

UNIVERSIDADE DE PERNAMBUCO
FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE PERNAMBUCO

Mabel Cristina Paiva Machado da Silva

Desenvolvimento dentário em crianças nascidas de mães infectadas por Zika: Estudo baseado em casos

Camaragibe

2021

Mabel Cristina Paiva Machado da Silva

**Desenvolvimento dentaário em crianças nascidas de mães infectadas por Zika:
Estudo baseado em casos**

Tese apresentada à Universidade de Pernambuco, Campus Camaragibe como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutor em Odontologia, na área de Odontopediatria.

Orientador: Prof. Dra. Aronita Rosenblatt

Camaragibe
2021

Dados internacionais de Catalogação-na-Publicação (CIP)
Biblioteca Prof. Guilherme Simões Gomes
Faculdade de Odontologia de Pernambuco – FOP/UPE

S586d Silva, Mabel Cristina Paiva Machado da
Desenvolvimento dentário em crianças nascidas de mães infectadas por Zika: estudo baseado em casos/Mabel Cristina Paiva Machado da Silva; orientadora: Aronita Rosenblatt. - Recife, 2021.

97f.: il.-

Tese (Doutorado em Odontologia, área de concentração em Odontopediatria) - Universidade de Pernambuco, Faculdade de Odontologia de Pernambuco, Recife, 2021.

1 ZIKA VÍRUS 2 MICROCEFALIA 3 ANORMALIDADES
CONGÊNITAS 4 ANORMALIDADES MAXILOFACIAIS 5
ODONTOGÊNESE 6 CRIANÇA 7DIAGNÓSTICO I Rosenblatt, Aronita
(orient.) II Título

CDD 21th ed. - 617.645
Manoel Paranhos - CRB4/1384
BFOP-042/2021

MABEL CRISTINA PAIVA MACHADO DA SILVA

**DESENVOLVIMENTO DENTÁRIO EM CRIANÇAS NASCIDAS DE
MÃES INFECTADAS POR ZIKA: ESTUDO BASEADO EM CASOS**

Tese apresentada à Universidade de Pernambuco, Campus Camaragibe como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutor em Odontologia, na área de Odontopediatria.

Orientador: Prof. Dra. Aronita Rosenblatt

Recife, 27 de Abril de 2021

Local: Google Meet

MEMBROS COMPONENTES DA BANCA EXAMINADORA

Presidente e Orientador (a): Aronita Rosenblatt

Universidade de Pernambuco

Membro Titular: Mônica Vilela Heimer

Universidade de Pernambuco

Membro Titular: Sandra Conceição Maria Vieira

Universidade de Pernambuco

Membro Titular: Cintia Tornisiello Katz

Universidade Federal de Pernambuco

Membro Titular: Arnaldo Vasconcelos de Alencar Filho

Universidade Maurício de Nassau

"A criança é, por natureza, um ser do encantamento, um ser que experimenta a leveza e que não retém a dor."

(Cris Griscon)

Dedico essa tese às crianças com Síndrome Congênita do Zika Vírus pela doação e olhar sincero que aquece o coração.

AGRADECIMENTOS

À **Deus**, meu único e eterno Salvador, que permitiu com sua infinita bondade que eu concluísse mais uma etapa. Obrigada Deus!

À **minha mãe Sulaneide** por ser o meu maior exemplo de perseverança e temor a Deus, que apesar das dificuldades soube transmitir toda sua sabedoria e apoio.

Ao meu avô Alcides (in memorian) por ser o melhor exemplo de superação e doação de si mesmo à sua família; o maior exemplo de homem que pude conviver aqui na terra.

Aos meus familiares pelo amor e carinho desmedidos, por serem porto onde posso descansar. Vocês são para mim a projeção do amor de Cristo aqui na terra.

À **meu marido Marcos**, minha melhor parte; por ser um companheiro carinhoso e paciente em horas de aperto. Muitas vezes, sua voz foi a minha calma e tranquilidade.

À **minha orientadora Aronita Rosenblatt**, pela confiança desse projeto e doação de conhecimentos. Obrigada pela paciência, compreensão e por nos ensinar a ver além. Um enorme abraço.

Ao professor Arnaldo Caldas, por ser esse ser brilhante que carrega com autoridade o título de professor e mestre. Cada contribuição sua, desde o meu mestrado, cada palavra carregada de gentileza ficarão guardadas na minha memória. Obrigada professor!

À **Professora Mônica Heimer**, pelos ensinamentos e conselhos. Por ser sempre disponível e disposta a nos socorrer nos momentos de apuros. Sua firmeza e voz forte me inspira a um mundo acadêmico melhor. Que possamos nos encontrar nas “pictures” da vida. Obrigada professora.

Às **Profesoras da Clínica de Odontopediatria da FOP**, pela troca maravilhosa de conhecimentos. Obrigada por nos permitir aprender através do exemplo de vocês.

Aos amigos da igreja, pelo carinho, conselhos e orações pela minha vida. Amigos bons são aqueles que nos estimulam a ler a bíblia, que falam conosco sobre a nossa alma e alimentam a esperança sobre a vida eterna com Cristo. Obrigada amigos.

Aos amigos que a pós-graduação me concedeu, meus dias foram mais leves com a presença de vocês.

À thurminha da FOP, amigos inseparáveis desde a graduação até os dias de hoje. Minha vida acadêmica sempre foi mais alegre por causa da presença de vocês.

À Maria Carlla Aroucha Lyra, por ser um ser de luz que transborda amor e empatia por onde passa, por ser amiga e abraço quente quando preciso. A amo de coração.

À Hittalo Carlos Rodrigues de Almeida, por seu companheirismo e amizade sincera. Ajudar é um verbo sempre presente nele; se doa de alma e coração àqueles a quem escolheu proteger. Meus dias, com certeza, foram mais leves e regados de carinho com sua presença.

As meninas da turma do mestrado Débora e Thaysa, vocês são meninas maravilhosas e de corações únicos, obrigada por me permitir ensinar e aprender com vocês. Desejo um doutorado maravilhoso e de muito aprendizado para vocês.

Aos funcionários da FOP, meu agradecimento sincero pela gentileza diária para que nossos dias fossem mais leves.

Às funcionárias da secretaria da pós Belle, Dani e Berna, por sempre se mostrarem solícitas às nossas necessidades. Obrigada por cada telefonema e mails esclarecedores. Super Obrigada.

À CAPES, por conceder a bolsa de estudos para que esse projeto fosse possível de ser realizado.

Ao Hospital Universitário Oswaldo Cruz por abrir as portas, permitir que essa pesquisa contribuísse para a saúde dessas crianças e por me integrar a equipe com tanto carinho.

À todos os funcionários do Hospital Universitário Oswaldo Cruz e DIP Infantil por facilitar a realização dessa pesquisa.

“E aprendi que se depende sempre
De tanta, muita, diferente gente
Toda pessoa sempre é as marcas
Das lições diárias de outras tantas pessoas

E é tão bonito quando a gente entende
Que a gente é tanta gente onde quer que a gente vá
E é tão bonito quando a gente sente
Que nunca está sozinho por mais que pense estar”

(Caminhos do coração – Gonzaguinha)

RESUMO

Contexto: No Brasil, em outubro de 2015, um surto de infecção pelo vírus Zika (ZIKV) e um aumento incomum de recém-nascidos com microcefalia sugeriu uma relação causal entre infecção materna e microcefalia em crianças. Microcefalia é uma condição em que a cabeça de um bebê é significativamente menor do que a de crianças da mesma idade e sexo, geralmente com sequelas neurológicas. Como o esmalte dentário deriva do mesmo tecido embriológico do sistema nervoso central, a infecção materna por ZIKV no primeiro trimestre da gravidez pode ter o potencial de afetar o desenvolvimento dentário. **Objetivo:** Primeiramente, avaliar a presença de germes dentários em 13 bebês com diagnóstico confirmado de Síndrome Congênita do Zika Vírus, nascidos de mães infectadas com o vírus durante a gravidez; e segundo, avaliar o desenvolvimento dentário dessas crianças em um acompanhamento de 36 meses. **Desenho:** Estudo longitudinal baseado em casos. **Resultados:** Os exames radiográficos do primeiro semestre mostraram que todas as crianças apresentavam germes dentais. Ao longo do estudo os indivíduos apresentaram vários distúrbios dentários, entre eles, agenesia de alguns dentes, formação dentária incompleta, dentes supranumerários, cistos de erupção e defeitos de desenvolvimento do esmalte. No final do período de avaliação, o atraso na cronologia de erupção foi evidente em algumas crianças que apresentaram dentição decídua incompleta. **Conclusão:** A cronologia anormal de erupção dentária e distúrbios do desenvolvimento dentário em crianças com microcefalia nascidas de mães infectadas pelo ZIKV indicam um possível papel do vírus na odontogênese.

Palavras-chave: Zika vírus. Criança. Defeito dentário. Microcefalia. Diagnóstico

ABSTRACT

Background: In Brazil, in October 2015, an outbreak of Zika virus infection (ZIKV) and an unusual increase in newborns with microcephaly suggested a causal relationship between maternal infection and microcephaly in children. Microcephaly is a condition in which a baby's head is significantly smaller than that of children of the same age and sex, usually with neurological sequelae. Since tooth enamel is derived from the same embryological tissue as the central nervous system, maternal ZIKV infection in the first trimester of pregnancy may have the potential to affect tooth development. **Objective:** First, to evaluate the presence of dental germs in 13 babies with confirmed diagnosis of Congenital Zika Virus Syndrome, born to mothers infected with the virus during pregnancy; and second, to evaluate the dental development of these children in a 36-month follow-up. **Design:** Longitudinal study based on cases. **Results:** Radiographic examinations in the first semester showed that all children had dental germs. Throughout the study, the individuals presented several dental disorders, among them, agenesis of some teeth, incomplete dental formation, supernumerary teeth, eruption cysts and enamel development defects. At the end of the evaluation period, the delay in the eruption chronology was evident in some children who had incomplete primary dentition. **Conclusion:** The abnormal chronology of tooth eruption and dental development disorders in children with microcephaly born to mothers infected with ZIKV indicate a possible role of the virus in odontogenesis.

Keywords: Zika virus. Child. Dental defect. Microcephaly. Diagnosis.

LISTA DE QUADROS, ILUSTRAÇÕES E GRÁFICOS

Quadro 1 – Marcos históricos do Zika Vírus	19
Quadro 2 – Variáveis referentes à criança	33
Quadro 3 – Variáveis maternas	35
Figura 1 – Fluxograma da amostra	41
Gráfico 1 – Número médio de dentes presentes em crianças com CZS e valores de referência da tabela de Logan e Kronfeld por idade analisada	48

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Estatística do número de dentes presentes e valores relatados por Logan e Kronfeld por idade analisada	44
Tabela 2 – Crianças nascidas com Síndrome Congênita do Zika Virus	45
Tabela 3 – Distúrbios dentários em crianças com SCZV aos 36 meses	47
Tabela 4 – Número de dentes e diferença de idade de acordo com o perímetro cefálico	48

LISTA DE ABREVIATURAS

ZIKV – Zika Vírus

OMS – Organização Mundial de Saúde

CDC – Centro de Controle e Prevenção de Doenças

SCZV – Síndrome Congênita do Zika Vírus

SNC – Sistema Nervoso Central

CCN – Células da Crista Neural

DDE – Defeitos de Desenvolvimento do Esmalte

CE – Cronologia de Erupção

ECDC – European Centre for Disease Prevention and Control.

SVMS/ MS – Secretaria de Vigilância em Saúde do Ministério da Saúde

RT-PCR – Polimerase Chain Reaction

OPAS – Organização Pan-Americana de Saúde

BPN – Baixo Peso ao Nascer

HUOC – Hospital Universitário Oswaldo Cruz

UPE – Universidade de Pernambuco

IMIP – Instituto Materno Infantil Prof. Fernando Figueira

IgG – Imunoglobulina G

IgM – Imunoglobulina M

HIV – Human Immunodeficiency Virus (Síndrome da Imunodeficiência Humana)

PC – Perímetro Cefálico

TC – Tomografia Computadorizada

LCR – Líquido Cefalorraquidiano

SES-PE – Secretaria de Saúde do Estado de Pernambuco

TCLE – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

ALARA – As Low as Reasonably Achievable

ADA – American Dental Association

T.O.R.C.H – Toxoplasmose – Outras doenças – Rubéola – Citomegalovírus – Herpes.

CMV – Citomegalovírus

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	15
2 REVISÃO DE LITERATURA	18
2.1 Histórico e epidemiologia	19
2.2 Agente etiológico e meios de transmissão	19
2.3 Apresentação clínica, diagnóstico e tratamento	20
2.4 Zika vírus e gravidez	21
2.5 Síndrome Congênita do Zika Vírus	22
2.6 Defeito de esmalte, cronologia de erupção e distúrbios neurológicos	23
3 OBJETIVOS	27
3.1 Objetivo geral	27
3.2 Objetivos específicos	27
4 MATERIAIS E MÉTODOS	29
4.1 Desenho do estudo	29
4.2 Local e período do estudo	29
4.3 Local e período do estudo	29
4.3.1 Diagnóstico materno	29
4.3.2 Diagnóstico do recém-nascido com microcefalia.....	30
4.4 Critérios e procedimentos para seleção dos participantes	30
4.4.1 Critérios de inclusão	30
4.4.2 Critérios de exclusão	30
4.5 Procedimentos para recrutamento e acompanhamento dos participantes	30
4.5.1 Seleção do grupo e coleta de dados	30
4.5.2 Exame clínico	31
4.5.3 Exame radiográfico	32
4.6 Variáveis	32
4.6.1 Variáveis referentes à criança	32
4.6.2 Variáveis maternas	34
4.7 Considerações éticas	35
4.8 Processamento e análise de dados	35
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	38
6 CONSIDERAÇÕES FINAIS	60
REFERÊNCIAS	61

APÊNDICE A – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido	68
APÊNDICE B – Formulário sócio-demográfico e comportamental	70
APÊNDICE C – Exame radiográfico: Avaliação do desenvolvimento dentário	72
APÊNDICE D – Exame clínico: avaliação da cronologia de erupção dentária e defeito de esmalte	73
ANEXO A – Certificação do Comitê de Ética	75
ANEXO B – Tabela da American Academy of Pediatric Dentistry	77
ANEXO C – Artigo publicado no periódico Archives of Oral Biology na língua inglesa	78

INTRODUÇÃO

1 INTRODUÇÃO

Em outubro de 2015, houve um surto extraordinário de crianças com microcefalia nascidas de mães infectadas pelo Zika Vírus (ZIKV) durante a gestação (MLAKA et al., 2016). No momento do surto, os relatórios indicavam que mais de 4.000 crianças tinham nascido com microcefalia no país, com maior concentração de casos na Região Nordeste (BRASIL, 2016). No início de 2016, a Organização Mundial de Saúde (OMS) declarou a microcefalia e outros distúrbios neurológicos uma emergência de saúde pública (SCHULER-FACCINI, L. et al., 2016).

Em maio de 2016, um relatório do Centro de Controle e Prevenção de Doenças (CDC) confirmou a relação de causalidade entre a infecção pré-natal por ZIKV, microcefalia e outros casos graves de distúrbios cerebrais (RASMUSSEN, 2016), fato que se tornou um marco na comunidade científica por apresentar as primeiras evidências de teratogenicidade associadas a um mosquito.

A microcefalia é considerada um sinal de alteração na formação cerebral e é diagnosticada através da medida do perímetro cefálico ao nascimento (PARDY e RICHER, 2019). Sua etiologia pode está relacionada a fatores congênitos, adquiridos durante a gestação; a exposição a fatores ambientais durante o período pré-natal, como drogas ilícitas, medicamentos teratogênicos e agentes infecciosos; como também a fatores genéticos e cromossômicos (McELRATH et al., 2010).

A microcefalia associada a agentes infecciosos se configuram como a principal causa da doença e entre eles estão a toxoplasmose, rubéola, citomegalovírus, herpes viral e atualmente o Zika Vírus (MLAKA et al., 2016). A infecção pelo ZIKV durante a gravidez causa nos neonatos sinais e sintomas que afetam o perímetro cefálico e geram um conjunto de alterações neurológicas específicas, não observadas em outros tipos de infecções (PARDY e RICHER, 2019; CDC, 2016). Esse grupo específico de características sugeriu a presença de uma nova síndrome congênita intitulada de Síndrome Congênita do Zika Vírus (SCZV).

Para definir o espectro da SCZV, a OMS (Organização Mundial da Saúde) se propôs a mapear e analisar as manifestações clínicas, como alterações neurológicas, auditivas, visuais e outras (EICKMANN, 2016). Dessa forma, considerando que os tecidos do Sistema Nervoso Central (SNC) são os mais afetados por essa síndrome, há razões para que os tecidos dentários, originados do mesmo folheto embrionário do SNC, também possam sofrer alterações devido a essa infecção viral.

A odontogênese (período de formação e desenvolvimento dentário) é um processo que envolve alta coordenação e sincronização do epitélio oral com células pluripotentes que migram da Crista Neural (CCN) do Sistema Nervoso Central (KATCHBURIAN e ARANA, 2012). O processo de desenvolvimento dentário é sensível a alterações genéticas e ambientais, podendo ocasionar os Defeitos de Desenvolvimento de Esmalte (DDE) (DAMM e NEVILLE, 2009).

Os DDE são falhas na composição estrutural do dente e considerados consequência de situações adversas ocorridas no período perinatal e nos primeiros anos de vida (PASSOS et al., 2007; LUNARDELLI e PERES, 2005), sendo um importante preditor da cárie dentária (HONG et al., 2009). Crianças com distúrbios neurológicos podem apresentar DDE, sugerindo que quando o sistema neurológico é afetado, o desenvolvimento dentário também pode ser (BHAT e NELSON, 1989). Além dos DDE, a cronologia de erupção dentária (CE) pode ser alterada em crianças com SCZV, constituindo um importante parâmetro para avaliação do desenvolvimento do sistema estomatognático infantil (TOLEDO, 1986).

Reconhece-se a importância do mapeamento e acompanhamento dessas crianças para que os desdobramentos e repercussões da doença possam ser conhecidos e protocolos de tratamento definidos. Portanto, este estudo teve como objetivo avaliar o desenvolvimento dentário de crianças com Síndrome Congênita do Zika Vírus nos primeiros 36 meses de idade.

REVISÃO DE LITERATURA

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 Histórico e epidemiologia

O Zika Vírus (ZIKV) foi isolado pela primeira vez em 1947 através de um macaco rhesus sentinela na região da floresta Zika, em Uganda, na África (PARDY E RICHER, 2019). Posteriormente, análises das amostras de soro humano em Uganda mostraram a presença de anticorpos neutralizantes contra o vírus, fornecendo a primeira evidência de que o vírus poderia infectar seres humanos (NOORBAKHS et al., 2019).

Embora a primeira evidência de infecção pelo ZIKV em humanos tenha sido relatada em 1952 (FAGBAMI, 1979; NHAN, CAO-LORMEAU e MUSSO, 2014), tornou-se conhecido apenas em 2007 após um grande surto na ilha de Yap e em outras ilhas próximas dos Estados Federados da Micronésia, na Oceania (NHAN, CAO-LORMEAU e MUSSO, 2014).

Inicialmente, o surto foi relacionado ao vírus da dengue de maneira equivocada. A partir de exames sorológicos e de biologia molecular, foi possível identificar o ZIKV como agente etiológico responsável pela infecção de cerca de 70% dos residentes da ilha de Yap, aproximadamente 8.187 pessoas (BALM et al., 2012).

Entre outubro de 2013 e fevereiro de 2014, outro surto de infecções foi documentado com mais de 8.000 casos suspeitos notificados na Polinésia Francesa, onde 53,1% dos casos testaram positivo para o vírus (ECDC 2014).

Na Nova Caledônia, os primeiros casos de febre por ZIKV foram importados da Polinésia Francesa no final de novembro de 2013, e os primeiros casos autóctones ocorreram em meados de janeiro de 2014 (ECDC, 2014). Em fevereiro de 2014, identificou-se o primeiro caso de febre pelo vírus Zika no Chile em uma criança residente da Ilha de Páscoa e rapidamente chegou ao Brasil (FANTINATO et al., 2016).

O potencial de disseminação de doenças emergentes, como a influenza, por exemplo, é altamente proporcional a crescente mobilidade de pessoas (WORLD TOURISM ORGANIZATION, 2015). Segundo a Organização Mundial do Turismo, em 2014, o número de turistas internacionais atingiu 1.138 milhões, 51 milhões a mais em comparação com o ano anterior (WORLD TOURISM ORGANIZATION, 2015). Com os eventos de massa internacionais ocorridos no Brasil no ano de 2014, ampliou-se o fluxo de pessoas e agentes de doenças transmissíveis como a febre pelo vírus Zika, que então passou para o horizonte de atenção da vigilância em saúde do país (BRASIL, 2014).

Em fevereiro de 2015, sete meses após a Copa do Mundo FIFA Brasil 2014, a

Secretaria de Vigilância em Saúde do Ministério da Saúde (SVS/MS) passou a monitorar o aumento do registro de casos de síndrome exantemática indeterminada nos estados da região Nordeste do Brasil (BRASIL, 2015a).

Juntos, esses surtos contemporâneos representaram uma mudança significativa no fenótipo do ZIKV, de um vírus que causava infecções isoladas e leves para um com potencial de causar danos e sequelas mais graves atualmente (PARDY e RICHER, 2019). O novo perfil de infecção do vírus foi associado a um aumento significativo no número de casos de microcefalia em recém-nascidos e síndrome de Guillain-Barré em adultos nas regiões infectadas (PARDY e RICHER, 2019).

Quadro 1. Marcos históricos do Zika Vírus

Ano	Marco
1947	Descoberta do vírus na Floresta de Uganda, África
1952	Primeiro relato de infecção por Zika Virus - Nigéria
2007	Primeira epidemia de Zika nas Ilhas Yap - Micronésia
2013	Segunda epidemia de Zika na Polinésia Francesa – França
2013	Primeiro relato de caso de Síndrome de Guillain-Barré na Polinésia Francesa - França
2015	Terceira epidemia de Zika – América do Sul
2015 (Outubro)	Primeiro relato de microcefalia associado ao Zika Vírus – Brasil
2016	A OMS declara o ZIKV uma emergência de saúde pública de interesse internacional

2.2 Agente etiológico e meios de transmissão

O ZIKV é um arbovírus do tipo RNA, do gênero Flavivírus, família Flaviviridae (FAGBAMI, 1979; BRASIL, 2014); recebeu esse nome por ter sido descoberto na floresta de Zika, na Uganda, pelo virologista escocês George WA Dick (WHITE et al., 2016; BALM et al., 2012; HAYES, 2009).

Este gênero compreende alguns patógenos humanos importantes como, por exemplo,

Dengue, febre amarela, vírus do Nilo Ocidental e encefalite de St. Louis (NOORBAKHS et al., 2019). Esses vírus estão associados a uma série de infecções, com quadros clínicos que podem variar de febres assintomáticas ou autolimitadas até algumas doenças fatais, como hemorragia, choque, meningite e encefalite (NOORBAKHS et al., 2019).

Os principais vetores são os mosquitos do gênero *Aedes*: o *A. africanus*, na África; e o *A. aegypti*, na Malásia (BALM et al., 2012; HAYES, 2009). Em particular, o mosquito *Aedes aegypti* é conhecido por ser o vetor predominante do vírus Zika e instalação de ciclos de transmissão urbana em regiões tropicais e subtropicais do mundo (ECDC, 2014; CHANG, 2016). Estima-se que o período de incubação para o ZIKV em mosquitos desse gênero seja de aproximadamente 10 dias, importante fator para rápida disseminação e transmissão da infecção (HAYES, 2009).

A infecção pelo zika vírus também inclui formas não vetoriais de transmissão (ARORA, 2020). A infecção pode ocorrer durante a gestação, passando da mãe para o feto; da mãe para filho, durante a amamentação, embora a transmissão por esse meio ainda não tenha sido relatada (SOTELO ET AL., 2017); transmissão por relação sexual; transmissão por transfusão de sangue e por outros fluidos como soro, urina e saliva (MUSSO, KO E BAUD, 2019; ARORA, 2020).

A transmissão do ZIKV por transfusão sanguínea foi relatada no Brasil em 2016 (MOTTA et al., 2016). No entanto, como acontece com a transmissão sexual, a infecção transmitida por transfusão é difícil de provar e medir em áreas endêmicas expostas a mosquitos (BAUD et al., 2017; LOWE et al., 2018).

Estudos demonstraram a presença e persistência de ZIKV no trato geniturinário masculino e feminino, estando no esperma, urina e secreções vaginais de pacientes infectados por longos períodos de tempo (MUSSO, CAO-LORMEAU e GUBLER, 2015; MURRAY et al., 2017; BAUD et al., 2017; PAZ-BAILEY et al., 2018). Porém, a duração máxima da infecciosidade presentes nesses fluidos ainda não é conhecida (LOWE et al., 2018).

2.3 Apresentação clínica, diagnóstico e tratamento

A febre pelo vírus Zika é aguda, autolimitada que, via de regra, não se associa a complicações graves e apresenta baixa taxa de hospitalização (BALM et al., 2012). Estima-se que somente 18% das infecções humanas resultam em manifestações clínicas, sendo portanto, mais frequente a infecção assintomática (NHAN, CAO-LORMEAU e MUSSO, 2014;

HAYES, 2009; IOOS et al., 2014; DUFFY et al., 2009).

O período de incubação atualmente é estimado em cerca de três a 12 dias, e a própria doença tem um curso curto com duração de 2-7 dias (PERGOLIZZI et al., 2020). Os principais sintomas são febre baixa, erupção cutânea do tipo exantema (90% dos pacientes), artralgia (65%), conjuntivite não purulenta (55%) e cefaleia (PERGOLIZZI et al., 2020). Outros sintomas difusos podem ocorrer, como dor retro-orbital, dor abdominal, náuseas, vômitos, diarréia e constipação (ARORA, 2020).

O diagnóstico para infecção por ZIKV é feito através dos sinais e sintomas quando presentes, teste laboratorial do tipo RT-PCR para detectar o RNA viral e outros testes para detecção de anticorpos específicos contra o vírus (ARORA, 2020).

Até o momento, não existem vacinas e agentes antivirais para tratar o ZIKV. Por ser uma infecção de curso curto e relativamente leve, para casos sintomáticos é recomendado o uso de analgésicos para controle da dor e da febre (PERGOLIZZI et al., 2020). No caso de erupções pruriginosas, os antihistamínicos podem ser considerados. Não se recomenda o uso de ácido acetilsalicílico e outros anti-inflamatórios, em função do risco aumentado de complicações hemorrágicas descritas nas infecções por outros flavivírus (ECDC, 2014).

2.4 Zika vírus e gravidez

A evidência da relação entre a infecção por ZIKV e anomalias neurológicas em neonatos foi descrita pela primeira vez em janeiro de 2016 pelo Ministério da Saúde do Brasil (LISSAUER, SMIT e KILBY, 2016). Meses depois, a OMS (Organização Mundial de Saúde) confirmou a relação causal entre a infecção por ZIKV com defeitos congênitos e síndromes neurológicas (LISSAUER, SMIT e KILBY, 2016).

Embora os relatórios iniciais da OMS tenham destacado a microcefalia como a principal preocupação da transmissão vertical da infecção pelo ZIKV, outras sequelas são encontradas, como calcificações cerebrais, epilepsia, deficiência ocular, auditiva e atrasos no desenvolvimento (MOREIRA, VILLELA e MEIO, 2021).

Os mecanismos de ação direta do ZIKV sobre as células do feto em desenvolvimento ainda não são totalmente claros (CARVALHO et al., 2019). A placenta tem sido o foco dos estudos para estabelecimento desses mecanismos de infecção viral, dado ao seu papel crítico no desenvolvimento do feto e sucesso da gestação. No entanto, estudos da placenta apresentam limitações de análise *in vivo*, com a maioria dos dados gerados a partir de estudos

em animais, in vitro e após o parto (HIRSCH et al., 2018).

Tang e col. (2016) mostrou em seu estudo que uma cepa do ZIKV infecta com eficiência células progenitoras neurais humanas derivadas de células-tronco pluripotentes induzidas, células responsáveis pela formação de vários tecidos do complexo craniofacial (TANG et al., 2016; CARVALHO et al., 2019).

Um estudo pioneiro feito pelo Instituto Carlos Chagas, da Fiocruz Paraná, confirmou que o vírus Zika é capaz de atravessar a barreira placentária durante a gestação. A análise foi feita a partir de amostras de uma paciente da região Nordeste que sofreu um aborto no primeiro trimestre de gravidez após relatar sinais e sintomas compatíveis com a infecção por ZIKV. As amostras colhidas da placenta confirmaram a presença do genoma do vírus em células da mãe e do embrião (WHO, 2016).

Estudos in vivo feitos com modelos de rato relataram a ação do vírus e o seu efeito sobre os fetos (SILVERSTEIN, ALJOURDA e KUMAR, 2016; HIRSCH et al., 2018). Estes estudos introduziram diferentes estirpes do vírus em camundongos grávidas que, ao acompanhar o seu desenvolvimento, comprovaram a infecção viral fetal através dos danos às células do sistema nervoso central.

Embora a transmissão do vírus de mãe para o feto seja comprovada por testes laboratoriais in vitro, ainda há dados limitados que quantifiquem o risco absoluto de transmissão intrauterina do vírus (KOPPOLU e SHANTHA RAJU, 2018). Porém, a microcefalia está mais intimamente ligada à infecção materna por ZIKV no início da gravidez (primeiro trimestre), o que mostra que quanto mais precoce a infecção mais graves são as sequelas para o feto (PARDY e RICHER, 2019).

Adachi e col. (2020) e Lima e col. (2019) relatam em seus estudos que o risco de neurodesenvolvimento abaixo da média em crianças infectadas por zika cai 46% a cada trimestre de gestação. Infecção por ZIKV, principalmente no início da gravidez, pode ter impactos devastadores com potencial para implicações ao longo da vida para os bebês e suas famílias.

2.5 Síndrome Congênita do Zika Vírus (SCZV)

O impacto da infecção pelo ZIKV durante a gravidez e nos neonatos é o aspecto mais dramático dos surtos contemporâneos de ZIKV. A microcefalia fetal é diagnosticada com base na medida do perímetro cefálico ao nascimento, sendo esse com medida inferior a dois desvios-padrão específicos para cada sexo e idade gestacional (PARDY e RICHER, 2019).

O conjunto de sinais e sintomas observados na infecção por ZIKV sugeriu a presença de uma nova síndrome congênita, a Síndrome Congênita do Zika Vírus (SCZV). A microcefalia fetal representa um dos vários sinais clínicos que são coletivamente referidos como a SCZV, que também inclui córtices cerebrais delgados com calcificações subcorticais e hipertonia precoce marcada (MOORE et al., 2017).

A OMS (Organização Mundial de Saúde) se propôs a definir o espectro da síndrome, processo que foca no mapeamento e análise das manifestações clínicas englobando os distúrbios neurológicos, auditivos, visuais e outros, além de descobertas relacionadas à neuroimagem (EICKMANN et al., 2016). Outras dismorfias físicas também são observadas frequentemente, como acentuada protuberância óssea occipital, fontanelas fechadas ao nascer, excesso de pele e/ou dobras de pele no escalpo, além de hérnia umbilical (OPAS, 2016; EICKMANN et al., 2016).

Algumas crianças apresentam crises convulsivas e o aumento da frequência destas com o aumento da idade, com ocorrência de crises epiléticas mais evidentes a partir dos três meses de idade (EICKMANN et al., 2016; HASAN et al., 2019). Em proporção menor, alguns portadores da síndrome apresentam deformidades ósseas, em especial a artrogripose (contraturas congênicas) e pés tortos congênicos. Anormalidades oculares já foram documentadas nessa população, sendo descritos casos de atrofia macular, além de nistagmo horizontal, alteração na retina, no nervo óptico (VENTURA ET AL., 2016).

Os exames de imagem (ultrassonografia transfontanela, tomografia e ressonância magnética) são fundamentais para confirmar a síndrome. Com características distintas das observadas em lactentes com microcefalia provocada por outras infecções congênicas, a SCZV mostra marcantes calcificações difusas, puntiformes com predominância na junção córtico-subcortical (EICKMANN et al., 2016). Entre as anormalidades neurológicas observadas destacam-se a hipertonia global grave com hiper-reflexia, irritabilidade, hiperexcitabilidade, choro excessivo, distúrbio de deglutição, além de respostas auditivas e visuais comprometidas (EICKMANN et al., 2016; BRITT, 2018).

As informações referentes à descrição, diagnóstico e complicações decorrentes da infecção pelo vírus zika ainda são poucas e dificulta a limitação do espectro da síndrome (PERGOLIZZI et al., 2020).

2.6 Defeitos de esmalte, cronologia de erupção dentária e distúrbios neurológicos.

Os defeitos de desenvolvimento de esmalte (DDE) são considerados marcadores de situações adversas ocorridas no período perinatal e nos primeiros anos de vida (PASSOS et al., 2007; LUNARDELLI e PERES, 2005). Possuem importância no campo da saúde pública, por constituírem um dos fatores preditores da doença cárie nas populações (HONG, 2009).

Os DDE são descritos como alterações estruturais que resultam na diminuição ou perda local de sua translucidez (HOFFMANN e SOUSA, 2007). Caracterizam-se pela presença de fóssulas ou sulcos na superfície dental e também alterações de coloração, que possuem um impacto significativo na saúde bucal, seja na estética, sensibilidade dental, na função oclusal ou como preditor para cárie e processos erosivos (HOFFMANN e SOUSA, 2007; SEOW, 1991; SEOW, 1997).

A formação das estruturas dentárias se inicia por volta da 4ª semana (KATCHBURIAN E ARANA, 2004) e a formação do esmalte por volta da 14ª semana de vida intrauterina, com continuação do processo até o 1º ano de vida pós-natal (RASMUSSEN, 2016). Eventos adversos ocorridos durante a formação e secreção do esmalte dentário nos períodos pré, peri e pós-natal podem se tornar marcas permanentes (SEOW, 1997). Desta forma, a localização das lesões permite determinar se o agente causal atuou antes ou após o nascimento.

Os Defeitos de Esmalte são resultantes de alterações que ocorreram durante a sua formação, tais como infecções durante a gestação, distúrbios respiratórios, distúrbio hemolítico, prematuridade, BPN (baixo peso ao nascer), desnutrição pré-natal infantil e distúrbios neurológicos (SEOW, 1986; PASSOS et al., 2007; CHAVES, OLIVEIRA e ROSENBLATT, 2007). Crianças com distúrbios neurológicos frequentemente apresentam DDE e alteração em sua cronologia de erupção, sugerindo que distúrbios sistêmicos que podem afetar o sistema neurológico também podem interferir no desenvolvimento dentário (BHAT e NELSON, 1989).

Considerando que vários estudos apontam a ocorrência de cárie dental como uma das principais implicações e consequência dos DDE (MASSIGNAN, 2016), torna-se importante o conhecimento sobre sua prevalência em pacientes com distúrbios neurológicos, visando qualidade de vida nesse grupo.

A cronologia de erupção (CE) corresponde à data que o dente irrompe na cavidade bucal e obedece a certo padrão genético (GUEDES-PINTO, 2010). A CE pode apresentar alterações por influência de fatores raciais, genéticos e geográficos; características individuais, como sexo, tipo de amamentação; fatores socioeconômicos e determinadas

condições sistêmicas. Intercorrências durante o período gestacional como traumas, quedas ou doenças maternas também podem influenciar a cronologia da erupção dentária (D'AGOSTINO et al., 2020).

A CE assume um papel importante quando se considera que a erupção dentária não é um processo isolado do resto do organismo e tem conexão com o desenvolvimento global da criança (AGUIRRE E ROSA , 1980).O conhecimento da CE serve como parâmetro para avaliação do desenvolvimento do sistema estomatognático infantil e como ferramenta para auxílio diagnóstico e elaboração de estratégias de saúde voltadas para a prevenção, com atenção precoce às necessidades bucais infantis durante todo seu desenvolvimento (TOLEDO, 1986).

OBJETIVOS

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

Avaliar o desenvolvimento dentário de crianças com Síndrome Congênita do Zika Vírus nos primeiros 36 meses de idade.

3.2 Objetivos específicos

3.2.1 Observar se há presença de germes dentários no exame radiográfico;

3.2.2 Avaliar anomalias dentárias através de exame clínico e radiográfico;

3.2.3 Avaliar a cronologia de erupção e integridade do esmalte.

MATERIAIS E MÉTODOS

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Desenho do estudo

Foi realizado um estudo longitudinal de uma série de casos das primeiras crianças com confirmação laboratorial para Síndrome Congênita do Zika Vírus do estado de Pernambuco.

4.2 Local e período de estudo

O estudo foi desenvolvido na Unidade de Infectologia Pediátrica do Hospital Universitário Oswaldo Cruz (HUOC) da Universidade de Pernambuco (UPE) e no Instituto de Medicina Integral Prof. Fernando Figueira (IMIP). O HUOC é um hospital do complexo da Universidade de Pernambuco, referência regional para doenças infecto-parasitárias; e o IMIP é um centro de referência do Estado para tratamento da população infantil.

O estudo foi realizado entre o mês de Dezembro de 2015 e Janeiro 2019 após aprovação do comitê de ética da Universidade de Pernambuco através do parecer 1.879.573 (ANEXO A).

4.3 Definição da população e tamanho da amostra

A amostra foi constituída por 13 crianças residentes da Região Metropolitana do Recife com confirmação laboratorial para Síndrome Congênita do Zika Vírus (SCZV), nascidas de mães com igual comprovação de infecção por ZIKV.

As treze crianças foram selecionadas de um grupo composto dos primeiros 29 casos diagnosticados com SCZV no Estado de Pernambuco entre os meses de Julho e Outubro de 2015. Dos 29 casos, três morreram e 13 crianças foram excluídas por residir fora da Região Metropolitana do Recife.

4.3.1 Diagnóstico Materno

O diagnóstico materno para infecção por ZIKV foi realizado através dos sinais e sintomas relatados pela gestante, por exames sorológicos para detecção da presença de anticorpos de fase aguda (IgM) e de fase crônica (IgG) e pelo método RT-PCR (*Polymerase Chain Reaction*) que tem como objetivo encontrar fragmentos do genoma viral (ALBUQUERQUE et al., 2018). Exames sorológicos para exclusão de outras doenças possíveis causadoras de alterações no feto como Citomegalovírus, Toxoplasmose, Rubéola, Sífilis e HIV e outras arboviroses (dengue e chikungunya) também foram realizados. A confirmação do diagnóstico materno foi encontrado no prontuário da criança na Unidade de Infectologia Pediátrica

HUOC.

4.3.2 Diagnóstico do recém-nascido com Microcefalia

O diagnóstico do recém-nascido foi realizado através da medida do perímetro cefálico (PC ≤ 33 cm) ao nascer, exames de imagem (Tomografia Computadorizada sem contraste – TC) comprovando calcificações compatíveis com infecção congênita por zika e exames sorológicos feitos através do Líquor Cefalorraquidiano (LCR) e urina da criança. Através da análise do LCR e urina foi possível detectar a presença do vírus e anticorpos de fase aguda (IgM) e crônica (IgG) circulantes. Assim como no diagnóstico materno, também foram excluídas outras doenças possíveis causadoras de microcefalia em neonatos e outras arboviroses como a Dengue e a Chykungunya (SECRETARIA ESTADUAL DE SAÚDE DE PERNAMBUCO, 2015). O diagnóstico de infecção por ZIKV e confirmação da SCZV foi obtida através da análise dos prontuários das crianças na Unidade de Infectologia Pediátrica HUOC

4.4 Critérios e procedimentos para seleção dos participantes

4.4.1 Critérios de inclusão

- Crianças diagnosticadas com a Síndrome Congênita do Zika Vírus, nascidas de mães com diagnóstico confirmado de infecção por ZIKV, diagnosticadas durante o ano de 2015.
- Crianças acompanhadas na Unidade de Infectologia Pediátrica HUOC e no Instituto de Medicina Integral Prof. Fernando Figueira(IMIP).
- Habitantes da Região Metropolitana do Recife

4.4.2 Critérios de exclusão

- Crianças com outras síndromes ou patologia de base.
- Ter diagnóstico confirmado para outras doenças como Citomegalovírus, Toxoplasmose, Rubéola, Sífilis e HIV e outras arboviroses (dengue e chikungunya).

4.5 Procedimentos para recrutamento e acompanhamento dos participantes

4.5.1 Seleção do grupo e coleta dos dados

As crianças com diagnóstico confirmado para SCZV pela Secretaria de Saúde do

Estado de Pernambuco (SES-PE) foram recrutadas para o estudo no próprio centro de referência em que realizavam os acompanhamentos médicos periódicos. Após preenchimento dos critérios de inclusão e exclusão da pesquisa, os responsáveis foram contatados pela pesquisadora e informados sobre os procedimentos a serem realizados, os objetivos da pesquisa, assim como seus riscos, deixando claro que a referida participação é voluntária. Em casos de concordância, o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) foi assinado (APÊNDICE A).

4.5.2 Exame clínico

Os exames clínicos da cavidade bucal foram realizados a cada 6 meses, compreendendo seis visitas ao longo dos 36 meses de idade das crianças (6, 12, 18, 24, 30, e 36 meses). No primeiro momento houve o preenchimento do formulário da pesquisa (APÊNDICES B, C e D) e realização do primeiro exame clínico e radiográfico. O formulário semi-estruturado da pesquisa foi desenvolvido especialmente para essa investigação, contendo variáveis referentes à criança (idade, sexo, peso ao nascer, perímetro cefálico, anomalias dentárias, cronologia de erupção dentária e presença de defeito de desenvolvimento de esmalte) e à mãe (idade, escolaridade, realização de pré-natal e presença de rash cutâneo) com o intuito de reunir o máximo de informações. Nas visitas seguintes foram realizados apenas os exames clínicos de acompanhamento da cavidade bucal.

O exame clínico foi realizado no colo da mãe ou responsável, na cadeira odontológica, visando a condição clínica da criança. Os elementos dentários foram limpados e secados com gaze para melhor visualização. Abaixadores de língua foram utilizados a fim de facilitar a visualização das estruturas bucais e dentárias. Durante o exame clínico foram observados: as estruturas bucais (mucosas, palato e língua), as estruturas dentárias, a cronologia de erupção e defeitos de desenvolvimento do esmalte.

4.5.3 Exame radiográfico

Pela falta de dados sobre o desenvolvimento dentário em crianças com microcefalia causadas pelo ZIKV, as crianças foram submetidas ao exame radiográfico para verificar se os indivíduos apresentavam germes dentários. Foi realizada a técnica radiográfica oclusal de maxila e mandíbula com filme periapical padrão, em posição oclusal, preso de encontro aos rodets gengivais. A criança foi posicionada deitada no colo da mãe, em cadeira odontológica, com o plano sagital mediano perpendicular ao solo e feixe central de raio X dirigido à ponta

do nariz para arcada superior. Para arcada inferior, a direção do feixe central foi dirigido ao assoalho bucal (MASSONI et al., 2007). O participante da pesquisa foi submetido à doses mínimas de radiação, resultando em mínimos riscos. A dose de exposição à radiação utilizada foi menor do que 0,005 mSv, ou seja, 400 vezes menor do que a dose de exposição à uma tomografia computadorizada de crânio (PASSOS et al., 2007). O examinador seguiu o princípio ALARA (As Low as Reasonably Achievable- American Dental Association) (ADA, 2012) que tem como objetivo minimizar a exposição do paciente, reduzindo o número de imagens, limitando-se ao necessário para obter informações de diagnóstico essencial com utilização dispositivos de proteção e colar de tiróide (BALM et al., 2012).

4.6 Variáveis

4.6.1 Variáveis referentes a criança

As variáveis referentes às crianças encontram-se definidas no quadro 2.

- **Sexo:** variável categórica nominal dicotômica tipo feminino/masculino.
- **Peso ao nascer:** variável numérica contínua expressa em gramas, obtidas a partir dos dados do prontuário da criança, ou de acordo com informação da mãe. Para classificação do peso ao nascer utilizou-se o critério: baixo peso (crianças com menos de 2500 g), peso insuficiente (2500 g a 2999 g), peso adequado (3000 g a 3999 g) e excesso de peso (4000g ou mais) (MARIOTONI e BARROS FILHO, 2000). Em nosso estudo as categorias baixo peso e insuficiente foram agrupadas em apenas uma categoria denominada baixo peso (menos de 2.500g até 2.999g).
- **Idade da criança:** variável numérica contínua, expressa em meses completos, determinada de acordo com o prontuário da criança ou a informação da mãe ou responsável no dia da entrevista.
- **Perímetro cefálico (PC):** é a medida do contorno da cabeça na sua parte maior. Mede-se utilizando uma fita métrica, que deve se situar sobre as orelhas e acima das sobrancelhas. Para a sua medida, Macchiaverni e Barros Filho (1998) , recomendam que a fita seja posicionada sobre a proeminência occipital e sobre o arco das sobrancelhas. A medida do PC foram retiradas do prontuário do prontuário da criança.
- **Anomalias do desenvolvimento:** são distúrbios no desenvolvimento ou crescimento das estruturas dentárias, tendo como resultado final um dente diferente do padrão normal. Essas alterações podem estar relacionadas com a forma, tamanho

(microdontia, macrodontia), número (anodontia, hipodontia, dentes supranumerários), posição (dentes ectópicos) (MASSONI et al., 2007). As alterações foram anotadas no formulário do estudo após análise do exame radiográfico e exames clínicos de acompanhamento.

- **Defeito de esmalte:** definido como irregularidades em forma de ranhuras e/ou pontos no esmalte, frequentemente horizontal ou linear, além de opacidade na superfície do esmalte dentário, ocasionando uma formação incompleta ou deficiente da matriz orgânica (HONG, 2009). Os tipos de defeitos de esmalte foram classificados de acordo com o Índice de Defeitos de Desenvolvimento do Esmalte modificado (DDE Index, 1992) em: opacidade difusa, opacidade demarcada e hipoplasia do esmalte.
- **Via nutricional:** Via por qual a ingestão de alimentos é realizada. Foi categorizada como via oral, quando o paciente se alimenta diretamente pela boca; e via enteral, quando o paciente se alimenta através de tubos, sondas ou botões que levam o alimento diretamente para o estômago. A via de nutrição enteral é indicada quando o indivíduo não consegue se alimentar pela boca, sendo uma rota segura para garantir a integridade do aparelho digestivo, ou quando a alimentação por via oral oferece risco de vida (DE OLIVEIRA et al., 2020).
- **Número de dentes presentes em cada intervalo de acompanhamento:** Número de dentes presentes na cavidade bucal determinado por tabela padrão de erupção dentária (ANEXO B) (LOGAN e KRONFELD, 1933). O elemento foi considerado irrompido quando qualquer porção de sua coroa houver rompido a gengiva e estiver visível na boca.

Quadro 2. Variáveis referentes à criança

Variáveis referentes à criança	
Variável	Categorização
Sexo	Feminino/masculino
Peso ao nascer	Baixo peso/peso adequado/excesso de peso
Idade	Meses completos
Perímetro cefálico	Em centímetros

Anomalias do desenvolvimento	Forma/tamanho/número/posição
Defeitos de desenvolvimento do esmalte (DDE)	Opacidade difusa/opacidade demarcada/hipoplasia de esmalte
Via nutricional	Oral/enteral
Número de dentes	O elemento foi considerado irrompido quando qualquer porção de sua coroa houver rompido a gengiva e está visível na boca

4.6.2 Variáveis maternas

As variáveis maternas encontram-se definidas no quadro 3.

- **Idade:** variável numérica, contínua, expressa em anos completos, determinada de acordo com a informação da mãe ou consulta no prontuário da criança.
- **Escolaridade materna:** variável numérica, expressa em anos de estudo concluídos e aprovados, segundo informação da mãe, podendo posteriormente ser categorizada para análise como menor ou igual a oito anos e maior que oito anos.
- **Idade gestacional:** é o tempo, medido em semanas ou em dias completos, decorrido desde o início da última menstruação da mulher grávida até o nascimento da criança (ASSUNÇÃO et al., 2011). Variável numérica categorizada em semanas.
- **Número de consultas de pré-natal:** variável numérica discreta, categorizada em menos de seis consultas ou mais de seis consultas. O Ministério da Saúde do Brasil recomenda seis ou mais consultas de pré-natal para prevenir a desnutrição infantil, promover desenvolvimento correto infantil e obter um bom desfecho para a gestante e seu bebê (BRASIL, 2013).
- **Aleitamento materno exclusivo:** alimentação da criança somente por leite materno direto da mama ou ordenhado, ou leite humano de outra fonte, sem outros líquidos ou sólidos (BRASIL, 2015b). Foi categorizado como sim, quando presente por seis meses ou mais, e não, quando a criança foi amamentada por tempo inferior.
- **Rash cutâneo:** variável numérica discreta, categorizada em sim e não. Em caso afirmativo, foi anotado o trimestre em que ocorreu.

Quadro 3. Variáveis Maternas

Variáveis maternas	
Variável	Categorização
Idade	Anos completos
Escolaridade materna	Anos completos de estudo
Idade gestacional	Número de semanas de gstação até o parto
Número de consultas de pré-natal	Mais de seis consultas/ menos de seis consultas
Aleitamento materno exclusivo	Sim (6 meses ou mais) / Não (menos de 6 meses)
Rash cutâneo	Sim (em qual trimestre ocorreu) / Não

4.7 Considerações Éticas

O presente estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos da Universidade de Pernambuco através do parecer 1.879.573 (ANEXO A). Após aceitação para participação da pesquisa, os responsáveis assinaram o TCLE (APÊNDICE A), que informa os objetivos da pesquisa, assim como seus riscos, deixando claro que a referida pesquisa é voluntária.

O TCLE também estabelece o compromisso com a privacidade dos dados de cada participante e utilização confidencial e sigilosa dos dados coletados na pesquisa, obedecendo os princípios éticos que regem a pesquisa em seres humanos, a Resolução 466/2012 da Comissão Nacional de Ética em Pesquisa.

4.8 Processamento e análise dos dados

A análise estatística descritiva foi realizada para caracterizar a amostra. Para variáveis categóricas, os resultados da análise estatística foram expressos como frequências absolutas e porcentagens. Para variáveis numéricas, como o número de dentes presentes em cada intervalo de acompanhamento, foram expressas em médias, desvios padrão e medianas.

Diferenças significativas entre o número de dentes presentes no boca das crianças

deste estudo em comparação com a tabela de Logan e Kronfeld em cada intervalo de avaliação foram verificados pelo teste t de Student ou o Teste de Wilcoxon. O teste de Friedman com múltiplas comparações de Bonferroni foi usado para comparar todos os intervalos de acompanhamento da amostra. A fim de comparar as variáveis independentes como sexo, cisto de erupção, perímetro cefálico, desenvolvimento de esmalte defeito mental, uso de botões gástricos e peso ao nascer com o número de dentes presentes na boca, foi utilizado o teste de Mann-Whitney. O teste de Shapiro-Wilk verificou a normalidade. O erro estimado foi de 5%.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Artigo: Desenvolvimento dentário em crianças nascidas de mães infectadas por Zika Vírus: estudo baseado em casos*

Archives of Oral Biology - Fator de impacto 1,931. Qualis A1

Mabel Cristina Paiva Machado da Silva¹

Manuela de Andrade Arnaud¹

Maria Carlla Aroucha Lyra¹

Arnoldo Vasconcelos de Alencar Filho¹

Maria Ângela Wanderley Rocha²

Regina Coeli Ferreira Ramos²

Vanessa Van Der Linden³

Arnaldo de França Calda Júnior¹

Mônica Vilela Heimer¹

Aronita Rosenblatt¹

¹University of Pernambuco, School of Dentistry – Department of Pediatric Dentistry, Camaragibe, Pernambuco, Brazil

²University of Pernambuco, School of Medicine – Department of Infectious Disease, Recife, Pernambuco, Brazil

³AACD – am Brazilian Association for the Welfare of the Handicapped Children, Recife, Pernambuco, Brazil

Endereço: Avenida Vasco Rodrigues, 461, Peixinhos, Olinda-PE

Email: belpaivamachado@gmail.com

Telefone: +55 081 8779-5017

* Artigo publicado na lingua inglesa (ANEXO C)

RESUMO

Contexto: No Brasil, em outubro de 2015, um surto de infecção pelo vírus Zika (ZIKV) e um aumento incomum de recém-nascidos com microcefalia sugeriu uma relação causal entre infecção materna e microcefalia em crianças. Objetivo: Primeiramente, avaliar a presença de germes dentários em 13 bebês com diagnóstico confirmado de Síndrome Congênita do Zika Vírus, nascidos de mães infectadas com o vírus durante a gravidez; e segundo, avaliar o desenvolvimento dentário dessas crianças em um acompanhamento de 36 meses. Desenho: Estudo longitudinal baseado em casos. Resultados: Os exames radiográficos do primeiro semestre mostraram que todas as crianças apresentavam germes dentais. Ao longo do estudo os indivíduos apresentaram vários distúrbios dentários. No final do período de avaliação, algumas crianças ainda tinham dentição decídua incompleta. Conclusão: A cronologia anormal de erupção dentária e distúrbios do desenvolvimento dentário em crianças com microcefalia nascidas de mães infectadas pelo ZIKV indicam um possível papel do vírus na odontogênese.

Keywords: Zika virus; Child; Dental defect; Microcephaly; Diagnostic

1. Introdução

Em outubro de 2015, a região Nordeste do Brasil teve um aumento significativo no número de crianças nascidas com microcefalia, indicando possível relação com mães infectadas pelo vírus Zika (ZIKV) durante a gravidez (Mlakar et al., 2016). Uma busca ativa conduzida pela Secretaria de Saúde do Estado de Pernambuco (SES-PE), em maternidades para gestações de alto risco, encontrou 29 casos de bebês com microcefalia internados nessas unidades (Brito, 2016; Cordeiro, Pena, Brito, Gil, & Marques, 2016; Nelvo, 2016) relatando incidência incomum ao Ministério da Saúde do Brasil (Albuquerque et al., 2018). A relação causal entre a infecção pré-natal pelo ZIKV e microcefalia, ou síndrome congênita do zika vírus (SCZV) foi confirmada no mês de maio de 2016 (Rasmussen, Jamieson, Honien, & Petersen, 2016).

ZIKV difere de dengue e chikungunya; recém-nascidos infectados com esta arbovirose podem apresentar pontos de calcificação cerebral, diminuição do volume de tecido cerebral e exibir dilatação do sistema ventricular (Ribeiro, Muniz, Gasparetto, Ventura, & Marchiori, 2017). Os exames sorológicos desses pacientes podem detectar imunoglobulina M (IgM), que

pode ser um padrão agudo da infecção e a presença de imunoglobulina G (IgG), evidência de infecção viral prévia. Nas mães infectadas são realizados exames do tipo RT-PCR (Polimerase Chain Reaction) e nas crianças os testes sorológicos são realizados através de amostras do líquido cefalorraquidiano, coletadas imediatamente após o parto (Cordeiro et al., 2016; De Araújo et al., 2016).

O ZIKV parece ser neurotrópico (Moore et al., 2017) e afetar o desenvolvimento do cérebro e da face em vários níveis (Marcucio, Hallgrimsson, & Young, 2015). Na maioria dos casos, os pacientes apresentam anormalidades craniofaciais (Aragão et al., 2016) associadas a embriopatologias, (Le Douarin, Brito, & Creuzet, 2007) comprometendo ossos, cartilagens, músculo liso e sistemas vasculares da cabeça e da face, bem como outros tecidos derivados das células da crista neural craniana (CCNs) (Le Douarin et al., 2007). Conforme sugerido por Albuquerque et al. (2018), a nova síndrome congênita do zika merece inclusão no grupo das TORCH (toxoplasmose, sífilis, varicela-zóster, parvovírus B19, rubéola, citomegalovírus e infecções por herpes), algumas das infecções mais comuns transmitidas durante a gravidez e que apresentam anomalias congênitas, incluindo distúrbios dentais.

Por volta da quarta semana de desenvolvimento, a boca rudimentar é formada; os primeiros arcos faríngeos e cinco estruturas irão formar a face, incluindo as estruturas mandibular e maxilar, onde os dentes são armazenados até o momento da erupção (Magreni & May, 2015). Este é o início do processo, que não se completa antes do atrito com o dente antagonista para fins mastigatórios (Massignan et al., 2016).

Crianças com paralisia cerebral e deficiência mental ou física costumam apresentar hipoplasia de esmalte nos dentes decíduos, sugerindo que os distúrbios sistêmicos que afetam o sistema neurológico também podem interferir no desenvolvimento dentário (Bhat & Nelson, 1989).

O desenvolvimento dos dentes envolve a formação de células específicas, os ameloblastos, que sintetizam o esmalte da coroa do dente, a parte mais dura do corpo humano (Hu, Parker, & Wright, 2015). Uma vez danificado, o esmalte não regenera. Os sinais de insulto ao esmalte dentário podem ser marcadores biológicos do tempo e da natureza do dano que podem afetar potencialmente outras estruturas derivadas do tecido ectodérmico, incluindo o desenvolvimento do cérebro (Bhat & Nelson, 1989). Os defeitos de desenvolvimento do esmalte (DDE) podem ser o resultado de fatores locais, sistêmicos, genéticos ou ambientais, mas são frequentemente o resultado de causas multifatoriais (Slayton, Warren, Kanellis, Levy, & Islam, 2001). Os DDE podem ocorrer durante a formação, maturação ou calcificação da

matriz do esmalte.

Portanto, este estudo teve como objetivo inicial verificar se crianças com microcefalia e diagnóstico confirmado de ZIKV nascidas de mães infectadas com o vírus durante a gravidez tinham botões dentais. Em segundo lugar, o objetivo foi registrar anormalidades dentárias presentes nos primeiros 36 meses de vida dessas crianças.

2. Materiais e métodos

2.1. Características da amostra e desenho do estudo

O presente estudo é um estudo longitudinal baseado em casos de 13 crianças. A amostra foi selecionada a partir dos 29 primeiros casos de microcefalia relatados em Pernambuco e internados nas unidades de cuidados especiais materno-infantis do estado, a Unidade de Infectologia Pediátrica do Hospital Universitário Oswaldo Cruz e o Instituto Professor Fernando Figueira de Medicina Integral (IMIP), entre julho e outubro de 2015. Dos 29 casos, três morreram e treze viviam em outros municípios (Fig. 1).

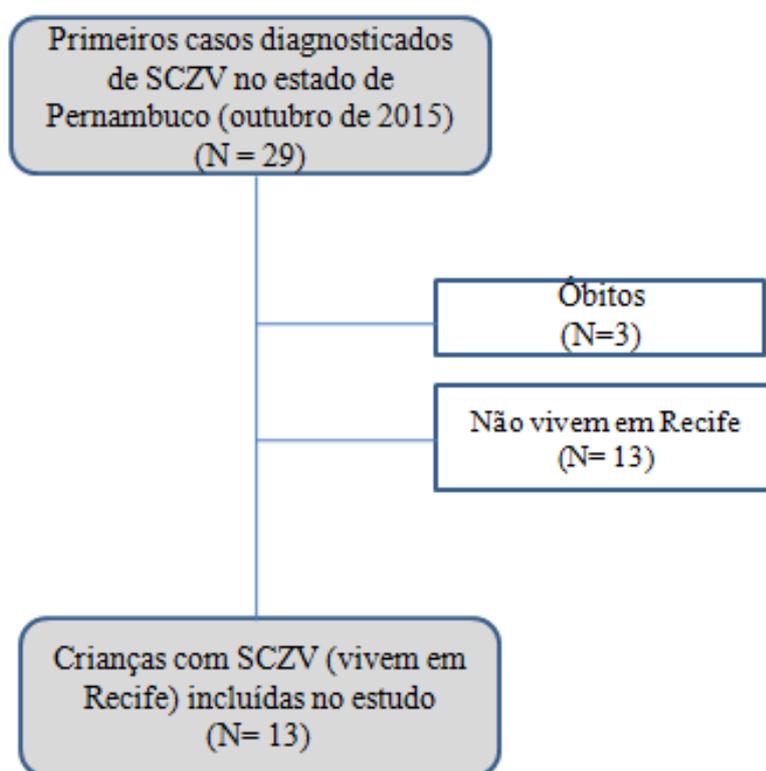


Figura. 1. Fluxograma da amostra.

Os critérios de inclusão para a amostra foram os seguintes:

2.1.1. Residência

As 13 crianças incluídas na amostra residiam na Região Metropolitana de Pernambuco, Recife, o que possibilitou o acompanhamento. A Fig. 1 mostra o fluxograma da amostra.

2.1.2. Prontuário médico materno

Os dados dos prontuários médicos das mães incluíam relatos sobre os sinais e sintomas de infecção pelo ZIKV durante a gravidez. Os dados registraram sexo, idade gestacional, peso da criança ao nascer, perímetro cefálico, e anormalidades neurológicas, bem como a idade da mãe no momento do parto, escolaridade, renda familiar e presença de erupção cutânea materna durante a gravidez.

2.1.3. Características físicas

Nas unidades de saúde, os especialistas examinaram todos os bebês com microcefalia, definida como perímetro cefálico inferior a dois desvios-padrão abaixo da média para sexo e idade gestacional de acordo com o gráfico de crescimento de Fenton (Fenton & Kim, 2013).

2.1.4. Tomografia computadorizada do cérebro da criança sem contraste

Todas as crianças fizeram tomografias para avaliação cerebral.

2.1.5. Exames sorológicos

As amostras de soro do líquido cefalorraquidiano foram testadas para presença de imunoglobulina específica do zika vírus (IgM) e por PCR em tempo real quantitativo. A infecção por zika vírus confirmada em laboratório foi definida como a detecção de IgM específica para o zika vírus, assim como um resultado de RT-PCR positivo em neonatos. Amostras de soro materno foram testadas pelo ensaio de neutralização por redução de placas para vírus zika e vírus da dengue, conforme relatado por De Araújo et al. (2016).

Critério de exclusão

Foram excluídas crianças apresentando microcefalia atribuída a um vírus diferente do ZIKV e aquelas cujas mães relataram exposição a drogas ilícitas, substâncias tóxicas e radiação ionizante durante a gravidez.

2.2. Exame oral e radiografias

Devido à falta de informações sobre a síndrome, aos seis meses de idade as crianças foram submetidas a radiografias dentárias com filme periapical de tamanho adulto para verificar se os indivíduos tinham geremes dentais.

Ao realizar os RXs, dois assistentes seguraram a cabeça do bebê na posição oclusal cêntrica e seguiram o princípio de proteção radiológica As Low As Reasonably Achievable (ALARA) (FDA Administration, 2012; Cohen & Diver, 1970). A exposição à radiação para radiografias dentárias é inferior a 0,005mSv, que é 400 vezes menor do que a tomografia computadorizada. As imagens objetivaram verificar anomalias congênitas, principalmente a ausência de dentes. Os exames dentários foram realizados em uma clínica odontológica por um odontopediatra treinado (MCPMS), e a mãe segurou a cabeça da criança durante o exame.

2.3. Coleta de dados

Os exames odontológicos foram realizados ao longo de 36 meses, em um total de seis visitas durante o período do estudo, com os pacientes com idades de seis, 12, 18, 24, 30 e 36 meses. Os dados médicos maternos e infantis foram anotados em formulários médicos e odontológicos, que incluíam informações sobre os exames de pré-natal, parto e puerpério.

Os registros dentários incluíram avaliações muito específicas de anomalias dentárias de acordo com Neville, Damm, Allen e Chi (2016), incluindo cronologia anormal de erupção dentária; anormalidades de forma; fusão; geminação; cúspides acessórias e invaginação; sequência anormal e tempo de erupção, anodontia, hipodontia, oligodontia e dentes supranumerários; e defeitos estruturais, como opacidades e hipoplasia (Neville et al., 2016).

Os defeitos do esmalte foram classificados de acordo com o DDE Index, levando em consideração defeitos qualitativos, opacidades e reduções quantitativas na espessura do esmalte (A review of the developmental defects of enamel index (DDE index), 1992). A cronologia da erupção e o atraso na erupção foi estabelecido com base na tabela modificada de Logan e Kronfeld (Lunt & Law, 1974).

2.4. Análise estatística

Foi realizada análise estatística descritiva para caracterização da amostra. Para variáveis categóricas - como sexo, cisto de erupção, perímetro cefálico, defeitos de desenvolvimento dentário e alimentação por sonda gástrica - os resultados da análise estatística foram expressos como frequências absolutas e percentuais, médias e desvios-

padrão e medianas, e nos percentis 25 e 75 para variáveis numéricas, como o número de dentes presentes em cada intervalo de acompanhamento.

Diferenças significativas entre o número de dentes presentes na boca das crianças do estudo, em relação à tabela padrão de Logan e Kronfeld em cada intervalo de avaliação, foram verificadas pelo teste t de Student ou teste de Wilcoxon, conforme descrito na Tabela 1.

O teste de Friedman com múltiplas comparações de Bonferroni foi usado para comparar todos os intervalos de tempo. Para comparar as variáveis independentes sexo, cisto de erupção, perímetro cefálico, defeito de desenvolvimento do esmalte, uso de sonda gástrica e peso ao nascer com o número de dentes presentes na boca, foi utilizado o teste de Mann-Whitney. O teste de Shapiro-Wilk verificou a normalidade. O erro estimado foi de 5%.

Tabela 1

Estatística do número de dentes presentes e valores relatados por Logan e Kronfeld por idade analisada.

Idade	Referência (Tabela de Logan e Kronfeld)	Número de dentes	
		Média ± DP	p valor
		Média de crianças com SCZV (P25; P75)	
6 meses	4 ⁽³⁾	0,00 ± 0,00 0,00 (0,00; 0,00)	p ⁽¹⁾ < 0,001*
12 meses	10	2,31 ± 2,39 2,00 (0,50; 3,50)	p ⁽¹⁾ < 0,001*
18 meses	14	7,62 ± 4,48 7,00 (6,00; 8,50)	p ⁽²⁾ < 0,001*
24 meses	18	12,92 ± 4,99 13,00 (11,00; 16,00)	p ⁽²⁾ = 0,003*
30 meses	20	16,38 ± 4,35 17,00 (15,00; 20,00)	p ⁽¹⁾ = 0,011*
36 meses	20	18,46 ± 3,64 20,00 (18,50; 20,00)	p ⁽¹⁾ = 0,154

* Diferença significativa ao nível de 5,0%.

¹ Teste de Wilcoxon para uma amostra.

² Teste t de Student para uma amostra.

³ O valor representa o ponto médio do intervalo de número de dentes referidos na tabela de

Logan and Kronfeld.

2.5. Aprovação ética

O protocolo do estudo foi aprovado pelo Conselho de Revisão Interna da Universidade de Pernambuco sob o número 52675616.0.0000.1526, e o consentimento informado por escrito foi obtido dos participantes seguindo a resolução nº 466/2012 e operacional norma CNS / MS no 001 / 201.3. Os pais assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido.

3. Resultados

A Tabela 2 mostra a distribuição da amostra segundo sexo, peso ao nascer e idade gestacional, sinais de infecção clínica materna antes do nascimento da criança e perímetro cefálico ao nascer.

A maioria dos indivíduos era do sexo masculino (53,84%). Todas as crianças foram avaliadas na mesma idade e nos mesmos intervalos de tempo. O menor perímetro cefálico entre os pacientes foi de 26 cm e o maior de 33 cm. Das crianças, 69,2% apresentaram peso ao nascer dentro dos parâmetros preconizados pelo Ministério da Saúde (Previtalii & Santos, 2009).

Tabela 2

Crianças nascidas com Síndrome Congênita do Zika Virus.

Casos	Sexo	Idade Gestacional (semanas)	Peso ao nascer (gr)	Classificação de peso ao nascer*	Perímetro cefálico ao nascer (cm)	Aleitamento exclusivo	Idade materna (anos)	Rash materno
1	M	39	3.665	Peso Normal	29.5	Sim	25	Presente
2	F	38	2.446	Baixo peso	29	Não	28	Presente
3	M	38	2.895	Baixo peso	28.5	Não	39	Presente
4	M	37,1	1.950	Baixo peso	27	Não	41	Presente
5	M	38	2.895	Baixo peso	29	Não	34	Presente
6	M	38	2.745	Baixo peso	31	Não	35	Presente
7	F	39	1.980	Baixo peso	26	Não	29	Presente
8	M	38,1	3.315	Peso Normal	31	Não	32	Presente
9	F	36	2.350	Baixo peso	27	Sim	24	Presente
10	F	39	2.685	Baixo peso	28,5	Não	42	Presente
11	M	39	3.130	Peso Normal	31	Não	31	Presente
12	F	38	3.250	Peso Normal	30	Sim	32	Presente
13	M	39	2.960	Baixo peso	33	Não	29	Presente

* Classificação do peso ao nascer segundo Mariotoni e Filho (2000).

* Dados extraídos dos prontuários médicos do Hospital Universitário Oswaldo Cruz (HUOC) da Universidade de Pernambuco. Brasil.

Durante o estudo, a maioria das crianças desenvolveu dificuldades para sugar e engolir, além de risco aumentado de broncoaspiração.

Aos seis meses de idade, as radiografias dentárias revelaram que todas as crianças apresentavam germes dentais dos dentes decíduos e algumas coroas dos molares permanentes. As radiografias mostraram que duas crianças tinham dentes supranumerários em ambas as arcadas, uma tinha um dente em formato de sino, outra tinha uma formação incompleta do incisivo central superior, e três crianças tinham ausências dentárias (casos 2, 7 e 10). Nenhuma criança tinha dentes erupcionados.

Aos 12 meses, apenas três crianças não tinham dentes erupcionados. Duas crianças apresentaram cistos de erupção na região anterior da arcada superior e quatro crianças apresentaram hipoplasia dentária e opacidades difusas do esmalte.

Aos 18 e 24 meses, apenas uma criança não apresentou dentes erupcionados e cinco haviam sido internados por broncoaspiração e pneumonia. Nestes casos, os exames odontológicos ocorreram à beira do leito. Atualmente, quatro dessas crianças são alimentadas por sonda gástrica. Foram observados três novos casos de cistos de erupção, totalizando cinco casos em todo o grupo.

Aos 30 meses, apenas quatro crianças haviam completado a erupção da dentadura decídua, e a sequência da erupção foi alterada na maioria da população, como nos casos 1, 4 e 7.

Aos 36 meses, todas as crianças tinham dentes erupcionados; entretanto, uma criança tinha apenas sete dentes (Tabela 3). Ocorreram dois novos casos de cistos de erupção, totalizando sete casos no grupo de estudo. Os dentes ausentes diagnosticados por radiografia dentária no primeiro semestre foram visíveis no seguimento de 36 meses; uma criança tinha ausência de dois incisivos laterais superiores (caso 2), uma tinha um incisivo central faltante (caso 7), e outra a ausência de um canino inferior (caso 12). Nessa idade, quatro crianças apresentavam defeitos de esmalte e erupção dentária tardia dos dentes decíduos.

Durante o tempo de erupção, mais defeitos de desenvolvimento foram observados em diferentes locais dos dentes erupcionados. A mais prevalente, a opacidade dentária, esteve

presente em nove dentes de três crianças e foi mais prevalente nas faces vestibulares dos incisivos e caninos superiores e nas superfícies vestibulares dos incisivos centrais e superfícies oclusais dos molares inferiores. Uma criança apresentou hipoplasia de esmalte em quatro dentes, nos incisivos superiores e molares inferiores (Tabela 3).

Tabela 3

Distúrbios dentários em crianças com SCZV aos 36 meses.

Casos	Anomalias dentárias vistas no Rx	Rota alimentar	Alterações nas estruturas dentárias	Tipo de defeito nas estruturas dentárias	Cistos de erupção	Número de dentes erupcionados até 36 meses	Cáries
Caso 1	-	Botão gástrico	Não	-	Presente	20	Não
Caso 2	-	Oral	Não	-	Presente	18	Não
Caso 3	-	Oral	Não	-	Presente	20	Não
Caso 4	-	Oral	Não	-	-	20	Não
Caso 5	-	Oral	Não	-	Presente	20	Não
Caso 6	Dentes supranumerários	Botão gástrico	Sim	Opacidade	-	20	Não
Caso 7	Alteração de forma	Oral	Não	-	Presente	16	Não
Caso 8	-	Oral	Sim	Opacidade	-	20	Não
Caso 9	-	Oral	Não	-	Presente	20	Não
Caso 10	-	Botão gástrico	Não	-	-	7	Não
Caso 11	Dentes supranumerários	Oral	Não	-	-	20	Não
Caso 12	Alteração de forma	Oral	Sim	Opacidade	Presente	19	Não
Caso 13	-	Oral	Sim	Hipoplasia	-	20	Não

O gráfico 1 mostra os resultados do retardo da erupção dentária quando comparados à tabela modificada de Logan e Kronfeld.

A Tabela 4 mostra que ao longo do estudo não houve associação estatisticamente significativa entre o número de dentes erupcionados e o perímetro cefálico.

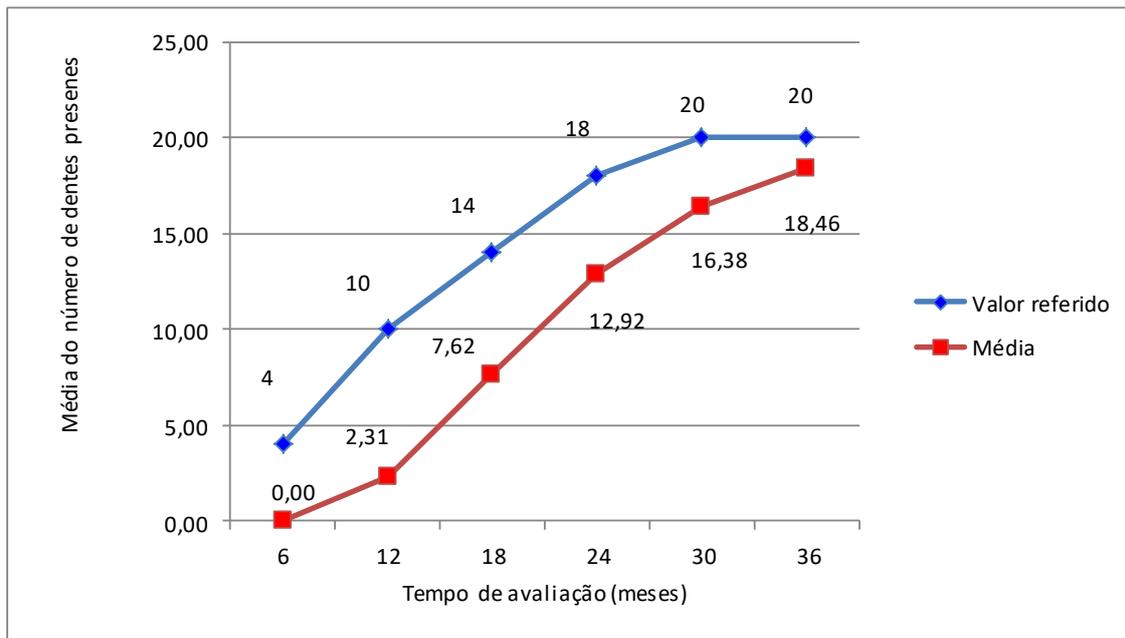


Gráfico 1 -- Número médio de dentes presentes em crianças com SCZV e valores de referência da tabela de Logan e Kronfeld por idade analisada.

Tabela 4

Número de dentes e diferença de idade de acordo com o perímetro cefálico.

Variável	Idade	Perímetro Cefálico		P
		< 30 cm(n = 8) Média ± DP Mediana (P25; P75)	≥ 30 cm(n = 5) Média ± SD Mediana (P25; P75)	
Número de dentes	6 meses	0,00 ± 0,00 0,00 (0,00; 0,00)	0,00 ± 0,00 0,00 (0,00; 0,00)	p ⁽¹⁾ = 1,000
	12 meses	1,00 ± 0,93 1,00 (0,00; 2,00)	4,40 ± 2,61 4,00 (2,00; 7,00)	p ⁽¹⁾ = 0,017*
	18 meses	5,50 ± 2,93 6,50 (3,00; 7,75)	11,00 ± 4,69 9,00 (7,00; 16,00)	p ⁽¹⁾ = 0,038*
	24 meses	10,75 ± 4,86 12,00 (9,25; 13,75)	16,40 ± 2,97 16,00 (14,00; 19,00)	p ⁽¹⁾ = 0,026*
	30 meses	15,25 ± 5,12 16,50 (13,50; 19,25)	18,20 ± 2,05 18,00 (16,50; 20,00)	p ⁽¹⁾ = 0,205
	36 meses	17,63 ± 4,53 20,00 (16,50; 20,00)	19,80 ± 0,45 20,00 (19,50; 20,00)	p ⁽¹⁾ = 0,371

* Diferença significativa ao nível de 5,0%.

¹Teste de Mann-Whitn

4. Discussão

O presente estudo levantou a hipótese de que bebês com microcefalia e diagnóstico confirmado de Síndrome Congênita do Zika Vírus (SCZV), nascidos de mães infectadas com ZIKV durante a gravidez, tinham uma alta incidência de distúrbios de desenvolvimento dentário, indicando que o ZIKV pode ser uma das infecções virais que afetam potencialmente o sistema nervoso central e perturba a odontogênese.

Os primeiros estudos experimentais em animais feitos por Dick (1952) e Bell, Field e Narang (1971) relataram o potencial neurotrópico do ZIKV e a relação causal potencial entre o vírus e a microcefalia. No entanto, após a epidemia, um estudo experimental em animais com foco no mecanismo de infecção, visando os tecidos neurológicos e a extensão do dano aos neurônios é necessário (Garcez et al., 2016).

Atualmente, não há trabalhos publicados com o objetivo de verificar a relação da infecção pelo ZIKV com o distúrbio no desenvolvimento dentário; no entanto, merece consideração que, conforme relatado por Scarpim et al. (2006), a infecção durante a gravidez é um fator de risco para lesões as estruturas dentárias.

De acordo com a literatura, outras infecções, como rubéola congênita e citomegalovírus (CMV), podem causar a ausência total dos elementos dentários (Jaskoll et al., 2010; Kraus, Ames, & Clark, 1969); portanto, as radiografias dentárias realizadas nos bebês no primeiro trimestre de vida objetivaram verificar a extensão da infecção pelo ZIKV e seu impacto no desenvolvimento dos germes dentários. Essas descobertas revelaram que as crianças nascidas com SCZV tinham germes dentários, um achado nunca relatado antes por falta de informações sobre a infecção.

As radiografias dentárias revelaram alguma radioluscência nos elementos dentários durante o período pré-eruptivo, que pôde ser verificada no mesmo local durante o período pós-eruptivo. Essa observação confirma que o tecido dentário sofreu distúrbio de calcificação devido à formação defeituosa do esmalte, conforme sugerido por Bhat e Nelson (1989).

Pedreira, Magalhães, Cardoso, Taveira e de Freitas (2007), observando um conjunto de radiografias panorâmicas, relataram que as anomalias do desenvolvimento dentário, tanto qualitativas quanto quantitativas, são mais prevalentes em crianças com distúrbios neurológicos. Neste grupo de estudo, algumas anomalias do desenvolvimento dentário - como ausência de dentes, dentes supranumerários, alterações de forma e formação incompleta dos dentes - ocorreram na mesma faixa descrita por Carvalho et al. (2019), que analisou 30 radiografias dentárias em um estudo transversal. As anomalias dentárias estruturais

apresentadas pelos indivíduos nesta amostra podem fornecer informações adicionais sobre o momento e a natureza dos insultos que afetam outras estruturas derivadas do ectodérmico, como o cérebro, como sugerido por Bhat e Nelson (1989).

A formação dos tecidos dentais, esmalte e dentina dependem de interações celulares coordenadas entre o epitélio oral e o ectomesênquima derivado da crista neural (Thesleff & Tummers, 2009). A perturbação deste processo secretor por infecções congênitas - como citomegalovírus (CMV), rubéola ou sífilis - pode resultar em distúrbios dentais, como agenesia, hipoplasia e alterações na forma do dente (Hillson, Grigson, & Bond, 1988; Ioannou, Henneberg, & Henneberg, 2018). A agenesia de dentes decíduos é incomum quando comparada à dentição permanente, variando de 0,1% a 0,9%, na população mundial (Kolenc-Fusé, 2004). Três crianças desta amostra apresentaram agenesia de alguns dentes. Um estudo de Scarpim et al. (2006) indicou que uma infecção durante o desenvolvimento dentário pode causar agenesia dos dentes em ambas as dentições. A infecção pelo ZIKV pode ter causado a ausência dos dentes descritos no presente estudo.

De acordo com Jaskoll et al. (2010), as infecções congênitas por Citomegalovírus (CMV) tendem a causar distúrbios no desenvolvimento dentário, como agenesia dentária e hipoplasia do esmalte, e os danos à estrutura dentária podem estar associados ao período e à duração da lesão. Como no CMV, as quatro crianças neste estudo que apresentaram defeitos de desenvolvimento dentário podem ter sido infectadas no primeiro trimestre da gravidez.

Neste estudo, quatro crianças apresentaram defeitos de esmalte (30,7%), sendo a opacidade a mais prevalente e encontrada em três crianças e a hipoplasia em apenas uma criança. Na maioria dos dentes afetados por ambos os tipos de defeitos, os sítios mais afetados foram as faces vestibulares dos incisivos e caninos e as superfícies oclusal e vestibular dos molares superiores, o que corrobora os achados de King e Wei (1986). Bhat e Nelson (1989) relataram que as influências sistêmicas na formação dos dentes geralmente ocorrem nos primeiros anos de vida; portanto, os dentes mais comumente afetados são os incisivos, os primeiros a emergir na boca, e os caninos.

Em geral, na população do Nordeste do Brasil, em crianças nascidas prematuramente e com baixo peso, a prevalência de defeitos de esmalte na dentição decídua está na mesma faixa daquela encontrada em crianças nascidas de mães com outras doenças infecciosas, segundo dados de Kraus et al. (1969) e Bhat e Nelson (1989). Jan e Jan (2016) e Cohen e Diver (1970) relataram a incidência de hipoplasia dentária em crianças com paralisia cerebral, com resultados semelhantes aos encontrados nesta amostra: 30% dos lactentes apresentavam

anomalias dentárias, principalmente DDE, incluindo hipoplasia e opacidades.

A complicação mais comum encontrada no desenvolvimento dentário do grupo alvo foram os cistos de erupção, alterações que aparecem antes da erupção dos dentes, fato que nunca havia sido relatado na literatura. Neste estudo, a alta incidência de cistos eruptivos pode estar associada à má nutrição. Alguns indivíduos com essa condição foram alimentados por sondas gástricas; entretanto, essa associação não foi estatisticamente significativa no estudo. Adewumi, Ashoor, Soares, Guelmann e Novak (2010) relataram que os cistos eruptivos são causados por uma pobre nutrição devido à ausência de alguns grupos de alimentos na dieta, o que não foi possível verificar neste estudo.

Outro distúrbio dentário encontrado em crianças afetadas por outras doenças infecciosas que também podem afetar bebês infectados pelo ZIKV é a cronologia de erupção; neste grupo, desviou-se significativamente do estabelecido para alguns intervalos de idade, o que pode concordar com o relato de Peedikayil (2011) para diferentes raças, etnias e sexos.

Considerando que a erupção é um processo fisiológico que influencia fortemente o crescimento craniofacial (Peedikayil, 2011), neste estudo não foi demonstrada diferença entre o perímetro cefálico e o número de dentes erupcionados; isso pode ser devido à microcefalia presente em todas as crianças da amostra.

Um estudo de Papa e Curzon (1991) descreveu atraso na erupção dos dentes permanentes e decíduos em comparação com um grupo de controle, indicando um distúrbio no padrão de erupção causado por infecção (Suri, Gagari, & Vastardis, 2004). Houve atraso na erupção em oito das 13 crianças nesta amostra, sendo a mais grave o caso 10, sem dentes até os dois anos de idade. Cavalcanti (2017) e Siqueira, Santos e Cabral (2018) sugeriram que crianças com SCZV podem apresentar atrasos e alterações na sequência de erupção dos dentes decíduos e hipoplasia de esmalte, o que foi demonstrado neste estudo longitudinal.

O gráfico 1 mostra que as crianças com SCZV tiveram erupção tardia dos dentes decíduos em comparação com os dados da tabela modificada de Logan e Kronfeld (Lunt & Law, 1974). O presente estudo acompanhou as crianças por 36 meses, seis meses a mais do que o estudo que resultou na tabela modificada de Logan e Kronfeld.

Aos 30 meses, apenas quatro crianças haviam completado a erupção dos dentes decíduos, e a sequência da erupção foi alterada na maioria da população, com maior gravidade nos casos 1, 4 e 7. No caso 1, os caninos superiores irromperam antes dos primeiros molares; no caso 4, o primeiro molar superior irrompeu antes dos incisivos; e no caso 7, os primeiros molares irromperam antes dos incisivos centrais, o que difere dos padrões de

erupção apresentados pela tabela de Logan e Kronfeld (Lunt & Law, 1974).

A Tabela 1 mostra que aos seis e 18 meses, o número de dentes na boca das crianças com SCZV foi muito menor do que o apresentado por Logan e Kronfeld ($P < 0,001$), o que indica um grande atraso na erupção dentro do grupo sindrômico.

Alguns estudos (Dourado, Andrade, Ramos-Jorge, Moreira, & Oliveira-Ferreira, 2013; Santos, Guare, Celiberti, & Siqueira, 2009) indicam que quanto mais grave o dano neurológico, maior o risco de cárie dentária. Surpreendentemente, as crianças desta amostra não apresentaram cárie dentária, comum em indivíduos que se alimentam por sonda gástrica conforme relatado por Previtalli e Santos (2009). No entanto, mais da metade da amostra era alimentada por via oral, o que deveria ter diminuído o risco para cáries. Outra explicação para o baixo risco de cárie dentária poderia ser o retardo na erupção dentária, o que pode postergar o desenvolvimento da cárie dentária, conforme sugerido por Alvarez e Navia (1989).

Testes genéticos não estavam disponíveis no local do estudo; portanto, não foram incluídos no protocolo de diagnóstico, o que pode ser uma limitação deste relato. Além disso, o pequeno número de casos no estudo pode ser outra limitação deste trabalho. No entanto, de acordo com Albuquerque et al. (2018), Pernambuco registrou um total de 399 casos confirmados da síndrome ao final da epidemia. No início deste estudo, havia apenas 29 recém-nascidos com teste positivo para a detecção do genoma do ZIKV por RT-PCR e detecção de IgM pelo método ELISA através de amostra do líquido cefalorraquidiano (LCR) ao nascimento, o que poderia justificar o pequeno tamanho desta amostra.

Os resultados deste estudo indicam que os distúrbios do desenvolvimento dentário encontrados em crianças com SCZV podem ser decorrentes da infecção das células progenitoras do sistema nervoso pelo vírus, causando microcefalia e distúrbios na estrutura dos dentes decíduos e na fisiologia da erupção dentária (Carvalho et al., 2019; Cobourne & Mitsiadis, 2006; Cobourne & Sharpe, 2003).

5. Conclusão

Em contraste com algumas outras doenças infecciosas, o ZIKV não causa anodontia completa no feto; no entanto, uma cronologia anormal de erupção dentária e distúrbios de desenvolvimento dentário estavam presentes em crianças com microcefalia infectadas com ZIKV e nascidas de mães infectadas, indicando um possível papel do vírus na odontogênese.

References

A review of the developmental defects of enamel index (DDE index) (1992). Commission on oral health research and epidemiology. Report of on FDI working group. *International Dental Journal*, 42, 411–426.

Adewumi, A. O., Ashoor, I. F., Soares, F. M., Guelmann, M., & Novak, D. A. (2010). Eruption hematoma as a possible oral sign of infantile scurvy. *Pediatric Dentistry*, 32(2), 151–155.

Albuquerque, M. F. P. M., Souza, W. V., Araújo, T. V. B., Braga, M. C., Miranda Filho, D. B., ... Ximenes, R. A. A. (2018). The microcephaly epidemic and Zika virus: Building knowledge in epidemiology. *Cadernos de Saúde Pública*, 34(10), e00069018.

Alvarez, J. O., & Navia, J. M. (1989). Nutritional status, tooth eruption, and dental caries: A review. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 49(3), 417–426.

Aragão, M. F. V., Van der Linden, V., Brainer-Lima, A. M., Coeli, R. R., Rocha, M. A., & Valenca, M. M. (2016). Clinical features and neuroimaging (CT and MRI) findings in presumed Zika virus related congenital infection and microcephaly: Retrospective case series study. *British Medical Association*, 353, i1901.

Bell, T. M., Field, E. J., & Narang, H. K. (1971). Zika virus infection of the central nervous system of mice. *Archiv für die gesamte Virusforschung*, 35, 183–193.

Bhat, M., & Nelson, K. B. (1989). Developmental enamel defects in primary teeth in children with cerebral palsy, mental retardation, or hearing defects: A review. *International Association for Dental Research*, 3(2), 132–142.

Brito, C. (2016). Zika virus: A new chapter in the history of medicine. *Acta Medica Portuguesa*, 28, 679–680.

Carvalho, I. F., Alencar, P. N. B., Andrade, M. D. C., Silva, P. G. B., Carvalho, E. D.

F.,Araújo, L. S., ... Sousa, F. B. (2019). Clinical and x-ray oral evaluation in patients with congenital Zika Virus. *Journal of Applied Oral Science*, 27, e20180276. <https://doi.org/10.1590/1678-7757-2018-0276> Epub May 20, 2019.

Cavalcanti, A. L. (2017). Challenges of dental care for children with microcephaly carrying ZIKV congenital syndrome. *Contemporary Clinical Dentistry*, 8, 345–346.

Cobourne, M. T., & Mitsiadis, T. (2006). Neural crest cells and patterning of the mammalian dentition. *The Journal of Experimental Zoology*, 306(3), 251–260.

Cobourne, M. T., & Sharpe, P. T. (2003). Tooth and jaw: Molecular mechanisms of patterning in the first branchial arch. *Archives of Oral Biology*, 48(1), 1–14.

Cohen, H. J., & Diver, H. (1970). The significance of developmental dental enamel defects in neurological diagnosis. *Pediatrics*, 46, 737–747.

Cordeiro, M. T., Pena, L. J., Brito, C. A., Gil, L. H., & Marques, E. T. (2016). Positive IgM for Zika virus in the cerebrospinal fluid of 30 neonates with microcephaly in Brazil. *Lancet*, 387, 1811–1812.

De Araújo, T. V. B., Rodrigues, L. C., De Alencar, R. A. X., De Barros Miranda-Filho, D., Montarroyos, U. R., & De Melo, A. P. L. (2016). Association between Zika virus infection and microcephaly in Brazil, January to May, 2016: Preliminary report of a case-control study. *The Lancet Infectious Diseases*, 16(12), 1356–1363.

Dick, G. W. (1952). Zika virus (II). (1952). Pathogenicity and physical properties. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 46, 521–534.

Dourado, M. R., Andrade, P. M., Ramos-Jorge, M. L., Moreira, R. N., & Oliveira-Ferreira, F. (2013). Association between executive/attentional functions and caries in children with cerebral palsy. *Research in Developmental Disabilities*, 34, 2493–2499.

FDA Administration (2012). Dental radiographic examinations: Recommendations for patient selection and limiting radiation exposure. [accessed 2016 Feb 26]. Available in: American Dental Association <http://www.fda.gov/downloads/RadiationEmittingProducts/RadiationEmittingProductsandProcedures/MedicalImaging/MedicalXRays/UCM329746.pdf>.

Fenton, T. R., & Kim, J. H. (2013). A systematic review and meta-analysis to revise the Fenton growth chart for preterm infants. *BMC Pediatrics*, 13, 59.

Garcez, P. P., Loiola, E. C., Costa, R. M., Higa, L. M., Trindade, P., Delvecchio, R., et al. (2016). Zika virus impairs growth in human neurospheres and brain organoids. *Science*, 352, 816–818. <https://doi.org/10.1126/science.aaf6116>.

Hillson, S., Grigson, C., & Bond, S. (1988). Dental defects of congenital syphilis. *American Journal of Physical Anthropology*, 107(1), 25–40.

Hu, S., Parker, J., & Wright, J. T. (2015). Towards unraveling the human tooth transcriptome: The dentome. *PloS One*, 10(4), e0124801.

Ioannou, S., Henneberg, R. J., & Henneberg, M. (2018). Presence of dental signs of congenital syphilis in pre-modern specimens. *Archives of Oral Biology*, 85, 192–200.

Jan, B. M., & Jan, M. M. (2016). Dental health of children with cerebral palsy. *Neurosciences (Riyadh, Saudi Arabia)*, 21(4), 314–318. <https://doi.org/10.17712/nsj.2016.4.20150729>.

Jaskoll, T., Abichaker, G., Htet, K., Bringas, J. P., Morita, S., Sedghizadeh, P. P., ... Melnick, M. (2010). Cytomegalovirus induces stage-dependent enamel defects and misexpression of Amelogenin, Enamelin and dentin sialophosphoprotein in developing mouse molars. *Cells, Tissues, Organs*, 192, 221–239. <https://doi.org/10.1159/000314909>.

King, N. M., & Wei, S. H. (1986). Developmental defects of enamel: A study of 12 year

oldin Hong Kong. *The Journal of the American Dental Association*, 112(6), 835–839.

Kolenc-Fusé, F. (2004). Agenesias dentarias: Em busca de la alteraciones genéticas responsables de La falta de desarrollo. *Medicina Oral, Patología Oral y Cirugía Bucal*, 2(7),385–395.

Kraus, B. S., Ames, M. D., & Clark, G. R. (1969). Effects of maternal rubella on dentalcrown development. *Clinical Pediatrics*, 8(4), 204–215.

Le Douarin, N. M., Brito, J. M., & Creuzet, S. (2007). Role of the neural crest in face andbrain development. *Brain Research Reviews*, 55(2), 237–247.

Lunt, R. C., & Law, D. B. (1974). A review of the chronology of eruption of deciduosteeth. *The Journal of the American Dental Association*, 89, 872–879.

Magreni, A., & May, J. G. (2015). Embryology of the oral structures. *Operative Techniquesin Otolaryngology–head and Neck Surgery*, 26, 110–114.

Marcucio, R., Hallgrimsson, B., & Young, N. M. (2015). Facial morphogenesis: Physicaland molecular interactions between the brain and the face. *Current Topics inDevelopmental Biology*, 115, 299–320.

Massignan, C., Cardoso, M., Porporatti, A. L., Aydinoz, S., Canto, G. D. L., Mezzomo, L. A.,...Bolan, M. (2016). Signs and symptoms of primary tooth eruption: A meta-analysis.*Pediatrics*, 137(3), e20153501.

Mlakar, J., Korva, M., Tul, N., Popović, M., Poljšak-Prijatelj, M., Mraz, J., ...TatjanaAvšičŽupanc, T. A. (2016). Zika virus associated with microcephaly. *The NewEngland Journal of Medicine*, 16(374), 951–958.

Moore, C. A., Staples, J. E., Dobyms, W. B., Pessoa, A., Ventura, C. V., & Fonseca, E. B.(2017). Congenital zika syndrome: Characterizing the pattern of anomalies for pediatric healthcare providers. *JAMA Pediatrics*, 171(3), 288–295.

Nelvo, R. V. (2016). Zika: do sertão nordestino à ameaça global. *Sexualidad, Salud y Sociedad*, 24, 246–254.

Neville, B. W., Damm, D. D., Allen, C. M., & Chi, A. (2016). *Oral and maxillofacial pathology*. Philadelphia, PA: Saunders

Papa, J. E., & Curzon, M. E. (1991). The dental status of cerebral palsied children. *Pediatric Dentistry*, 13(3), 156–162.

Peedikayil, F. C. (2011). Delayed tooth eruption. *Journal of Dentistry*, 1(4), 81–86.

Pedreira, E. N., Magalhães, M. C., Cardoso, C. L., Taveira, L. A., & de Freitas, C. F. (2007). Radiographic study of dental anomalies in Brazilian patients with neuropsychomotor disorders. *Journal of Applied Oral Science*, 15(6), 524–528.

Previtalii, E. F., & Santos, M. T. B. R. (2009). Dental caries and oral hygiene in children with spastic tetraparetic cerebral palsy receiving either oral feeding or nutrition via gastrostomy tube. *Pesquisa Brasileira Em Odontopediatria E Clinica Integrada*, 9(1), 43–47.

Rasmussen, S. A., Jamieson, D. J., Honien, M. A., & Petersen, L. R. (2016). Zika virus and birth defects — Reviewing the evidence for causality. *The New England Journal of Medicine*, 374, 1981–1987.

Ribeiro, B. N. F., Muniz, B. C., Gasparetto, E. L., Ventura, N., & Marchiori, E. (2017). Congenital Zika syndrome and neuroimaging findings: What do we know so far? *Radiologia Brasileira*, 50(5), 314–322. <https://doi.org/10.1590/0100-3984.2017.0098> http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-39842017000500314&lng=en.

Santos, M. T., Guare, R. O., Celiberti, P., & Siqueira, W. L. (2009). Caries experience in individuals with cerebral palsy concerning oral and motor dysfunction and

dietary consistency. *Special Care in Dentistry*, 29, 198–203.

Scarpim, M. F. P. A., Cerci, N. B. B., Azevedo, L. R., Tolazzi, A. L., Grégio, A. M. T., & Ignácio, S. A. (2006). Prevalência De Anomalias dentárias em paciente avaliados paratratamento ortodôntico: Estudo retrospectivo. *Journal of dental clinical research*, 2(3), 203–212.

Siqueira, R. M. P., Santos, M. T. B. R., & Cabral, G. M. P. (2018). Alterations in the primary teeth of children with microcephaly in Northeast Brazil: A comparative study. *International Journal of Paediatric Dentistry*, 65(3), 59–62.

Slayton, R. L., Warren, J. J., Kanellis, M. J., Levy, S. M., & Islam, M. (2001). Prevalence of enamel hypoplasia and isolated opacities in the primary dentition. *Pediatric Dentistry*, 23(1), 32–36.

Suri, L., Gagari, E., & Vastardis, H. (2004). Delayed tooth eruption: Pathogenesis, diagnosis, and treatment. A literature review. (2004). *American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics*, 126(4), 432–445.

Thesleff, I., & Tummers, M. (2009). *Tooth organogenesis and regeneration*. Cambridge (MA): Harvard Stem Cell Institute.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O presente trabalho aponta para as primeiras características e achados dessa síndrome congênita. Os resultados indicaram importantes alterações no desenvolvimento dentário como defeitos de desenvolvimento de esmalte (DDE) e mudanças significativas na fisiologia e cronologia da erupção dentária, que sugerem uma discrepância no desenvolvimento do sistema estomatognático e comprometimento do crescimento facial fisiológico. Tais alterações podem ser decorrentes da infecção das células progenitoras do sistema nervoso pelo ZIKV, indicando possível papel durante a odontogênese. Todos os achados do estudo requerem investigação em longo prazo para avaliar o impacto da infecção sobre as estruturas dentárias decíduas, dado que algumas crianças não apresentaram todos os dentes na última avaliação do estudo. Cabe também a avaliação dos dentes permanentes, já que os mesmos também iniciam sua formação no período embrionário.

REFERÊNCIAS.

- ADA – AMERICAN DENTAL ASSOCIATION. Dental radiographic examinations: Recommendations for patient selection and limiting radiation exposure. Chicago: 2012. Disponível em: <http://www.fda.gov/downloads/RadiationEmittingProducts/RadiationEmittingProductsandProcedures/MedicalImaging/MedicalX-Rays/UCM329746.pdf>.
- ADACHI, K.. et al. Early Clinical Infancy Outcomes for Microcephaly and/or Small for Gestational Age Zika-Exposed Infants. **Clin Infect. Dis**, v. 70, n. 12, p. 2663-2672, Jun 2020.
- AGUIRRE, A. L.; ROSA, J. E. Fatores que interferem na cronologia e sequência da erupção dental decídua. **Ver Catarinense Odontol**, v. 7, p. 13-18; 1980.
- ALBUQUERQUE, M. F. P. M. et al. Epidemia de microcefalia e vírus Zika: a construção do conhecimento em epidemiologia. **Cad. Saúde Pública**, v. 34, n. 10, p. e00069018; Oct 2018.
- ARORA, H. S. A to Z of Zika Virus: A Comprehensive Review for Clinicians. **Glob Pediatr Health**, v. 7, p. 2333794X20919595, May 27, 2020.
- ASSUNÇÃO, P. L. et al. Desafios na definição da idade gestacional em estudos populacionais sobre parto pré-termo: o caso de um estudo em Campina Grande (PB), Brasil. **Rev bras Epidemiol**, v. 14, n. 3, p. 455-66; Set 2011.
- BALM, M. N. et al. A diagnostic polymerase chain reaction assay for Zika virus. **J Med Virol**, v. 84, n. 9, p. 1501-5, Set 2012.
- BAUD, D. et al. An update on Zika virus infection. **Lancet**, v. 390, n. 10107, p. 2099-2109, 2017.
- BHAT, M.; NELSON, K.. B. Developmental enamel defects in primary teeth in children with cerebral palsy, mental retardation, or hearing defects: A review. **Adv Dent Res**, v. 2, n. 2, p. 132-142, Sep 1989.
- BRASIL. **Ministério da Saúde**. Atenção ao pré-natal de baixo / Ministério da Saúde, Secretaria de Atenção à Saúde, Departamento de Atenção Básica. Brasília: Ministério da

Saúde, 2013.

BRASIL. **Ministério da Saúde**. Secretaria de Vigilância em Saúde. Preparação e resposta da vigilância em saúde para a Copa do Mundo da FIFA Brasil 2014™. **Bol Epidemiol**, v. 45, n. 8, p. 1-12, 2014.

BRASIL. **Ministério da Saúde**. Secretaria de Vigilância em Saúde. Febre pelo vírus Zika: uma revisão narrativa sobre a doença. **Bol Epidemiol**, v. 46, n. 26, p. 1-7, 2015a.

BRASIL. **Ministério da Saúde**. Saúde da criança: aleitamento materno e alimentação complementar / Ministério da Saúde, Secretaria de Atenção à Saúde, Departamento de Atenção Básica. Brasília: Ministério da Saúde, 2015b.

BRASIL. **Ministério da Saúde**. Protocolo para Vigilância e Resposta à Ocorrência de Microcefalia e / ou Alterações no Sistema Nervoso Central (SNC). Prevenção e Combate à Dengue, Chikungunya e Zika. – Brasília: Ministério da Saúde, 2016.

BRITT, W. J. Adverse outcomes of pregnancy-associated Zika virus infection. **Semin Perinatol**, v. 42, n. 3, p. 155-167, 2018.

CARVALHO, I. F. et al. Clinical and x-ray oral evaluation in patients with congenital Zika Virus. **J Appl Oral Sci**, v. 27, p. e20180276, May 2019.

CDC- Centers for Disease Control and Prevention. Microcefalia e outros defeitos congênitos. **CDC Health Advisory**. Atlanta, GA: US Department of Health and Human Services, CDC; 2016. Disponível em https://portugues.cdc.gov/zika/healtheffects/birth_defects.htm acessado em 23 de junho de 2020.

CHANG, C. et al. The Zika outbreak of the 21st century. **J Autoimmun**, v. 68, p. 1-13, 2016.

CHAVES, A. M. B.; OLIVEIRA, A. F. B.; ROSENBLATT, A. Enamel defects and its relation to life course events in primary dentition of Brazilian children: a longitudinal study. **Community Dent Health**, v. 24, p. 31-36; 2007.

D'AGOSTINO, E. S. et al. Chronology and sequence of deciduous teeth eruption in children with microcephaly associated to the Zika virus. **Spec Care Dentist**, v.40, n. 1, p. 3-9; Jan 2020.

DAMM, D. D.; NEVILLE, B. W. **Patologia Oral e Maxilofacial**. 3th ed. Elsevier; 2009.

DE OLIVEIRA, A. M. M. et al. Oral and maxillofacial conditions, dietary aspects, and nutritional status of children with congenital Zika syndrome. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol*, v. 130, n. 1, p. 71-77; May 2020.

DUFFY, M. R. et al. Zika virus outbreak on Yap Island, Federated States of Micronesia. *N Engl J Med*, v. 360, n. 24, p. 2536-43, Jun 2009.

ECDC - EUROPEAN CENTRE FOR DISEASE PREVENTION AND CONTROL. Rapid risk assessment: Zika virus infection outbreak, French Polynesia ECDC: Stockholm, 2014. Disponível em <https://www.ecdc.europa.eu/en/publications-data/rapid-risk-assessment-zika-virus-infection-outbreak-french-polynesia>.

EICKMANN, S. H. et al. 2016. Zika virus congenital syndrome. **Cad saude publica**, v. 32, n. 7, Rio de Janeiro, Jul 2016.

FAGBAMI, A. H. Zika virus infections in Nigeria: virological and seroepidemiological investigations in Oyo State. **J Hyg**, v. 83, n. 2, p. 213-9, Out 1979.

FANTINATO, F. F. S. et al. Descrição dos primeiros casos de febre pelo vírus Zika investigados em municípios da região Nordeste do Brasil, 2015. **Epidemiol. Serv Saúde**, vol.25, n.4, p. 683-690, 2016.

FDI – World Dental Federation. A review of the developmental defects of enamel index (DDE index) (1992). Commission on oral health research and epidemiology. Report of on FDI working group. *International Dental Journal*, 42, 411–426.

GUEDES-PINTO, A. C. **Odontopediatria**. São Paulo: Livraria Santos, 2010.

HASAN , S. et al. Zika Virus: A Global Public Health Menace: A Comprehensive Update. **J Int Soc Prev Community Dent**, v.9, n. 4, p. 316-327; Jun 2019.

HAYES, E. B. Zika vírus outside Africa. **Emerg Infect Dis**, v. 15, n. 9, p. 1347-50, 2009.

HIRSCH, A. J. et al. Zika virus infection in pregnant rhesus macaques causes placental dysfunction and immunopathology. **Nat Commun**, v. 9, n. 1, p. 263, Jan 2018.

HOFFMANN, R. H. S.; SOUSA, M. L. R. Cypriano, S. Prevalência de defeitos de esmalte e sua relação com cárie dental nas dentições decídua e permanente, Indaiatuba, São Paulo, Brasil. **Cad Saúde Pública**, v. 23, n. 2, p. 435-444; 2007.

HONG, L. Association between enamel hypoplasia and dental caries in primary second molars: a cohort study. **Caries Res**, v. 43, p. 345-353, 2009.

IOOS, S. et al. Current Zika virus epidemiology and recent epidemics. *Med Mal Infect*, v. 44, n. 7, p. 302-7, Jul 2014.

KATCHBURIAN, E.; ARANA, V. **Histologia e Embriologia Oral Texto - Atlas - Correlações Clínicas**. Nova Guanabara, 2005.

KOPPOLU, V.; SHANTHA RAJU, T. Zika vírus outbreak: a review of neurological complications, diagnosis and treatment options. **J Neurovirol**, v. 24, n. 3, p. 255-272, Jun 2018.

LIMA, G. P. et al. Fatores associados ao desenvolvimento da Síndrome do Zika Congênita: Um caso-controle estudo. **BMC Infect. Dis**, v. 19, p. 277, 2019.

LISSAUER, D. M., SMIT, E., KILBY, M. D. Zika virus and pregnancy. **BJOG**, v. 123, p. 1258–1263, 2016.

LOWE, R. et al. The Zika Virus Epidemic in Brazil: From Discovery to Future Implications. **Int J Environ Res Public Health**, v. 15, n. 1, p. 96, Jan 2018.

LUNARDELLI, S. E.; PERES, M. A. Prevalence and distribution of developmental enamel defects in the primary dentition of pre-school children. **Braz Oral Res**, v. 19, n. 2, p. 144-9, 2005.

MACCHIAVERNI, L. M. L.; BARROS FILHO, A. A. Perímetro cefálico: Por que medir sempre. *Medicina, Ribeirão Preto*, v.31, p. 595-609,; out./dez. 1998.

MARIOTONI, G. G. B.; BARROS FILHO, A. A. Peso ao nascer e mortalidade hospitalar entre nascidos vivos, 1975-1996. *Rev Saúde Publica*, v. 34, n. 1, p. 71-76; Fev 2000.

MASSIGNAN, C. Prevalence of enamel defects and association with dental caries in

preschool children. **Eur Arch Paediatr Dent**, v. 17, n. 6, p. 461-466; Dec.2016.

MASSONI, A. C. L. T. et al. Fatores socioeconômicos relacionados ao risco nutricional e sua associação com a frequência de defeitos de esmalte em crianças da cidade de João Pessoa, Paraíba, Brasil. **Cad. Saúde Pública**, v. 23, n. 12, p. 2928-237; Dez 2007.

MCELRATH, T.F. et al. Factors associated with small head circumference at birth among infants born before the 28th week. **Am J Obstet Gynecol**, v. 203, n.2, p.138.e1-138.e8, 2010.

MLAKAR, J. et al. Zika virus associated with microcephaly. *N Engl J Med*, v. 374 , n.10, p. 951–958, Mar. 2016.

MOORE, C. A. et al. Characterizing the Pattern of Anomalies in Congenital Zika Syndrome for Pediatric Clinicians. *JAMA Pediatr*, v. 171, n. 3, p. 288-25, Mar 2017.

MOREIRA, M. I., VILLELA, S. H., MEIO, M. D. B. B. Vertical transmission of Zika virus and the repercussions on children: the knowledge is not complete. *BMC Med*, v. 19, p. 41, 2021.

MOTTA, I. J. et al. Evidence for transmission of Zika virus by platelet transfusion. *N. Engl. J. Med*, v. 375, p. 1101–1103, 2016.

MURRAY, K. O. et al. Prolonged detection of Zika virus in vaginal secretions and whole blood. **Emerg. Infect. Dis**, v. 23, p. 99, 2017.

MUSSO, D., CAO-LORMEAU, V. M., GUBLER, D. J. Zika virus: Following the path of dengue and chikungunya? **Lancet**, v. 386, p. 243–244, 2015.

MUSSO, D., KO, A. I., BAUD, D. Zika Virus Infection - After the Pandemic. **N Engl J Med**, v. 381, n. 15, p. 1444-1457, Oct 2019.

NHAN, T-X.; CAO-LORMEAU, V-M.; MUSSO, D. Les infections à virus Zika. **Rev Francoph Lab**, v. 2014, n. 467, p. 45-52, Dec 2014.

NOORBAKSH, F. et al. Zika Virus Infection, Basic and Clinical Aspects: A Review Article. **Iran J Public Health**, v. 48, n. 1, p. 20-31, 2019.

OPAS – Organização Pan-Americana a Saúde. OPAS/OMS atualiza caracterização da síndrome congênita do zika. Brasília (DF); 2016. Disponível em: https://www.paho.org/bra/index.php?option=com_content&view=article&id=5181:opas-oms-atualiza-caracterizacao-da-sindrome-congenita-do-zika&Itemid=820

PARDY, R. D.; RICHER, M.J. Zika Virus Pathogenesis: From Early Case Reports to Epidemics. **Viruses**, v.11, n. 10, p. 886, Sep 2019.

PASSOS, I. A., et al. Defeitos do esmalte: etiologia, características clínicas e diagnóstico diferencial. **Rev Inst Ciênc Saúde**, v. 25, n. 2, p. 187-192, 2007.

PAZ-BAILEY, G. et al. Persistence of Zika virus in body fluids—Preliminary report. **N Engl. J. Med**, v. 379, n. 13, p. 1234–1243, sep 2018.

PERGOLIZZI, J. JR. et al. The Zika virus: Lurking behind the COVID-19 pandemic? **J Clin Pharm Ther**, p. 10.1111/jcpt.13310, 2020.

RASMUSSEN, S. A., et al. Zika Virus and Birth Defects — Reviewing the Evidence for Causality. **N Engl J Med**, v. 374, n. 20, p. 1981-1987, May. 2016.

SCHULER-FACCINI, L. et al. Possible Association Between Zika Virus Infection and Microcephaly - Brazil, 2015. **MMWR Morb Mortal Wkly Rep**. v. 65, n. 3, p. 59-62, 2016.

SECRETARIA ESTADUAL DE SAÚDE DE PERNAMBUCO. Protocolo Clínico e Epidemiológico para investigação de casos de microcefalia no estado de Pernambuco. Pernambuco: Secretaria Estadual de Saúde, 2015. 42p.

SEOW, S. K. Oral complications of premature birth. **Austr. Dent. J**, v. 31, p. 23-29, 1986.

SEOW, S. K. Enamel hypoplasia in the primary dentition: a review. **J Dent Child**, v. 58, p. 441-452; 1991.

SEOW, S. K. Effects of preterm birth on oral growth and development. **Austr. Dent. J**, v.42, p. 85-91; 1997.

SILVERSTEIN, P. S.; ALJOURDA, N. A.; KUMAR, A. Recent developments in vertical transmission of ZIKA virus. **Oncotarget**, v. 7, n. 39, p. 62797-62798, Sep 2016.

SOTELO, J. R. et al. Persistence of Zika virus in breast milk after infection in late stage of pregnancy. **Emerg. Infect. Dis**, v. 23, n. 854, doi:10.3201/eid2305.161538, 2017.

TANG, H. et al. Zika Virus Infects Human Cortical Neural Progenitors and Attenuates Their Growth. **Cell Stem Cell**, v. 18, n. 5, p. 587-90, May 2016.

TOLEDO, O. A. **Odontopediatria fundamentos para a prática clínica. 2ed** . São Paulo, 1986.

VENTURA, C. V. et al. Ophthalmological findings in infants with microcephaly and presumable intra-uterus Zika virus infection. **Arq Bras Oftalmol**, v. 79, p. 1-3, 2016.

WHITE, M. K. et al. Zika virus: An emergent neuropathological agent. **Ann Neurol**, v. 80, n. 4, , p. 479-489, 2016.

WHO. Director-General summarizes the outcome of the Emergency Committee regarding clusters of microcephaly and Guillain-Barré syndrome. Genebra, 2016.

WORLD TOURISM ORGANIZATION. Over 1.1 billion tourists travelled abroad in 2014. Madrid: UNWTO, 2015. Disponível em: <http://media.unwto.org/pressrelease/2015-01-27/over-11-billion-touriststravelled-abroad-2014>.

APÊNDICE A – Termo de consentimento livre e esclarecido

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

“Avaliação das condições bucais de crianças com Síndrome Congênita do Zika Vírus”

Esclarecimentos

Este é um convite para que a criança sob sua responsabilidade participe da pesquisa sobre “Avaliação das condições bucais de crianças com síndrome congênita do zika vírus”. O objetivo deste trabalho é avaliar as condições de saúde bucal das crianças com Síndrome Congênita do Zika Vírus através de exame radiográfico e clínico para averiguar anomalias dentárias, defeitos estruturais e cronologia de erupção na Unidade de Infectologia Pediátrica do Hospital Universitário Oswaldo Cruz (HUOC) e no Instituto de Medicina Integral Prof. Fernando Figueira (IMIP).

Esta investigação científica constará da execução de exame radiográfico e clínico da cavidade bucal da criança. Ressaltamos que estes procedimentos não trarão riscos e desconforto. Caso seja detectado algum problema de saúde bucal que exija atendimento odontológico, a criança será devidamente encaminhada ao Serviço de Odontologia da Universidade de Pernambuco (FOP-UPE).

Esclarecemos que o(a) senhor(a) não terá nenhum custo financeiro para participar deste estudo e que sua participação é voluntária, podendo retirar-se da pesquisa em qualquer momento, sem prejuízo no seguimento ou atendimento da criança. A identidade da criança (nome ou qualquer informação que permita identificação) será mantida em sigilo (não será divulgada).

Você ficará com uma cópia deste termo e toda dúvida que tiver a respeito desta pesquisa, poderá perguntar diretamente à responsável pela pesquisa: Mabel Cristina Paiva Machado da Silva: Av. General Newton Cavalcante, 1650, Camaragibe/PE – Faculdade de Odontologia de Pernambuco ou pelo telefone: 3184-7659 ou pelo e-mail: belpaivamachado@gmail.com

Se você tiver alguma consideração ou dúvida sobre essa pesquisa, entre em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos da UPE (CEP-UPE) que objetiva defender os interesses dos participantes, respeitando seus direitos e contribuir para o desenvolvimento da pesquisa desde que atenda às condutas éticas. O CEP-UPE está situado na Av. Governador Magalhães S/N, Santo Amaro, Recife, fone: (81) 3184-1271, e-mail: comitê.etica@upe.br. O CEP-UPE funciona de 2ª a 6ª feira, nos seguintes horários: 07:00 às 11:30hs (manhã) e 13:30 às 16:00hs (tarde). Os pesquisadores comprometem-se a utilizar as informações colhidas exclusivamente para os objetivos propostos no projeto.

Consentimento

Eu concordo com a participação da criança pelo qual sou responsável nesta pesquisa. Fui esclarecido do conteúdo da pesquisa, tive chance de fazer perguntas e me considero satisfeito com as respostas que me foram dadas. Estou ciente de que a participação é de minha livre escolha e que posso retirar minha autorização em qualquer momento, se assim desejar, sem prejuízo. É verdade que recebi uma cópia deste termo.

Nome da criança: _____

Nome do responsável: _____

Recife, ____/____/____

Assinatura do responsável ou Impressão dactiloscópica

APÊNDICE B – Formulário Sócio-Demográfico e comportamental

“Avaliação das condições bucais de crianças com síndrome congênita do zika vírus”

FORMULÁRIO DE COLETA DE DADOS

Pesquisador: _____

Local da coleta dos dados: _____

Data da coleta de dados ____/____/____

I. IDENTIFICAÇÃO

Nome do paciente: _____

Logradouro: _____ Nº: _____ Bairro: _____

Cidade: _____ CEP: _____

Telefone: _____

Nome da mãe: _____

1. Número do formulário:
2. Registro:
3. Data de nascimento ____/____/____
4. Idade: (em meses- a partir de 20 dias considerar um mês completo)
5. Sexo:
 - 1) Feminino
 - 2) Masculino
6. Peso ao nascer: (em gramas)
7. Perímetro cefálico: (em centímetros)
8. Aleitamento materno exclusivo:
 - 1) Presente (6 meses de amamentação exclusiva)
 - 2) Ausente (menos de 6 meses de amamentação)
9. Via alimentar
 - 1) Oral
 - 2) Botão gástrico

CARACTERÍSTICAS MATERNAS

10. Idade da mãe: (anos)
11. Escolaridade:
 - 1) < 8 anos
 - 2) ≥ 8 anos
12. Realização de pré-natal
 - 1) < 6 consultas
 - 2) ≥ 6 consultas
13. Presença de rash cutâneo
 - 1) Sim Obs: _____
 - 2) Não

APÊNDICE C – Exame radiográfico: avaliação do desenvolvimento dentário

“Avaliação das condições bucais de crianças com síndrome congênita do zika vírus”

AValiação Radiográfica

Alterações dentárias

1) Presente

2) Ausente

1. Anomalia de número

1) Presente

2) Ausente

Tipo: _____

2. Anomalia de forma

1) Presente

2) Ausente

Tipo: _____

3. Dentes ectópicos

1) Presente

2) Ausente

Localização: _____

Observações:

APÊNDICE D – Exame clínico: avaliação da cronologia de erupção dentária e defeito de esmalte

“Avaliação das condições bucais de crianças com síndrome congênita do zika vírus”

ARCO SUPERIOR

Elemento dentário	Idade (meses)	Elemento dentário	Idade (meses)
51		61	
52		62	
53		63	
54		64	
55		65	

ARCO INFERIOR

Elemento dentário	Idade (meses)	Elemento dentário	Idade (meses)
71		81	
72		82	
73		83	
74		84	
75		85	

55	54	53	52	51	61	62	63	64	65	
85	84	83	82	81	71	72	73	74	75	

Presença de Dentes com Defeito de Esmalte:

1) Sim

2) Não

Classificação do defeito de desenvolvimento dentário:

ANEXO A –Certificação do Comitê de Ética

UNIVERSIDADE DE
PERNAMBUCO/ PROPEGE/



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: AVALIAÇÃO DO DESENVOLVIMENTO DENTÁRIO DE CRIANÇAS NASCIDAS COM MICROCEFALIA ATRIBUÍDA A INFECÇÃO DA MÃE COM ZIKA VÍRUS NA CIDADE DE RECIFE, PERNAMBUCO, BRASIL

Pesquisador: Aronita Rosenblatt

Área Temática:

Versão: 1

CAAE: 61990416.0.0000.5207

Instituição Proponente: FUNDAÇÃO UNIVERSIDADE DE PERNAMBUCO

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 1.879.573

Apresentação do Projeto:

Estudo do tipo coorte prospectivo que será desenvolvido no Hospital Universitário Oswaldo Cruz (HUOC) na cidade do Recife, capital do Estado de Pernambuco, no período de Fevereiro de 2017 a março de 2021 e pretende verificar o acometimento dos germes dentários de criança portadora de microcefalia. A amostra será constituída por crianças portadoras de microcefalia congênita atendidas no ambulatório do Hospital Universitário Oswaldo Cruz de 12 meses até aos 5 anos de idade. O acompanhamento dessas crianças serão feitos de 6 em 6 meses até completarem 5 anos de idade. Uma vez identificados os pacientes, será aplicada a lista de checagem. Preenchidos os critérios de elegibilidade, os pais ou responsáveis responderão a um questionário. *Após o preenchimento do questionário serão realizados os exames intrabucais: o exame clínico, onde serão anotados os dentes presentes na cavidade e em que idade irromperam, se há nesses algum defeito de desenvolvimento, cárie ou a combinação dos dois; e radiográfico, onde se verificará a presença ou ausência dos elementos dentários nos arcos dentários. *

Objetivo da Pesquisa:

Objetivo Primário: Avaliar a cronologia de erupção, o desenvolvimento dentário, defeitos de desenvolvimento do esmalte em crianças portadoras de microcefalia associadas a infecção da mãe na gravidez por ZIKAV.

Objetivo Secundário: • Verificar o desenvolvimento dentário de crianças

Endereço: Av. Agamenon Magalhães, s/nº
Bairro: Santo Amaro CEP: 50.100-010
UF: PE Município: RECIFE
Telefone: (81)3183-3775 Fax: (81)3183-3775 E-mail: comite.etica@upe.br

Continuação do Parecer: 1.079.573

com microcefalia através de radiografias oclusais - Diagnosticar a presença de defeitos de esmalte entre as crianças de 12 meses e até 5 anos- Diagnosticar cárie dentária- Observar a Integridade do esmalte dentário em dentes permanentes- Associar o desenvolvimento dentário e a Integridade do esmalte à severidade do perímetro cefálico

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Contemplam a avaliação de riscos e benefícios de forma adequada.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Pesquisa relevante do ponto de vista científico e social.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Apresenta todos os termos de apresentação obrigatória em conformidade.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Pesquisa relevante que apresenta metodologia adequada aos objetivos propostos, sendo recomendada a sua aprovação.

Considerações Finais a critério do CEP:

O pleno acompanha o parecer do relator.

ANEXO B – Tabela da American Academy Of Pediatric Dentistry – Crescimento e desenvolvimento dental.

Dental Growth and Development

Primary Dentition

	Calcification begins at	Formation complete at	Eruption		Exfoliation	
			Maxillary	Mandibula	Maxillary	Mandibula
Central incisors	4 th fetal mo	18-24 mo	6-10 mo	5-8 mo	7-8 y	6-7 y
Lateral incisors	4 th fetal mo	18-24 mo	8-12 mo	7-10 mo	8-9 y	7-8 y
Canines	4 th fetal mo	30-39 mo	16-20 mo	16-20 mo	11-12 y	9-11 y
First molars	4 th fetal mo	24-30 mo	11-18 mo	11-18 mo	9-11 y	10-12 y
Second molars	4 th fetal mo	36 mo	20-30 mo	20-30 mo	9-12 y	11-13 y

Permanent Dentition

	Calcification begins at	Crown (enamel) complete at	Roots complete at	Eruption*	
				Maxillary	Mandibular
Central incisors	3-4 mo	4-5 y	9-10 y	7-8 y (3)	6-7 y (2)
Lateral incisors	Maxilla: 10-12 mo Mandible: 3-4 mo	4-5 y	11 y 10 y	8-9 y (5)	7-8 y (4)
Canines	4-5 mo	6-7 y	12-15 y	11-12 y (11)	9-11 y (6)
First premolars	18-24 mo	5-6 y	12-13 y	10-11 y (7)	10-12 y (8)
Second premolars	24-30 mo	6-7 y	12-14 y	10-12 y (9)	11-13 y (10)
First molars	Birth	30-36 mo	9-10 y	5.5-7 y (1)	5.5-7 y (1a)
Second molars	30-36 mo	7-8 y	14-16 y	12-14 y (12)	12-14 y (12a)
Third molars	Maxilla: 7-9 y Mandible: 8-10 y			17-30 y (13)	17-30 y (13a)

* Figures in parentheses indicate order of eruption. Many otherwise normal infants do not conform strictly to the stated schedule.

Logan WHG, Kronfeld R. Development of the human jaws and surrounding structures from birth to the age of fifteen years. J Am Dent Assoc 1933;20(3):379-427. Copyright © 1933 American Dental Association. All rights reserved. Adapted 2003 by permission.

ABSTRACT

Background: In Brazil, in October 2015, an outbreak of Zika Virus (ZIKV) infection and an increase in newborns with microcephaly suggested a relationship between maternal infection and microcephaly in children. Objective: First, to assess the presence of dental bud sin 1 infants with a confirmed diagnosis of Congenital ZIKV Syndrome, born to mothers infected with the virus during pregnancy; second, to evaluate the dental development of these children at 36-month follow-up. Design: Case-based longitudinal study. Results: Dental radiographs in the first semester showed that all children had dental buds. Along with the study, the individuals presented with various dental disturbances. At the end of the evaluation period, some children still had incomplete deciduous dentition. Conclusion: The abnormal chronology of dental eruption and dental development disturbances in children with microcephaly infected with ZIKV born to infected mothers indicate a possible role of the virus in odontogenesis.

Keywords: Zika virus. Child. Dental defect. Microcephaly. Diagnosis.

1. Introduction

In October 2015, the northeastern region of Brazil had a significant increase in the number of children born with microcephaly, indicating possible relationship with mothers infected with Zika virus (ZIKV)during pregnancy (Mlakar et al., 2016). An active search maternity hospitals for high-risk pregnancies found 29 cases of infants with microcephaly admitted to these units (Brito, 2016; Cordeiro, Pena, Brito, Gil, & Marques, 2016; Nelvo, 2016) leading the Pernambuco State Health Department (SES-PE) to report this unusual incidence to the Brazilian Ministry of Health (Albuquerque et al., 2018). The causal relationship between prenatal ZIKV infection and microcephaly, or Congenital Zika Syndrome (CZS), was confirmed in the month of May2016 (Rasmussen, Jamieson, Honien, & Petersen, 2016).

ZIKV differs from dengue and chikungunya; newborns infected with this arbovirolosis

may present cerebral calcification points, lack of some brain tissues, and exhibit ventricular system dilation (Ribeiro, Muniz, Gasparetto, Ventura, & Marchiori, 2017). The serological tests of these patients can detect immunoglobulin M (IgM), which may be an acute pattern of the infection due to the presence of immunoglobulin G (IgG), evidence of a previous viral infection. In mothers and infected infants, polymerase chain reactions (PCR) and serological testing are examined by samples from the cerebrospinal liquid, collected immediately after birth (Cordeiro et al., 2016; De Araújo et al., 2016).

ZIKV appears to be neurotropic (Moore et al., 2017) and to affect the development of the brain and face at multiple levels (Marcucio, Hallgrimsson, & Young, 2015). In most cases, the patients present with craniofacial abnormalities (Aragão et al., 2016) associated with embryopathologies (Le Douarin, Brito, & Creuzet, 2007) compromising the bone, cartilage, smooth muscle, and vascular systems of the head and face, as well as other tissues derived from the cranial neural crest cells (CNCCs) (Le Douarin et al., 2007). As suggested by Albuquerque et al. (2018), the new Congenital Zika Syndrome merits inclusion in the TORCH group (toxoplasmosis, other [syphilis, varicella-zoster, parvovirus B19], rubella, cytomegalovirus [CMV], and herpes infections), some of the most common infections associated with a group of mother-to-child infections transmitted during pregnancy and presenting with congenital anomalies, including dental disorders.

Around the fourth week of development, a rudimentary mouth is formed; the first pharyngeal arches and five structures will form the face, including the mandibular and maxillary structures, where the teeth are stored until the time of eruption (Magreni & May, 2015). This is the beginning of the process, which is not completed before attrition to meet the antagonist tooth for masticatory purposes (Massignan et al., 2016).

Children with cerebral palsy and mental or physical disabilities often have enamel hypoplasia in the primary teeth, suggesting that the systemic disturbances that affect the neurological system may also interfere with tooth development (Bhat & Nelson, 1989).

The development of the teeth involves the formation of specific cells, ameloblasts, that synthesize the enamel of the tooth crown, the hardest part of the human body (Hu, Parker, & Wright, 2015). Once damaged, enamel cannot recover. The signs of insult present in the dental hard tissues can be biological markers of the time and nature of the damage that may potentially affect other ectodermal-derived structures, including brain development (Bhat & Nelson, 1989). Enamel developmental defects (EDD) may be the result of local, systemic, genetic, or environmental factors but are frequently the result of multifactorial causes (Slayton, Warren, Kanellis, Levy, & Islam, 2001). EDD may occur during the

enamel matrix formation, maturation, or calcification.

Therefore, this study first aimed to verify whether children presenting with microcephaly and a confirmed diagnosis of ZIKV born from mothers infected with the virus during pregnancy had dental buds. Second, it aimed to register dental abnormalities present in these children's first 36 months of life.

2. Materials and methods

2.1 Sample characteristics and study design

The present is a case-based longitudinal study of 13 children recruited from the 29 first reported cases of microcephaly admitted to the maternal and child special care units between July and October of the year 2015 at the Oswaldo Cruz Pediatric Infectious Disease Unit at the University of Pernambuco and the Professor Fernando Figueira Institute of Integral Medicine (IMIP). Of the 29 cases, three died, and 13 lived in other municipalities (Fig. 1).

The inclusion criteria for the sample were as follows:

2.1.1 Residence

The 13 children included in the sample lived in the city capital of Pernambuco, Recife, which made this follow-up possible. Fig. 1 shows the flow chart for the sample.

2.1.2 Mother's medical report

The data in the medical records included mothers' reports about the signs and symptoms of ZIKV infection during pregnancy. The records registered gender, gestational age, birth weight, cephalic perimeter, and neurological abnormalities, as well as the mother's age at delivery, education, family income, and the presence of maternal rash at pregnancy.

2.1.3 Physical features

At the health units, specialists examined all infants with microcephaly, defined as a head circumference at least two standard deviations smaller than the mean size average for sex and gestational age according to the Fenton growth chart (Fenton & Kim, 2013).

2.1.4 Child computed tomography brain scan without contrast

All children had a brain scan.

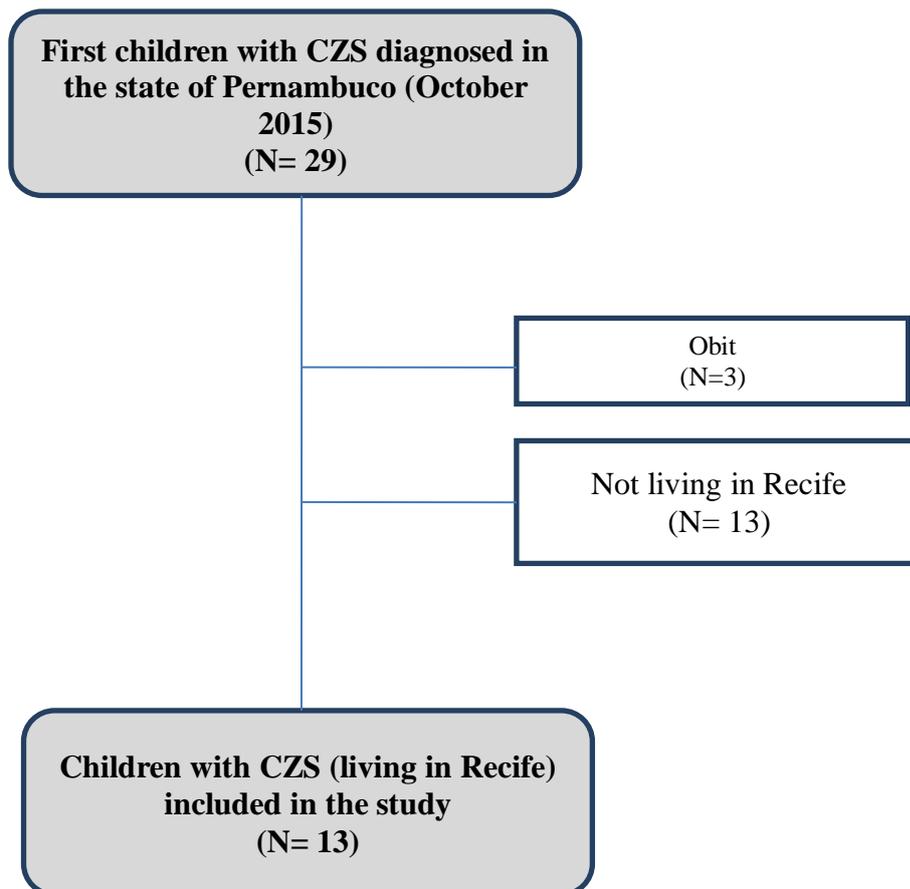


Fig. 1. Flowchart of the sample.

2.1.5 Serological exams

Serum samples of cerebrospinal fluid were tested for Zika virus-specific IgM and by quantitative Real Time-PCR. Laboratory-confirmed Zika virus infection was defined as detection of Zika virus-specific IgM, as was a positive RT-PCR result in neonates. Maternal serum samples were tested by the plaque reduction neutralization assay for Zika virus and dengue virus, as reported by De Araújo et al. (2016).

Exclusion criteria

Children presenting with microcephaly attributed to a virus other than ZIKV and those whose mothers reported exposure to illicit drugs, toxic substances, and ionizing radiation during pregnancy were excluded.

2.2 Oral examination and radiographs

Because of the lack of information about the syndrome, at the age of six months, children underwent dental radiographs with periapical adult-sized film to verify whether the

individuals had dental buds. When taking the XRs, two dental assistants held the baby's head in the centric occlusal view and followed the principle of as low as reasonably achievable (ALARA) exposure (FDA Administration, 2012; Cohen & Diver, 1970). Radiation exposure for dental radiographs is lower than 0.005 mSv, which is 400 times lower than that of the computerized tomography scan. The images aimed to verify congenital abnormalities, mainly the absence of teeth. Dental exams were performed in a dental facility by one trained pediatric dentist (MCPMS), and the mother held the child's head during the exam.

2.3 Data collection

Dental examinations were performed over 36 months, for a total of six visits during the study period, at patient ages of six, 12, 18, 24, 30, and 36 months. Maternal and child medical data were registered in medical and dental records, which included information on the prenatal exams, delivery, and postpartum period.

The dental records included very specific evaluations of tooth anomalies according to Neville, Damm, Allen, and Chi (2016), including abnormal chronology of dental eruption; shape abnormalities; fusion; twin teeth; accessory cusps and invagination; abnormal sequence and eruption time, anodontia, hypodontia, oligodontia, hypodontia, and supernumerary teeth; and structural defects, such as opacities and hypoplasia (Neville et al., 2016).

The enamel defects were classified according to the DDE Index, taking into account qualitative defects, opacities, and quantitative reductions in enamel thickness (A review of the developmental defects of enamel index (DDE index), 1992). The chronology of eruption and delay in the eruption were established based on the modified Logan and Kronfeld table (Lunt & Law, 1974).

2.4 Statistical analysis

Descriptive statistical analysis was performed to characterize the sample. For categorical variables — such as gender, eruption cyst, head circumference, dental developmental defects, and feeding by gastric tube — the statistical analysis results were expressed as absolute frequencies and percentages, means and standard deviations, and medians, and at the 25th and 75th percentiles for numerical variables, such the number of teeth present in each follow-up interval.

Significant differences between the number of teeth present in the mouth of the children of this study compared to the Logan and Kronfeld table in each evaluation interval were verified by Student t-test or the Wilcoxon test, as described in Table 1.

The Friedman test with multiple Bonferroni comparisons was used to compare all the time intervals. In order to compare the independent variables, gender, eruption cyst, head circumference, enamel development defect, use of a gastric tube, and birth weight with the number of teeth present in the mouth, the Mann-Whitney test was used. The Shapiro-Wilk test verified normality. The estimated error was 5 %.

2.5 Ethical approval

The study protocol was approved by the Internal Review Board of the University of Pernambuco under the number 52675616.0.0000.1526, and written informed consent was obtained from participants following the resolution nº 466/2012 and operational norm CNS/MS no 001/201.3. Parents signed the free and informed consent terms.

Table 1

Statistics on number of teeth present and values reported by Logan and Kronfeld by age analyzed.

Age	Reference (Logan and Kronfeld table)	Number of teeth		p value
		Mean ± SD	Median children CZS (P25; P75)	
6 months	4 ⁽²⁾	0,00 ± 0,00 0,00 (0,00; 0,00)		**
12 months	10	2,31 ± 2,39 2,00 (0,50; 3,50)		p ⁽¹⁾ < 0,001*
18 months	14	7,62 ± 4,48 7,00 (6,00; 8,50)		p ⁽¹⁾ < 0,001*
24 months	18	12,92 ± 4,99 13,00 (11,00; 16,00)		p ⁽¹⁾ = 0,003*
30 months	20	16,38 ± 4,35 17,00 (15,00; 20,00)		p ⁽¹⁾ = 0,011*
36 months	20	18,46 ± 3,64 20,00 (18,50; 20,00)		p ⁽¹⁾ = 0,154

* Significant difference at 5.0% level.

¹ Through Wilcoxon test for one sample.

³ Through Student's t-test for one sample.

³Value represents the midpoint of the stated number of teeth range.

3. Results

Table 2 shows the distribution of the sample according to sex, birth weight, and gestational age, signs of maternal clinical infection pre-birth of the child, and head circumference at birth.

The majority of the individuals were male (53.84 %). All children were evaluated at the same age and at the same time intervals. The smallest head circumference among the patients was 26cm, and the largest was 33 cm. Of the children, 69.2 % presented with a birth weight within the parameters recommended by the Brazilian Ministry of Health (Previtalii & Santos, 2009).

During the study, the majority of the children developed difficulties in sucking and swallowing, as well as increased risk of bronco-aspiration.

At the age of six months, the dental radiographs revealed that all children presented with dental buds of the deciduous teeth and some crowns of the permanent molars. The radiographs showed that two children had supernumerary teeth in both arches, one had a bell-shaped tooth, one had an incomplete formation of the maxillary central incisor, and three children had missing teeth (cases 2, 7, and 10). No child had erupted teeth.

At 12 months, only three infants did not have erupted teeth. Two infants had eruption cysts in the anterior region of the upper ridge, and four children presented with dental hypoplasia and diffuse enamel opacities.

At 18 and 24 months, only one infant had no erupted teeth, and five had been admitted to the hospital because of bronco-aspiration and pneumonia. In these cases, the dental examinations took place at the bedside. Currently, four of these infants are feeding by gastric tubes. Three new cases of eruption cysts were observed, totaling five cases within the whole group.

At 30 months, only four children had completed the eruption of the deciduous denture, and the sequence of the eruption was altered in the majority of the population, as in cases 1, 4, and 7.

At 36 months, all children had erupted teeth; however, one child had only seven teeth (Table 3). There were two new cases of eruption cysts, totaling seven cases in the study group. The missed teeth diagnosed by dental radiography in the first semester were visible at the 36-month follow-up; one child had both upper lateral incisors missing (case 2), one

had a missing central incisor (case 7), and one was missing a lower canine (case 12). At this age, four children presented with enamel defects and delayed dental eruption of the primary teeth.

During the eruption time, more dental defects were detected on different sites of the erupted teeth. The most prevalent, dental opacity, was present in nine teeth in three children and was more prevalent on the buccal surfaces of the maxillary incisors and canines and on the buccal surface of the upper central incisors and the occlusal surfaces of the lower molars. One child presented with enamel hypoplasia in four teeth in the upper incisor and the lower molars (Table 3).

Graph 1 shows the results in eruption delay when compared to the modified Logan and Kronfeld table.

Table 4 shows that throughout the study, there was no statistically significant association between the number of erupted teeth and the head circumference.

4. Discussion

The present study hypothesized that infants with microcephaly and confirmed diagnosis of congenital Zika virus (CZS) born to mothers infected with ZIKV during pregnancy had a high incidence of dental developmental disturbances, indicating that ZIKV may be one of the viral infections that potentially affects the central nervous system and disturbs odontogenesis.

Early experimental studies in animals by Dick (1952) and Bell, Field, and Narang (1971) reported on the neurotropic potential of the ZIKV and the potential causal relationship between the virus and microcephaly. Nevertheless, after the epidemic, an experimental study in animals focused on the mechanism of the infection, targeting the neurological tissues and the extension of the damage to the neurons (Garcez et al., 2016).

Currently, there are no published works aiming to verify the relationship of ZIKV infection with disturbance in dental development; however, it merits consideration that, as reported by Scarpim et al. (2006), infection during pregnancy is a risk factor for dental injuries.

According to the literature, other infections, like congenital rubella and cytomegalovirus (CMV), can cause the total absence of tooth buds (Jaskoll et al., 2010; Kraus, Ames, & Clark, 1969); therefore, the dental radiographs obtained from infants at the first trimester of life aimed to verify the extent of the ZIKV infection and its impact on the developing dental buds. These findings revealed that children born with CZS had

dental buds, a finding never reported before because very little was known about the infection.

Table 2. Infants born with congenital Zika infection.

Cases	Sex	Gestationa l age (wks)	Birth weight (gm)	Birth weight classification*	Head circumference at birth (cm)	Exclusive breastfeedin g	Maternal age (years)	Maternal rash
1	M	39	3.665	Normal birth weight	29.5	Yes	25	present
2	F	38	2.446	Low birth weight	29	No	28	Present
3	M	38	2.895	Low birth weight	28.5	No	39	Present
4	M	37,1	1.950	Low birth weight	27	No	41	Present
5	M	38	2.895	Low birth weight	29	No	34	Present
6	M	38	2.745	Low birth weight	31	No	35	Present
7	F	39	1.980	Low birth weight	26	No	29	Present
8	M	38,1	3.315	Normal birth weigh	31	No	32	Present
9	F	36	2.350	Low birth weight	27	Yes	24	Present
10	F	39	2.685	Low birth weight	28,5	No	42	Present
11	M	39	3.130	Normal birth weight	31	No	31	Present
12	F	38	3.250	Normal birth weight	30	Yes	32	Present
13	M	39	2.960	Low birth weight	33	No	29	Present

* Birth weight classification according to Mariotoni and Filho (2000).

*Data extracted from Medical records Oswaldo Cruz University Hospital (HUOC), University of Pernambuco. Brazil.

The dental radiographs revealed some radiolucency in teeth during the pre eruption time, which could be checked at the same dental site during the post-eruption period. This observation confirms that the dental tissue suffered calcification disturbance due to defective enamel formation, as suggested by Bhat and Nelson (1989).

Pedreira, Magalhães, Cardoso, Taveira, and de Freitas (2007), looking at a set of panoramic radiographs, reported that dental development anomalies, both qualitative and

quantitative, are more prevalent in children with neurological disorders. In this study group, some dental developmental anomalies—such as the absence of teeth, supernumerary teeth, changes in tooth shape, and incomplete formation of teeth—occurred at the same range described by Carvalho et al. (2019), who looked at 30 dental radiographs in a cross-sectional study. The structural dental anomalies presented by the individuals in this sample may provide additional information on the timing and nature of insults affecting other ectodermal-derived structures, such as the brain, as suggested by Bhat and Nelson (1989).

The formation of dental tissues, enamel, and dentin depend on coordinated cellular interactions between the oral epithelium and the neural crest-derived ectomesenchyme (Thesleff & Tummers, 2009). Disturbance of this secretory process by congenital infections—such as cytomegalovirus (CMV), rubella, or syphilis—can result in dental disorders, such as agenesis, hypoplasia, and tooth shape changes (Hillson, Grigson, & Bond, 1988; Ioannou, Henneberg, & Henneberg, 2018). The absence of agenesis of deciduous teeth is uncommon when compared to the permanent dentition, varying from 0.1 % a 0.9 %, in the world population (Kolenc-Fusé, 2004). Three children from this sample presented agenesis of some teeth. A report by Scarpim et al. (2006) indicated that infection during tooth development might cause agenesis of the teeth in both dentitions. ZIKV infection may have caused the absence of teeth described in the present study.

According to Jaskoll et al. (2010), congenital CMV infections tend to cause dental development disorders, such as dental agenesis and enamel hypoplasia, and the damage to the dental structure may be associated with the period and length of the insult. As in CMV, the four children in this study presenting with dental defects could have been infected in the first trimester of pregnancy.

In this study, four children presented with enamel defects (30.7 %), opacity being the most prevalent and found in three children, and hypoplasia being present in one child. The majority of teeth affected by both types of defects were the buccal sites of the incisors and canines and the occlusal and buccal sites of the maxillary molars, which corroborates the findings of King and Wei (1986). Bhat and Nelson (1989) reported that systemic influences on tooth formation usually occur in the early years of life; therefore, the teeth most commonly affected are the incisors and canines, the first to emerge in the mouth.

In the general population of northeast Brazil, in infants prematurely born and those born with low birth weight, the prevalence of enamel defects in deciduous dentition is in the same range as that found in children born from mothers presenting with other

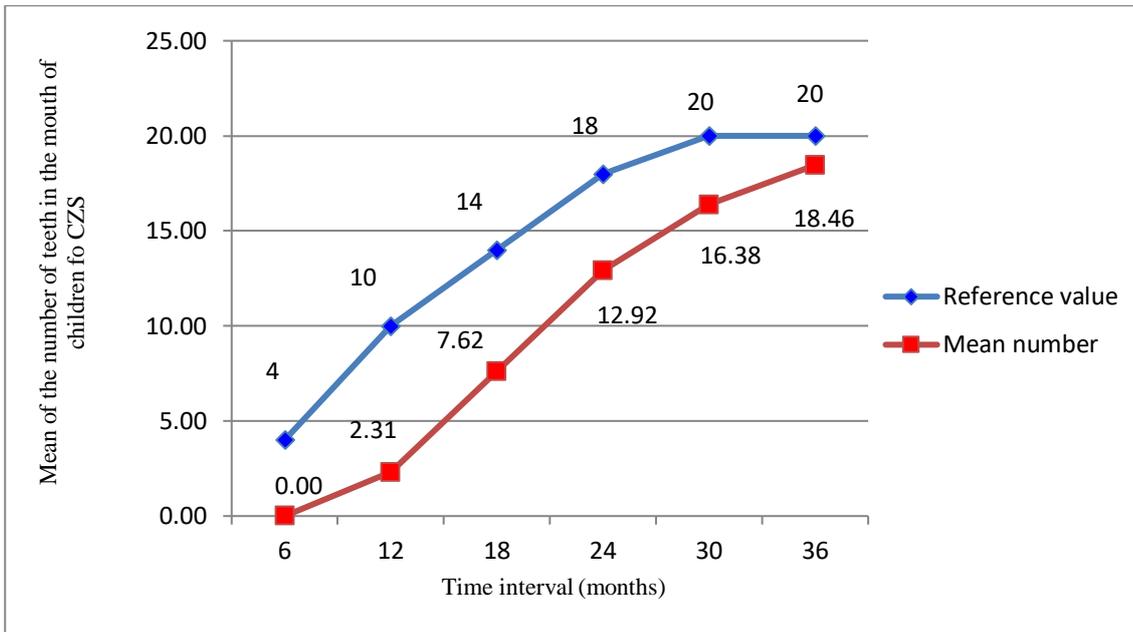
infectious diseases, according to data from Kraus et al. (1969) and Bhat and Nelson (1989). Jan and Jan (2016) and Cohen and Diver (1970) reported on the incidence of dental hypoplasia in children with cerebral palsy, with results similar to those found in this sample: 30 % of the infants had dental anomalies, mainly EDD, including hypoplasia and opacities.

Table 4. Number of teeth and age difference according to head circumference.

Variable	Age	Head circumference		p value
		< 30 cm(n = 8) Mean ± SD Median (P25; P75)	≥ 30 cm(n = 5) Mean ± SD Median (P25; P75)	
Number oh teeth	6 months	0,00 ± 0,00 0,00 (0,00; 0,00)	0,00 ± 0,00 0,00 (0,00; 0,00)	p ⁽¹⁾ = 1,000
	12 months	1,00 ± 0,93 1,00 (0,00; 2,00)	4,40 ± 2,61 4,00 (2,00; 7,00)	p ⁽¹⁾ = 0,017*
	18 months	5,50 ± 2,93 6,50 (3,00; 7,75)	11,00 ± 4,69 9,00 (7,00; 16,00)	p ⁽¹⁾ = 0,038*
	24 months	10,75 ± 4,86 12,00 (9,25; 13,75)	16,40 ± 2,97 16,00 (14,00; 19,00)	p ⁽¹⁾ = 0,026*
	30 months	15,25 ± 5,12 16,50 (13,50; 19,25)	18,20 ± 2,05 18,00 (16,50; 20,00)	p ⁽¹⁾ = 0,205
	36 months	17,63 ± 4,53	19,80 ± 0,45	p ⁽¹⁾ = 0,371

The most common complication found in the dental development of the target group was eruption cysts that may appear before the eruption of teeth, which had never been reported before in the literature. In this study, the high incidence of eruption cysts may be associated with poor nutrition. Some individuals presenting with this condition were fed by gastric probes; however, this association was not statistically significant in the study. Adewumi, Ashoor, Soares, Guelmann, and Novak (2010)) reported that eruption cysts are caused by poor nutrition due to the absence of some food groups, which was not possible to verify in this study.

Graph 1. Mean number of teeth present in children with CZS and reference values by the Logan and Kronfeld table by age analyzed



Another dental disturbance found in children affected by other infectious diseases that may also affect infants infected with ZIKV is the eruption time; in this group, it deviated significantly from that established for some age intervals, which may agree with the report by Peedikayil (2011) for different races, ethnicities, and sexes.

Taking into account that eruption is a physiological process that strongly influences average craniofacial growth (Peedikayil, 2011), in this study, there was no demonstrated difference between the head circumference and the number of erupted teeth; this may be due to the microcephaly present in all children in the sample.

A study by Papa and Curzon (1991) described a delay in the eruption of permanent and primary teeth compared to a control group, indicating a disturbance in the eruption pattern caused by infection (Suri, Gagari, & Vastardis, 2004). There was a delay in eruption in eight of the 13 children in this sample, the most severe being case 10, with no teeth until two years of age. Cavalcanti (2017) and Siqueira, Santos, and Cabral (2018) suggested that children with CZS may present delays and alterations in the sequence of the eruption of deciduous teeth and enamel hypoplasia, which was shown in this longitudinal study.

Graphic 1 shows that children with CZS had a late eruption of the deciduous teeth, compared to data of the modified Logan and Kronfeld table (Lunt & Law, 1974). The present study employed a 36-month follow-up, six months longer than the study that resulted in the modified Logan and Kronfeld table.

At 30 months, only four children had completed the eruption of the deciduous denture, and the sequence of the eruption was altered in the majority of the population, with higher severity in cases 1, 4, and 7. In case 1, the upper canines erupted before the first molars; in case 4, the first maxillary molar erupted before the incisors; and in case 7, the first molars erupted before the central incisors, which differs from the eruption patterns presented by the Logan and Kronfeld table (Lunt & Law, 1974).

Table 1 shows that at six and 18 months, the number of teeth in the mouth of the CZS children was much lower than that presented by Logan and Kronfeld ($P < 0.001$), which indicates a severe delay in eruption within the syndromic group.

Some studies (Dourado, Andrade, Ramos-Jorge, Moreira, & Oliveira-Ferreira, 2013; Santos, Guare, Celiberti, & Siqueira, 2009) indicate that the more severe the neurological damage, the higher the risk of dental caries. Surprisingly, the children in this sample did not present with the dental decay that is common in individuals feeding by gastric tube, as reported by Previtalli and Santos (2009). However, more than half of the sample fed by mouth, which should have decreased the risk for caries. A further explanation for the low risk of dental decay could be the delay in tooth eruption, which may postpone the development of dental decay, as suggested by Alvarez and Navia (1989).

Genetic tests were not available on the premises; therefore, they were not included in the diagnosis protocol, which might be one limitation of this report. In addition, the small number of cases in the study could be another limitation of this work. However, according to Albuquerque et al. (2018), Pernambuco recorded a total of 399 confirmed cases of the syndrome at the end of the epidemic. At the time of the beginning of this study, there were only 29 newborns who tested positive for the detection of the ZIKV genome by RT-PCR and by IgM by ELISA in cerebrospinal fluid (CSF) at birth, which could justify the small size of this sample.

The results of this study indicate that the dental developmental disturbances found in children with CZS may be a result of the infection of the progenitor cells of the neural system by the virus, causing microcephaly and disturbances in the structure of the deciduous teeth and the physiology of dental eruption (Carvalho et al., 2019; Cobourne & Mitsiadis, 2006; Cobourne & Sharpe, 2003).

5. Conclusion

In contrast with some other infectious diseases, ZIKV does not cause complete anodontia in the fetus; however, an abnormal chronology of dental eruption and dental

development disturbances were present in children with microcephaly infected with ZIKV and born to infected mothers, indicating a possible role of the virus in odontogenesis.

Acknowledgment

Ministry of Education, Brasil, Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES-BR).

References

A review of the developmental defects of enamel index (DDE index) (1992). Commission on oral health research and epidemiology. Report of on FDI working group. *International Dental Journal*, 42, 411–426.

Adewumi, A. O., Ashoor, I. F., Soares, F. M., Guelmann, M., & Novak, D. A. (2010). Eruption hematoma as a possible oral sign of infantile scurvy. *Pediatric Dentistry*, 32(2), 151–155.

Albuquerque, M. F. P. M., Souza, W. V., Araújo, T. V. B., Braga, M. C., Miranda Filho, D.

B., ... Ximenes, R. A. A. (2018). The microcephaly epidemic and Zika virus: Building knowledge in epidemiology. *Cadernos de Saúde Pública*, 34(10), e00069018.

Alvarez, J. O., & Navia, J. M. (1989). Nutritional status, tooth eruption, and dental caries: A review. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 49(3), 417–426.

Aragão, M. F. V., Van der Linden, V., Brainer-Lima, A. M., Coeli, R. R., Rocha, M. A., & Valença, M. M. (2016). Clinical features and neuroimaging (CT and MRI) findings in presumed Zika virus related congenital infection and microcephaly: Retrospective case series study. *British Medical Association*, 353, i1901.

Bell, T. M., Field, E. J., & Narang, H. K. (1971). Zika virus infection of the central nervous system of mice. *Archiv für die gesamte Virusforschung*, 35, 183–193.

Bhat, M., & Nelson, K. B. (1989). Developmental enamel defects in primary teeth in children with cerebral palsy, mental retardation, or hearing defects: A review. *International Association for Dental Research*, 3(2), 132–142.

Brito, C. (2016). Zika virus: A new chapter in the history of medicine. *Acta Medica Portuguesa*, 28, 679–680.

Carvalho, I. F., Alencar, P. N. B., Andrade, M. D. C., Silva, P. G. B., Carvalho, E. D. F., Araújo, L. S., ... Sousa, F. B. (2019). Clinical and x-ray oral evaluation in patients with congenital Zika Virus. *Journal of Applied Oral Science*, 27, e20180276. <https://doi.org/10.1590/1678-7757-2018-0276> Epub May 20, 2019.

Cavalcanti, A. L. (2017). Challenges of dental care for children with microcephaly carrying ZIKV congenital syndrome. *Contemporary Clinical Dentistry*, 8, 345–346.

Cobourne, M. T., & Mitsiadis, T. (2006). Neural crest cells and patterning of the mammalian dentition. *The Journal of Experimental Zoology*, 306(3), 251–260.

Cobourne, M. T., & Sharpe, P. T. (2003). Tooth and jaw: Molecular mechanisms of patterning in the first branchial arch. *Archives of Oral Biology*, 48(1), 1–14.

Cohen, H. J., & Diver, H. (1970). The significance of developmental dental enamel defects in neurological diagnosis. *Pediatrics*, 46, 737–747.

Cordeiro, M. T., Pena, L. J., Brito, C. A., Gil, L. H., & Marques, E. T. (2016). Positive IgM for Zika virus in the cerebrospinal fluid of 30 neonates with microcephaly in Brazil. *Lancet*, 387, 1811–1812.

De Araújo, T. V. B., Rodrigues, L. C., De Alencar, R. A. X., De Barros Miranda-Filho, D., Montarroyos, U. R., & De Melo, A. P. L. (2016). Association between Zika virus infection and microcephaly in Brazil, January to May, 2016: Preliminary report of a case-control study. *The Lancet Infectious Diseases*, 16(12), 1356–1363.

Dick, G. W. (1952). Zika virus (II). (1952). Pathogenicity and physical properties. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 46, 521–534.

Dourado, M. R., Andrade, P. M., Ramos-Jorge, M. L., Moreira, R. N., & Oliveira-Ferreira, F. (2013). Association between executive/attentional functions and caries in children with cerebral palsy. *Research in Developmental Disabilities*, 34, 2493–2499.

FDA Administration (2012). Dental radiographic examinations: Recommendations for patient selection and limiting radiation exposure. [accessed 2016 Feb 26]. Available in: American Dental Association <http://www.fda.gov/downloads/RadiationEmittingProducts/RadiationEmittingProductsandProcedures/MedicalImaging/MedicalX-Rays/UCM329746.pdf>.

Fenton, T. R., & Kim, J. H. (2013). A systematic review and meta-analysis to revise the Fenton growth chart for preterm infants. *BMC Pediatrics*, 13, 59.

Garcez, P. P., Loiola, E. C., Costa, R. M., Higa, L. M., Trindade, P., Delvecchio, R., et al. (2016). Zika virus impairs growth in human neurospheres and brain organoids. *Science*, 352, 816–818. <https://doi.org/10.1126/science.aaf6116>.

Hillson, S., Grigson, C., & Bond, S. (1988). Dental defects of congenital syphilis. *American Journal of Physical Anthropology*, 107(1), 25–40.

Hu, S., Parker, J., & Wright, J. T. (2015). Towards unraveling the human tooth transcriptome: The dentome. *PloS One*, 10(4), e0124801.

Ioannou, S., Henneberg, R. J., & Henneberg, M. (2018). Presence of dental signs of congenital syphilis in pre-modern specimens. *Archives of Oral Biology*, 85, 192–200.

Jan, B. M., & Jan, M. M. (2016). Dental health of children with cerebral palsy. *Neurosciences (Riyadh, Saudi Arabia)*, 21(4), 314–318. <https://doi.org/10.17712/nsj.2016.4.20150729>.

Jaskoll, T., Abichaker, G., Htet, K., Bringas, J. P., Morita, S., Sedghizadeh, P. P., ...Melnick, M. (2010). Cytomegalovirus induces stage-dependent enamel defects and misexpression of Amelogenin, Enamelin and dentin sialophosphoprotein in developing mouse molars. *Cells, Tissues, Organs*, 192, 221–239. <https://doi.org/10.1159/000314909>.

King, N. M., & Wei, S. H. (1986). Developmental defects of enamel: A study of 12 year olds in Hong Kong. *The Journal of the American Dental Association*, 112(6), 835–839.

Kolenc-Fusé, F. (2004). Agnesias dentarias: Em busca de la alteraciones genéticas responsables de La falta de desarrollo. *Medicina Oral, Patología Oral y Cirugía Bucal*, 2(7), 385–395.

Kraus, B. S., Ames, M. D., & Clark, G. R. (1969). Effects of maternal rubella on dental crown development. *Clinical Pediatrics*, 8(4), 204–215.

Le Douarin, N. M., Brito, J. M., & Creuzet, S. (2007). Role of the neural crest in face and brain development. *Brain Research Reviews*, 55(2), 237–247.

Lunt, R. C., & Law, D. B. (1974). A review of the chronology of eruption of deciduous teeth. *The Journal of the American Dental Association*, 89, 872–879.

Magreni, A., & May, J. G. (2015). Embryology of the oral structures. *Operative Techniques in Otolaryngology–head and Neck Surgery*, 26, 110–114.

Marcucio, R., Hallgrímsson, B., & Young, N. M. (2015). Facial morphogenesis: Physical and molecular interactions between the brain and the face. *Current Topics in Developmental Biology*, 115, 299–320.

Massignan, C., Cardoso, M., Porporatti, A. L., Aydinöz, S., Canto, G. D. L., Mezzomo, L. A., ... Bolan, M. (2016). Signs and symptoms of primary tooth eruption: A meta-analysis. *Pediatrics*, 137(3), e20153501.

Mlakar, J., Korva, M., Tul, N., Popović, M., Poljšak-Prijatelj, M., Mraz, J., ...Tatjana Avšič Županc, T. A. (2016). Zika virus associated with microcephaly. *The*

NewEngland Journal of Medicine, 16(374), 951–958.

Moore, C. A., Staples, J. E., Dobyns, W. B., Pessoa, A., Ventura, C. V., & Fonseca, E. B.(2017). Congenital zika syndrome: Characterizing the pattern of anomalies for pediatric healthcare providers. *JAMA Pediatrics*, 171(3), 288–295.

Nelvo, R. V. (2016). Zika: do sertão nordestino à ameaça global. *Sexualidad, Salud ySociedad*, 24, 246–254.

Neville, B. W., Damm, D. D., Allen, C. M., & Chi, A. (2016). *Oral and maxillofacial pathology*. Philadelphia, PA: Saunders

Papa, J. E., & Curzon, M. E. (1991). The dental status of cerebral palsied children.*Pediatric Dentistry*, 13(3), 156–162.

Peedikayil, F. C. (2011). Delayed tooth eruption. *Journal of Dentistry*, 1(4), 81–86.

Pedreira, E. N., Magalhães, M. C., Cardoso, C. L., Taveira, L. A., & de Freitas, C. F. (2007).Radiographic study of dental anomalies in Brazilian patients with neuropsychomotordisorders. *Journal of Applied Oral Science*, 15(6), 524–528.

Previtalii, E. F., & Santos, M. T. B. R. (2009). Dental caries and oral hygiene in children with spastic tetraparetic cerebral palsy receiving either oral feeding or nutrition via gastrostomy tube. *Pesquisa Brasileira Em Odontopediatria E Clinica Integrada*, 9(1),43–47.

Rasmussen, S. A., Jamieson, D. J., Honien, M. A., & Petersen, L. R. (2016). Zika virus andbirth defects — Reviewing the evidence for causality. *The New England Journal of Medicine*, 374, 1981–1987.

Ribeiro, B. N. F., Muniz, B. C., Gasparetto, E. L., Ventura, N., & Marchiori, E. (2017).Congenital Zika syndrome and neuroimaging findings: What do we know so far?*Radiologia Brasileira*, 50(5), 314–322. <https://doi.org/10.1590/0100-3984.2017.0098>
http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-39842017000500314&lng=en.

Santos, M. T., Guare, R. O., Celiberti, P., & Siqueira, W. L. (2009). Caries experience in individuals with cerebral palsy concerning oral and motor dysfunction and dietary consistency. *Special Care in Dentistry*, 29, 198–203.

Scarpim, M. F. P. A., Cerci, N. B. B., Azevedo, L. R., Tolazzi, A. L., Grégio, A. M. T., & Ignácio, S. A. (2006). Prevalência De Anomalias dentárias em paciente avaliados para tratamento ortodôntico: Estudo retrospectivo. *Journal of dental clinical research*, 2(3), 203–212.

Siqueira, R. M. P., Santos, M. T. B. R., & Cabral, G. M. P. (2018). Alterations in the primary teeth of children with microcephaly in Northeast Brazil: A comparative study. *International Journal of Paediatric Dentistry*, 65(3), 59–62.

Slayton, R. L., Warren, J. J., Kanellis, M. J., Levy, S. M., & Islam, M. (2001). Prevalence of enamel hypoplasia and isolated opacities in the primary dentition. *Pediatric Dentistry*, 23(1), 32–36.

Suri, L., Gagari, E., & Vastardis, H. (2004). Delayed tooth eruption: Pathogenesis, diagnosis, and treatment. A literature review. (2004). *American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics*, 126(4), 432–445.

Thesleff, I., & Tummers, M. (2009). *Tooth organogenesis and regeneration*. Cambridge (MA): Harvard Stem Cell Institute.

