R-R excedem 50 milissegundos

***rMMSD: raiz quadrada média das diferenças sucessivas entre os batimentos cardíacos normais

55

†R-R: intervalo em milisegundos entre duas ondas R consecutivas

†† SDNN: desvio padrão dos intervalos R-R durante todo o tempo de “traçado limpo” do Holter

‡ PIG: nascido pequeno para a idade gestacional

‡‡ PT: nascido prematuro

¶ p < 0,10 ¶¶ p < 0,05

Discussão:

A avaliação da VFC como instrumento para obtenção de informações sobre o neurodesenvolvimento em crianças com algum risco de dano cerebral no período perinatal foi proposta por Bjelakovic et al que estudaram 35 lactentes com idade entre 2 e 6 meses e diagnóstico de leve a severo distúrbio de coordenação central e 37 controles saudáveis. Os pacientes do grupo com distúrbios de coordenação foram acompanhados até os 18 meses e reavaliados quanto a evolução do quadro neurológico (diagnóstico tardio de paralisia cerebral). O estudo sugeriu que valores de SDNN < 48 milisegundos (ms) eram preditivos de pior evolução do quadro neurológico e diagnóstico de paralisia cerebral aos 18 meses [18]. Na nossa amostra, 4 pacientes com SZC apresentaram SDNN menor do que 48 ms e houve diferença significativa entre os valores de SDNN do grupo com e sem SZC, estando os valores do grupo com SZC menores do que os do grupo sem SZC. Esse achado pode sugerir que a avaliação de VFC nos lactentes jovens com exposição vertical ao ZIKV e nascidos sem SZC possa indicar quais desses pacientes venham a desenvolver piora dos sintomas de atraso do desenvolvimento neuropsicomotor durante o primeiro ano de vida.

Além disso, Galland et al estudaram a VFC de 23 recém natos PIG por crescimento intrauterino retardado idiopático, com um e três meses, sugerindo que o predomínio do SNA simpático, observado por uma menor VFC nos nascidos PIG possa estar relacionado ao maior risco de hipertensão arterial, diabetes mellitus, hipertensão arterial e outras doenças cardiovasculares na idade adulta [1]. Na nossa amostra, apenas dois pacientes nasceram PIG, o que dificulta a análise do p-valor para observação de diferenças significativas entre os grupos de nascidos PIG e não PIG. O achado de menor SDNN nos lactentes com SZC que participaram do nosso estudo chama atenção para outras comorbidades que possam vir a se desenvolver durante a vida desses pacientes e para a necessidade de acompanhamento e medidas de prevenção de doenças cardiovasculares.

O estudo da VFC tem sido também utilizado para avaliar probabilidade de morte súbita do lactente (MSL) e sugerido que menor VFC e maior FC esteja associado a maior probabilidade de ocorrência desse desfecho[19].O acompanhamento de uma coorte da década de 90, composta por 6914 recém natos e lactentes entre os quais 16 foram a óbito por MSL e que realizaram Holter de 24 horas nos primeiros meses de vida, permitiu associar uma maior FC e menor VFC com maior probabilidade de óbito por MSL [19]. A avaliação da VFC nesse estudo foi feita através da análise das médias e desvio padrão dos R-R. Esse estudo sugeriu que a instabilidade cardíaca possa causar arritmias potencialmente letais e durante o período de maior desenvolvimento do SNA, que coincide com o período de maior risco de MSL, algumas crianças apresentem desenvolvimento acelerado ou assimétrico do braço simpático do SNA, colocando-as sob maior risco de MSL. O nosso estudo mostrou diferença estatisticamente significativa entre os valores de R-R nos pacientes com e sem SZC (o grupo com SZC mostrou menor valor de R-R) porém a nossa amostra tem idade maior do que a estudada nessa coorte, dificultando a comparação dos valores absolutos.

Os resultados desse estudo devem ser interpretados à luz de suas limitações como o pequeno tamanho amostral e de seus pontos fortes que são o ineditismo das informações e a importância de propor um evento sentinela para presunção de piora na evolução neurológica e possibilidade de surgimento de comorbidades cardiovasculares nos pacientes com exposição antenatal ao ZIKV. Pela ausência de valores normais de VFC para pacientes com a idade dos pacientes do nosso estudo, optamos por descrever os valores nesse grupo de lactentes com exposição vertical ao ZIKV e comparar os valores entre os subgrupos da amostra.

Esse estudo é inédito numa população de lactentes dessa idade e com exposição vertical ao ZIKV. Dada à sazonalidade da infecção pelos arbovírus, não podemos prever quando será possível repetir o estudo numa amostra maior, mas os nossos achados sugerem que o Holter de 24 horas possa ser utilizado precocemente nos recém natos e lactentes jovens com história de exposição intra útero ao ZIKV e nascidos sem todo o espectro da SZC, para indicar o início precoce de terapias de reabilitação como terapia ocupacional, fonoaudiologia, fisioterapia e psicomotricidade. Além disso, chama atenção para desenvolvimento de possíveis comorbidades como doenças cardiovasculares que podem se apresentar a médio/longo prazo e também exigem medidas precoces de prevenção.

57

Referências:

1. Galland BC, Taylor BJ, Bolton DP, Sayers RM. Heart rate variability and cardiac reflexes in small for gestational age infants. *J Appl Physiol* (1985). 2006 Mar;100(3):933-9. Epub 2005 Nov 23.

2. Rakow A, Katz-Salamon M, Ericson M, Edner A, Vanpée M. Decreased heart rate variability in children born with low birth weight. *Pediatr Res*. 2013 Sep;74(3):339-43. doi: 10.1038/pr.2013.97. Epub 2013 Jun 14.

3. Franciosi S, Perry FKG, Roston TM, Armstrong KR, Claydon VE, Sanatani S. The role of the autonomic nervous system in arrhythmias and sudden cardiac death. *Auton Neurosci*. 2017 Jul;205:1-11. doi: 10.1016/j.autneu.2017.03.005. Epub 2017 Mar 31.

4. Shaffer F, McCraty R, Zerr CL. A healthy heart is not a metronome: an integrative review of the heart's anatomy and heart rate variability. *Front Psychol*. 2014; 5: 1040. Published online 2014 Sep 30. doi: 10.3389/fpsyg.2014.01040

5. Massin M, von Bernuth G. Normal Ranges of heart rate variability during infancy and childhood. *Pediatr Cardiol*. 1997 Jul-Aug; 18(4): 297-302.

6. Vanderlei LCM, Pastre CM, Hoshi RA, Carvalho TD de, Godoy MF de. Basic notions of heart rate variability and its clinical applicability. *Rev Bras Cir Cardiovasc*. 2009 AprJun;24(2):205-17.

7. Schechtman VL, Harper RM, Kluge KA, Wilson AJ, Hoffman HJ, Southall DP. Cardiac and respiratory patterns in normal infants victims of sudden infant death syndrome. *Sleep* 11:413-424. *Sleep*. 1988 Oct;11(5):413-24

8. Fox N, Porges S. The relation between neonatal period patterns and development outcome. *Child Dev* 1985; 56:28-37.

58

9. Doussard-Roosevelt J, Porges S, Scanlon J, Alemi B, Scanlon K. Vagal regulation of heart rate in the prediction of developmental outcome for very low birth weight preterm infants.

Chil Dev 1997; 68:173-86.

10. Meneses JDA, Ishigami AC, de Mello LM, de Albuquerque LL, de Brito CAA, Cordeiro MT, Pena LJ. Lessons Learned at the Epicenter of Brazil's Congenital Zika Epidemic:

Evidence From 87 Confirmed Cases. *Clin Infect Dis*. 2017 May 15;64(10):1302-1308. doi:

10.1093/cid/cix166.

11. Moore CA, Staples JE, Dobyns WB, Pessoa A, Ventura CV, Fonseca EB et al.

Characterizing the Pattern of Anomalies in Congenital Zika Syndrome for Pediatric Clinicians. *JAMA Pediatr*. 2017. March 1;171(3):288–295.

doi:10.1001/jamapediatrics.2016.3982

12. Orofino DHG, Passos SRL, de Oliveira RVC, Farias CVB, Leite MdFMP, Pone SM, et al.

(2018) Cardiac findings in infants with in utero exposure to Zika virus- a cross sectional study.

PLoS Negl Trop Dis. 2018 Mar 26;12(3): e0006362. doi:

10.1371/journal.pntd.0006362. eCollection 2018 Mar

13. Rabe IB, Staples JE, Villanueva J, Hummel KB, Johnson JA, Rose L; MTS, Hills S,

Wasley A, Fischer M, Powers AM. Interim Guidance for Interpretation of Zika Virus Antibody Test Results. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep*. 2016 Jun 3;65(21):543-6. doi:

10.15585/mmwr.mm6521e1.

14. The Apgar Score. *Pediatrics*. 2015; 136:819–822. American Academy of Pediatrics

Committee on Fetus and Newborn; American College of Obstetricians and Gynecologists

Committee on Obstetric Practice.

15. <http://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/preterm-birth> (último acesso em 12/11/2018)

16. Villar J, Cheikh Ismail L, Victora CG, et al. International standards for newborn weight, length, and head circumference by gestational age and sex: the Newborn Cross-Sectional Study of the Intergrowth-21st Project. *Lancet*. 2014; 384:857–68.

17. Malik M. Heart rate variability: standards of measurement, physiological interpretation and clinical use. Task Force of the European Society of Cardiology and the North American Society of Pacing and Electrophysiology. *Circulation* 1996; 93:927-34.

18. Bjelakovic B, Ilic S, Dimitrijevic L, Milovanovic B, Kostic G, Bjelakovic L, Lukic S. Heart rate variability in infants with central coordination disturbance. *Early Hum Dev*. 2010 Feb;86(2):77-81. doi: 10.1016/j.earlhumdev.2010.01.022. Epub 2010 Feb 9.

19. Schechtman VL, Raetz SL, Harper RK, Garfinkel A, Wilson AJ, Southall DP, Harper RM. Dynamic analysis of cardiac R-R intervals in normal infants and in infants who subsequently succumbed to the sudden infant death syndrome. *Pediatr Res*. 1992 Jun;31(6):606-12.

8.CONCLUSÕES

1. A avaliação com ecocardiograma de uma amostra de recém natos e lactentes expostos verticalmente ao ZIKV mostrou uma prevalência dez vezes maior de defeitos estruturais sem gravidade, em consonância com estudo realizado pelo grupo de pesquisadores de Pernambuco. Esse achado nos permitiu sugerir que as gestantes com infecção provável ou confirmada pelo ZIKV não necessitam ser encaminhadas a grandes centros para realização de ecocardiograma fetal em busca de cardiopatias congênitas com necessidade de atendimento especializado logo ao nascer (por risco de morte e necessidade de intervenção cirúrgica ou medicamentosa precoce).

2. O estudo com Holter de 24 horas concluiu que os lactentes com SZC mostram alteração de variabilidade de frequência cardíaca descrita na literatura em lactentes jovens com algum tipo de injúria cerebral e evolução posterior para quadros neurológicos mais graves. Isso poderia permitir que pudéssemos prever o prognóstico neurológico de recém natos expostos ao ZIKV e sem sintomatologia inicial e o investimento em terapias de reabilitação pudesse ser iniciado precocemente.

3. O estudo de confiabilidade mostrou que apesar do CCI ter evidenciado uma confiabilidade variável de excelente a pobre, a magnitude da variação das medidas entre dois examinadores não resultou em mudança de conduta clínica em relação aos resultados apresentados.

9. CONSIDERAÇÕES FINAIS

A epidemia de ZIKV ocorrida pela primeira vez desde a descoberta do vírus em 1947 trouxe um novo dado a respeito de um arbovírus que até então não havia sido detectado em nenhum momento da história das arboviroses: a possibilidade de malformações congênitas relacionadas à transmissão vertical. A urgência em entender exatamente que malformações poderiam acontecer além da que primeiro chamou atenção (a microcefalia) fez com que fosse incluída a avaliação cardiológica das crianças com confirmação da exposição vertical ao ZIKV que foram encaminhadas a um centro nacional de referência no atendimento de gestantes e crianças de risco. A realidade da maioria dos 5.000 municípios brasileiros é de ausência de profissionais qualificados para realização de ecocardiograma fetal e neonatal e de hospitais com atendimento neonatal para suporte adequado a bebês nascidos com cardiopatias congênitas graves. Exposto isso, considero que a informação de que o estudo sugere que não há indicação de incluir rotineiramente o ecocardiograma fetal nas gestantes com infecção provável ou confirmada por ZIKV assim como não há indicação de encaminhá-las para que o parto ocorra em hospital com atendimento neonatal especializado é bastante útil em termos de saúde pública e gestão de recursos da saúde. Os achados do estudo de Holter necessitam de pesquisas semelhantes, mas dada a sazonalidade dos surtos de todos os arbovírus, não é possível prever quando essas pesquisas poderão ser realizadas. Seguindo a linha de pesquisa do laboratório de Epidemiologia Clínica, aproveitei a oportunidade e uma amostra aleatória foi utilizada para realização de um estudo de confiabilidade de medidas cavitárias e de fração de ejeção do ventrículo esquerdo, que fazem parte do ecocardiograma e são utilizadas para sugerir condutas clínicas e cirúrgicas nos pacientes acompanhados pelo setor de Cardiopediatria do IFF. Essa avaliação teve o objetivo de melhorar a assistência prestada aos pacientes e mostrou que embora a confiabilidade não se mostre excelente para todas as medidas executadas, a magnitude da variação das medidas não altera a conduta porque todas as medidas permanecem dentro de um intervalo de valores normais descritos na literatura. Espero que esses resultados colaborem de alguma maneira no manejo dos bebês acometidos por essa grave situação clínica que se chama Síndrome da Zika Congênita e que permitam uma melhor alocação dos recursos da saúde no Brasil.

10. REFERÊNCIAS

1. Musso D, Gubler DJ. Zika virus. *Clin Microbiol Rev.* 2016; 29:487-524.
2. Faria RN, Azevedo R do S, Kraemer MU, Souza R, Cunha MS, Hill SC. Zika virus in the Americas: early epidemiological and genetic findings. *Science.* 2016; 352:345-9.
3. Macnamara FN. Zika virus: A report on three cases of human infection during an epidemic of jaundice in Nigeria. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 1954;48(2):139e45.
4. Duffy MR, Chen TH, Hancock WT, et al. Zika virus outbreak on Yap Island, Federated States of Micronesia. *N Engl J Med.* 2009; 360:2536–43.
5. Tognarelli J, Ulloa S, Villagra E, Lagos J, Aguayo C, Fasce R, et al. A report on the outbreak of Zika virus on Easter Island, South Pacific, 2014. *Arch Virol* 2016;161(3):665e8.
6. Bogoch II, Brady OJ, Kraemer MU, German M, Creatore MI, Kulkarni MA et al. Anticipating the international spread of Zika virus from Brazil. *Lancet* 2016; 387:335-336.
7. <http://www.portalsaude.saude.gov.br/index.php/descricao-da-doenca-zika>(ultimo acesso em 30/08/2018).
8. Zanluca C, Melo VC, Mosimann AL, Santos GI, Santos CN, Luz K. First report of autochthonous transmission of Zika virus in Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 2015 Jun;110(4):569-72. doi: 10.1590/0074-02760150192. Epub 2015 Jun 9.
9. Rabe IB, Staples JE, Villanueva J, Hummel KB, Johnson JA, Rose L; MTS, Hills S, Wasley A, Fischer M, Powers AM. Interim Guidance for Interpretation of Zika Virus Antibody Test Results. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep.* 2016 Jun 3;65(21):543-6. doi: 10.15585/mmwr.mm6521e1.
10. Watrin L, Ghawché F, Larre P, Neau JP, Mathis S, Fournier E. Guillain-Barré syndrome (42 cases) occurring during a Zika virus outbreak in French Polynesia. *Medicine Baltimore* 2016;95(14): e3257.
11. Paploski IA, Prates AP, Cardoso CW, et al. Time lags between exanthematous illness attributed to Zika virus, Guillain-Barré syndrome, and microcephaly, Salvador, Brazil. *Emerg Infect Dis.* 2016; 22:1438–1444.

63

12. Teixeira MG, da Conceição N, Costa M, et al. The epidemic of Zika virus-related microcephaly in Brazil: detection, control, etiology, and future scenarios. *Am J Public Health*. 2016; 106(4):601–5. doi: 10.2105/AJPH.2016.303113.

13. Calvet G, Aguiar RS, Melo AS, Sampaio AS, de Filippis I, Fabri A, et al. Detection and sequencing of Zika virus from amniotic fluid of fetuses with microcephaly in Brazil: a case study. *Lancet Infect Dis*. 2016 Jun;16(6):653-60.

14. García-Bujalance S, Gutiérrez-Arroyo A, De la Calle F, Díaz-Menéndez, Arribas JR, García-Rodríguez J, Arsuaga M. Persistence and infectivity of Zika virus in semen after returning from endemic areas: Report of 5 cases. *J Clin Virol*. 2017 Nov; 96:110-115. doi: 10.1016/j.jcv.2017.10.006. Epub 2017 Oct 13.

15. Musso D, Nhan T, Robin E, Roche C, Bierlaire D, Zisou K, Shan Yan A, Cao Lormeau VM, Brout J (2014) Potential for Zika virus transmission through blood transfusion demonstrated during an outbreak in French Polynesia, November 2013 to February 2014. *Euro Surveill* 19(14).

16. Schuler-Facini L, Ribeiro EM, Feitosa IM, Horowitz DD, Cavalcante DP, Pessoa A et al. Possible association between Zika virus and microcephaly-Brazil, 2015. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 2016;65(3):59-62.

17. Pan American Health Organization. Neurological syndrome, congenital malformations, and Zika virus infection. Implications for public health in the Americas epidemiological alert. Washington DC: World Health Organization, Pan American Health Organization; 2015. <https://www.paho.org/hq/dmdocuments/2015/2015-dec-1-cha-epi-alert-zika-neurosyndrome.pdf>

18. Martines RB, Bhatnagar J, Keating MK, Silva-Flannery L, Muehlenbachs A, Gary J, Goldsmith C, Hale G, Ritter J, Rollin D, Shieh WJ, Luz KG, Ramos AM, Davi HP, Kleber de Oliveria W, Lanciotti R, Lambert A, Zaki S. Notes from the Field: Evidence of Zika Virus Infection in Brain and Placental Tissues from Two Congenitally Infected Newborns and Two Fetal Losses, Brazil, 2015. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep*. 2016 Feb 19;65(6):159-60. doi: 10.15585/mmwr.mm6506e1.

19. Brasil P, Pereira JP Jr, Moreira ME, Ribeiro Nogueira RM, Damasceno L, Wakimoto M, Rabello RS, Valderramos SG, Halai UA, Salles TS, Zin AA, Horovitz D, Daltro P, Boechat M, Raja Gabaglia C, Carvalho de Sequeira P, Pilotto JH, Medialdea-Carrera R, Cotrim da Cunha D, Abreu de Carvalho LM, Pone M, Machado Siqueira A, Calvet GA, Rodrigues Baião AE, Neves ES, Nassar de Carvalho PR, Hasue RH, Marschik PB, Einspieler C, Janzen C, Cherry JD, Bispo de Filippis AM, Nielsen-Saines K. Zika Virus Infection in Pregnant Women in Rio de Janeiro. *N Engl J Med*. 2016 Dec 15;375(24):2321-2334. Epub 2016 Mar 4.

20. Moore CA, Staples JE, Dobyns WB, Pessoa A, Ventura CV, Fonseca EB et al. Characterizing the Pattern of Anomalies in Congenital Zika Syndrome for Pediatric Clinicians.

64

JAMAPediatr. 2017. March1;171(3):288–295.doi: 10.1001/jamapediatrics.2016.3982

21. <http://www.mppa.mp.br/upload/Protocolo-SAS-Microcefalia-ZIKA.pdf>.

22. <http://portalarquivos.saude.gov.br/images/pdf/2017/agosto/29/2017-026-Monitoramentodos-casos-de-dengue-febre-de-chikungunya-e-febre-pelo-virus-Zika-ate-a-SemanaEpidemiologica-33-de-2017.pdf>

23. <http://portalarquivos2.saude.gov.br/images/pdf/2018/agosto/21/Publicacao-BE-2018-SE30.pdf> (último acesso em 30/08/2018)

24. WHO Dengue: Guidelines for Diagnosis, Treatment, Prevent and Control. World health Organization, Geneva, Switzerland, 2009.

25. C Basurko, G Carles, M Youssef, Guindi WEL. Maternal and foetal consequences of dengue fer during pregnancy. European Journal of Obstetrics Gynecology and Reproductive Biology, 2010;147(1): 767-775.

26. Cavalcanti DD, Alves LV, Furtado GJ, Santos CC, Feitosa FG, Ribeiro MC, Menge P, Lira IM, Alves JG. Echocardiographic findings in infants with presumed congenital Zika syndrome: Retrospective case series study. PLoS One. 2017 Apr 20;12(4):e0175065. doi: 10.1371/journal.pone.0175065. eCollection 2017.

27. Croti UA, Mattos SS, Pinto Jr VC, Aiello V, Moreira VM. Cardiologia e Cirurgia Cardiovascular Pediátrica. 2a edição. São Paulo:Roca,2011.

28. Shaffer F, McCraty R, Zerr CL. A healthy heart is not a metronome: an integrative review of the heart's anatomy and heart rate variability. Front Psychol. 2014; 5: 1040. Published online 2014 Sep 30. doi: 10.3389/fpsyg.2014.01040

29. Fox N, Porges S. The relation between neonatal period patterns and development outcome. Child Dev 1985; 56:28-37.

30. Doussard- Roosevelt J, Porges S, Scanlon J, Alemi B, Scanlon K. Vagal regulation of heart rate in the prediction of developmental outcome for very low birth weight preterm infants. Chil Dev 1997; 68:173-86.

31. Schechtman VL, Raetz SL, Harper RK, Garfinkel A, Wilson AJ, Southall DP, Harper RM. Dynamic analysis of cardiac R-R intervals in normal infants and in infants who subsequently succumbed to the sudden infant death syndrome. Pediatr Res. 1992 Jun;31(6):606-12.

32. Shoukri MM. Measures of Interobserver Agreement. Chapman & Hall/CRC. 2004.
33. Streiner LD, Norman GR, Cairney J. Health Measurements Scales- A Practical guide to their Development and Use. 5th Edition. New York. Oxford University Press. 2015.
34. Indrayan A. Clinical Agreement in Quantitative Measurements. In: Doi SAR, Williams GM. Methods in Clinical Epidemiology: Springer Series on Epidemiology and Public Health. Springer, 2013. 17-27.
35. McGraw KO, Wong SP. Forming Inferences About Some Intraclass Correlation Coefficients. Psychological Methods 1996;1(1):30-46.
36. Bossuyt PMM, Reitsma JB, Bruns DE, et al. The STARD statement for reporting studies of diagnostic accuracy: explanation and elaboration. Clin Chem. 2003;49(1):7-18.
37. Bland JM, Altman DG. Statistical methods for assessing agreement between two methods of clinical measurement. Lancet. 1986;1(8476):307-10. doi: 10.1016/S0140-6736(86)90837-
38. Giavarina D. Understanding Bland Altman analysis. Biochemia Medica. 2015;25(2):141-151. doi:10.11613/BM.2015.015.
39. McNamara PJ, Sehgal A. Towards rational management of the patent ductus arteriosus: the need for disease staging. Arch Dis Child Fetal Neonatal Edition. 2007;92(6):F424-7. doi: 10.1136/adc.2007.118117.
40. Iyer P, Evans N. Re-evaluation of left atrium to aortic root ratio as a marker of patent ductus arteriosus. Arch Dis Fetal Neonatal Ed 1994;70: f112-7.
41. Groves AM, Kuschel CA, Knight DB, Skinner JR. Echocardiographic assessment of blood flow volume in the superior vena cava and descending aorta in the newborn infant. Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed. 2008 Jan;93(1):F24-8. Epub 2007 Jul 11.
42. Schwarz CE, Preusche A, Baden W, Poets CF, Franz AR. Repeatability of echocardiographic parameters to evaluate the hemodynamic relevance of patent ductus arteriosus in preterm infants: a prospective observational study. BMC Pediatrics 2016; 16:18 <https://doi.org/10.1186/s12887-016-0552-7>
43. Campos GS, Bandeira AC, Sardi SI. Zika virus outbreak, Bahia, Brazil. Emerg Infect Dis. 2015 Oct;21(10):1885-6. doi: 10.3201/eid2110.150847.

66

44. de Oliveira CS, da Costa Vasconcelos PF. Microcephaly and Zika virus. *J Pediatr (Rio J)*. 2016 Mar-Apr;92(2):103-5. doi: 10.1016/j.jpmed.2016.02.003.

45. Sarno M, Sacramento GA, Khouri R, do Rosário MS, Costa F, Archanjo G et al. Zika Virus Infection and Stillbirths: A Case of Hydrops Fetalis, Hydranencephaly and Fetal Demise. *PLoS Negl Trop Dis* 2016 Feb 25;10(2):e0004517. doi: 10.1371/journal.pntd.0004517. eCollection 2016 Feb.

46. Ventura LO, Ventura CV, Lawrence L, van der Linden V, van der Linden A, Gois AL et al. Visual impairment in children with congenital Zika syndrome. *J AAPOS*. 2017 Aug;21(4):295299.e2. doi: 10.1016/j.jaapos.2017.04.003. Epub 2017 Apr 24.

47. Russell K, Oliver SE, Lewis L, Barfield WD, Cragan J, Meaney-Delman D et al. Update: Interim Guidance for the Evaluation and Management of Infants with Possible Congenital Zika Virus Infection—United States, August 2016. *MMWR Morb. Mortal. Wkly. Rep.* 2016 Aug 26;65(33):870-878. doi: 10.15585/mmwr.mm6533e2.

48. Brasil. Ministério da Saúde (MS). Diretrizes metodológicas: estudos de avaliação econômica de tecnologias em saúde. Brasília: MS; 2009. Disponível em: http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicações/avaliacao_economica_tecnologias_saude_2009.pdf

49. Reller MD, Strickland MJ, Riehle-Colarusso T, Mahle WT, Correa A. Prevalence of congenital heart defects in metropolitan Atlanta, 1998-2005. *J Pediatr*. 2008 Dec;153(6):807-13. doi: 10.1016/j.jpeds.2008.05.059. Epub 2008 Jul 26.

50. Qu Y, Liu X, Zhuang J, Chen G, Mai J, Guo X et al. Incidence of Congenital Heart Disease: The 9-Year Experience of the Guangdong Registry of Congenital Heart Disease, China. *PLoS One*. 2016 Jul 13;11(7): e0159257. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0159257> eCollection 2016.

51. Abdulkadir M, Abdulkadir Z. A systematic review of trends and patterns of congenital heart disease in children in Nigeria from 1964-2015. *Afr Health Sci*. 2016 Jun; 16(2):367-77. <https://doi.org/10.4314/ahs.v16i2.5>.

52. Pinto Junior VC, Branco KMPC, Cavalcante RC, Carvalho Junior W, Lima JRC, de Freitas SM et al. Epidemiology of congenital heart disease in Brazil. *Brazilian Journal of Cardiovascular Surgery*, 30(2), 219-24 10.5935/1678-9741.20150018

53. Pedra CA, Haddad J, Pedra SF, Peirone A, Pilla CB, Marin-Neto JA. Paediatric and congenital heart disease in South America: an overview. *Heart*. 2009 Sep;95(17):1385-92. doi: 10.1136/hrt.2008.152017. Epub 2009 Jan 27.

67

54. Caneco LF, Jatene MB, Riso AA, Tanamati C, Penha J, Moreira LF, Atik E, Trindade E, Stolf ANG. Evaluation of surgical treatment of congenital heart disease in patients aged above 16 years. *Arq Bras Cardiol.* 2012 May;98(5):390-7. Epub 2012 Mar 29.

55. Hagen PT, Scholz DG, Edwards WD. Incidence and size of patent foramen ovale during the first 10 decades of life: an autopsy study of 965 normal hearts. *Mayo Clin Proc* 1984; 59:17-20.

56. Fleiss, JL. The design and analysis of clinical experiments. New York, NY: John Wiley and Sons;1986.

57. Epstein ML, Goldberg SJ, Allen HD, Konecke L, Wood J. Great vessel, cardiac chamber, and wall growth patterns in normal children. *Circulation* 1076Jun;51(6):1124-9.

58. Henry WL, Gardin JM, Ware JH. Echocardiographic measurements in normal subjects from infancy to old age. *Circulation* 1980Nov;62(5):1054-61.

59. Kampmann C, Wiethoff C, Wenzel A, et al. Normal values of M mode echocardiographic measurements of more than 2000 healthy infants and children in central Europe. *Heart* 2000;83(6):667-672. doi:10.1136/heart.83.6.667.

60. Shrout PE, Fleiss JL. Intraclass Correlations: Uses in Assessing Rater Reliability. *Psychological Bulletin* 1979;86(2):420-428

61. Orofino DHG, Passos SRL, de Oliveira RVC, Farias CVB, Leite MdFMP, Pone SM, et al. (2018) Cardiac findings in infants with in utero exposure to Zika virus- a cross sectional study. *PLoS Negl Trop Dis.* 2018Mar 26;12(3): e0006362. doi: 10.1371/journal.pntd.0006362. eCollection 2018 Mar

62. Geelhoed MJ, Snijders SP, Kleyburg-Linkers VE, Steegers EA, van Osch-Gevers L, Jaddoe VW. Reliability of echocardiographic measurements of left cardiac structures in healthy children. *Cardiol Young* 2009 Sep;19(5):494-500. doi: 10.1017/S1047951109990862. Epub 2009 Aug 20.

63. Chen S, Selamet Tierney ES, Khush KK, Nguyen J, Goldstein BA, May LJ, Hollander SA, Kaufman BD, Rosenthal DN. Reliability of echocardiographic measurements of left ventricular systolic function in potential pediatric heart transplant donors. *J Heart Lung Transp* 2015Jan;34(1):100-6. doi: 10.1016/j.healun.2014.08.019. Epub 2014 Aug 28.

64. Lipshultz SE, Easley KA, Orav EJ, Kaplan S, Starc TJ, Bricker JT, Lai WW, Moodie DS, Sopko G, Schluchter MD, Colan SD. Reliability of Multicenter Pediatric Echocardiographic Measurements of Left Ventricular Structure and Function: The Prospective P2C2 HIV Study. *Circulation.* 2001 Jul 17;104(3):310-6.

68

65. Galland BC, Taylor BJ, Bolton DP, Sayers RM. Heart rate variability and cardiac reflexes in small for gestational age infants. *J Appl Physiol* (1985). 2006 Mar;100(3):933-9. Epub 2005 Nov 23.

66. Franciosi S, Perry FKG, Roston TM, Armstrong KR, Claydon VE, Sanatani S. The role of the autonomic nervous system in arrhythmias and sudden cardiac death. *Auton Neurosci*. 2017 Jul; 205:1-11. doi: 10.1016/j.autneu.2017.03.005. Epub 2017 Mar 31.

67. Massin M, von Bernuth G. Normal ranges of heart rate variability during infancy and childhood. *Pediatr Cardiol*. 1997 Jul-Aug;18(4):297-302.

68. Schechtman VL, Harper RM, Kluge KA, Wilson AJ, Hoffman HJ, Southall DP. Cardiac and respiratory patterns in normal infants victims of sudden infant death syndrome. *Sleep* 11:413-424. *Sleep*. 1988 Oct;11(5):413-24

69. Meneses JDA, Ishigami AC, de Mello LM, de Albuquerque LL, de Brito CAA, Cordeiro MT, Pena LJ. Lessons Learned at the Epicenter of Brazil's Congenital Zika Epidemic: Evidence From 87 Confirmed Cases. *Clin Infect Dis*. 2017 May 15;64(10):1302-1308. doi: 10.1093/cid/cix166.

70. Rabe IB, Staples JE, Villanueva J, Hummel KB, Johnson JA, Rose L; MTS, Hills S, Wasley A, Fischer M, Powers AM. Interim Guidance for Interpretation of Zika Virus Antibody Test Results. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep*. 2016 Jun 3;65(21):5436. doi: 10.15585/mmwr.mm6521e1.

71. Malik M. Heart rate variability: standards of measurement, physiological interpretation and clinical use. Task Force of the European Society of Cardiology and the North American Society of Pacing and Electrophysiology. *Circulation* 1996; 93:927-34.

72. Bjelakovic B, Ilic S, Dimitrijevic L, Milovanovic B, Kostic G, Bjelakovic L, Lukic S. Heart rate variability in infants with central coordination disturbance. *Early Hum Dev*. 2010 Feb;86(2):77-81. doi: 10.1016/j.earlhumdev.2010.01.022. Epub 2010 Feb 9.

73. R Core Team (2015). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <https://www.R-project.org/>.

74. Vanderlei LCM, Pastre CM, Hoshi RA, Carvalho TD de, Godoy MF de. Basic notions of heart rate variability and its clinical applicability. *Rev Bras Cir Cardiovasc*. 2009 AprJun;24(2):205-17.

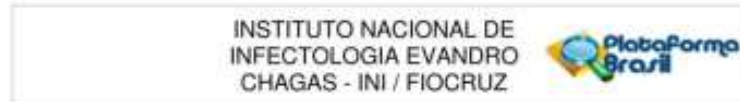
69

75. The Apgar Score. *Pediatrics*. 2015; 136:819–822. American Academy of Pediatrics Committee on Fetus and Newborn; American College of Obstetricians and Gynecologists Committee on Obstetric Practice.

76. <http://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/preterm-birth> (último acesso em 12/11/2018)

77. Villar J, Cheikh Ismail L, Victora CG, et al. International standards for newborn weight, length, and head circumference by gestational age and sex: The Newborn Cross-Sectional Study of the Intergrowth 21st Project. *Lancet*. 2014; 384:857–68.

ANEXO 1 Parecer consubstanciado de aprovação CEP-INI.



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Avaliação Cardiológica de Recém Natos expostos ao Zika Virus

Pesquisador: Sonia Regina Lambert Passos

Área Temática:

Versão: 2

CAAE: 62728516.2.0000.5262

Instituição Proponente: INSTITUTO NACIONAL DE INFECTOLOGIA EVANDRO CHAGAS - INI/FIOCRUZ

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DA NOTIFICAÇÃO

Tipo de Notificação: Envio de Relatório Parcial

Detalhe:

Justificativa: Segue o Relatório Parcial preenchido novamente, re escaneado e anexado como

Data do Envio: 27/03/2018

Situação da Notificação: Parecer Consubstanciado Emitido

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 2.606.494

Apresentação da Notificação:

Foi endereçada uma notificação ao CEP-INI (Fiocruz) o relatório semestral do estudo aprovado em parecer nº 1.976.850 de 22/03/2017, relativo ao segundo semestre de 2017.

Objetivo da Notificação:

Encaminhar para avaliação relatório semestral de acompanhamento de pesquisa.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Mantida do parecer nº 1.976.850 de 22/03/2017.

Comentários e Considerações sobre a Notificação:

Segundo a pesquisadora principal, o mesmo encontra-se em fase de inclusão de pacientes (com 133 pacientes já incluídos, dos 139 previstos). Já houve a submissão de 1 artigo científico com resultados parciais para a revista PLoS Neglected Tropical Diseases. O mesmo foi aceito para publicação; encontra-se in press (uma cópia do e-mail de aceite de publicação foi anexado ao

Endereço: Avenida Brasil 4366
Bairro: Manguinhos **CEP:** 21.940-360
UF: RJ **Município:** RIO DE JANEIRO
Telefone: (21)3885-9535 **E-mail:** cep@ini.fiocruz.br

INSTITUTO NACIONAL DE
INFECTOLOGIA EVANDRO
CHAGAS - INI / FIOCRUZ



Continuação do Parecer: 3.605.404

relatório, assim como o resumo do mesmo).

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Mantidos os aprovados no parecer nº 1.976.850 de 22/03/2017.

Recomendações:

Sem recomendações.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Por entendermos que o protocolo continua a obedecer as normas de condução de pesquisas em seres humanos regulamentadas pelo CNS/MS, indicamos a aprovação da notificação com a previsão de produção de relatórios semestrais (parciais ou finais), de acordo com a Res. CNS no. 465/12 após aprovação dessa notificação pelo colegiado do CEP-INI.

Considerações Finais a critério do CEP:

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Envio de Relatório Parcial	RelatórioParcial2osem2017Zka.pdf	27/03/2018 15:09:34	Sonia Regina Lambert Passos	Postado

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

RIO DE JANEIRO, 18 de Abril de 2018

Assinado por:
Léa Ferreira Camillo Coura
(Coordenador)

Endereço: Avenida Brasil 4365
Bairro: Marquês CEP: 21.040-360
UF: RJ Município: RIO DE JANEIRO
Telefone: (21)3865-9285 E-mail: cep@ini.fiocruz.br