

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS

ANA LÍVIA LIBARDI BERTACHINI

**ESTUDO HEMODINÂMICO DO PROCESSAMENTO SENSORIAL
AUDITIVO NA TOXOPLASMOSE CONGÊNITA DIAGNOSTICADA E
TRATADA PRECOCEMENTE**

BELO HORIZONTE

2019

Estudo do Processamento Sensorial Auditivo na Toxoplasmose Congênita diagnosticada e tratada precocemente

ANA LÍVIA LIBARDI BERTACHINI

**ESTUDO HEMODINÂMICO DO PROCESSAMENTO SENSORIAL
AUDITIVO NA TOXOPLASMOSE CONGÊNITA DIAGNOSTICADA E
TRATADA PRECOCEMENTE**

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciências da Saúde da Faculdade de medicina da Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito parcial para a obtenção do título de Doutor.

Área de concentração: Saúde da Criança e do Adolescente.

Orientadora: Profa. Dra. Débora Marques de Miranda.

Coorientadora: Profa. Dra. Luciana Macedo de Resende.

BELO HORIZONTE

2019

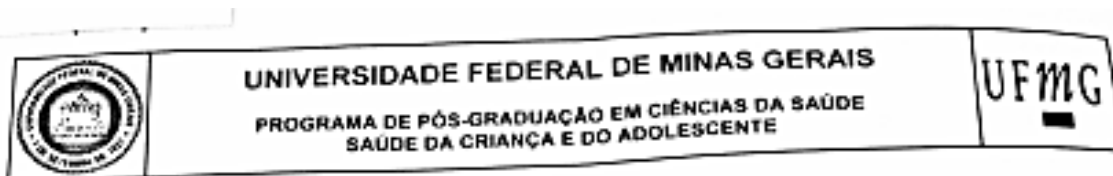
Estudo do Processamento Sensorial Auditivo na Toxoplasmose Congênita diagnosticada e tratada precocemente

Bertachini, Ana Livia Libardi.
B536 Estudo hemodinâmico do Processamento Sensorial Auditivo na Toxoplasmose Congênita diagnosticada e tratada precocemente [manuscrito]. / Ana Livia Libardi Bertachini. - - Belo Horizonte: 2019.
133f.: il.
Orientador (a): Débora Marques de Miranda.
Coorientador (a): Luciana Macedo de Resende.
Área de concentração: Saúde da Criança e do Adolescente.
Tese (doutorado): Universidade Federal de Minas Gerais, Faculdade de Medicina.

1. Toxoplasmose Congênita. 2. Audição. 3. Hemodinâmica. 4. Espectroscopia de Luz Próxima ao Infravermelho. 5. Eletrofisiologia. 6. Dissertações Acadêmicas. I. Miranda, Débora Marques de. II. Resende, Luciana Macedo de. III. Universidade Federal de Minas Gerais, Faculdade de Medicina. IV. Título.

NLM: WV 270

Bibliotecário responsável: Fabian Rodrigo dos Santos CRB-6/2697



FOLHA DE APROVAÇÃO

**ESTUDO HEMODINÂMICO DO PROCESSAMENTO SENSORIAL
AUDITIVO NA TOXOPLASMOSE CONGÊNITA DIAGNOSTICADA E
TRATADA PRECOCEMENTE.**

ANA LIVIA LIBARDI BERTACHINI

Tese submetida à Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde, Saúde da Criança e do adolescente, como requisito para obtenção do grau de Doutor em Ciências da Saúde, Saúde da Criança e do adolescente, área de concentração em Ciências da Saúde.

Aprovada em 07 de junho de 2019, pela banca constituída pelos membros:

Prof.ª Debora Marques de Miranda - Orientadora
UFMG

Prof.ª Luciana Macedo de Resende - Coorientadora
UFMG

Prof.ª Roberta Maia de Castro Romanelli
UFMG

Prof.ª Patricia Cotta Mancini
UFMG

Prof. Rickson Coelho Mesquita
UNICAMP

Prof. Jones Jardim de Paula
FCMMG

Belo Horizonte, 7 de junho de 2019.

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS

REITORA

Profa. Sandra Regina Goulart Almeida

VICE-REITOR

Prof. Alessandro Fernandes Moreira

PRÓ-REITOR DE PÓS-GRADUAÇÃO

Prof. Fábio Alves

PRÓ-REITOR DE PESQUISA

Prof. Mário Campos

FACULDADE DE MEDICINA

DIRETOR DA FACULDADE DE MEDICINA

Prof. Humberto José Alves

VICE-DIRETORA DA FACULDADE DE MEDICINA

Profa. Alamanda Kfoury Pereira

COORDENADOR GERAL DO CENTRO DE PÓS-GRADUAÇÃO

Prof. Tarcizo Afonso Nunes

SUBCOORDENADORA DO CENTRO DE PÓS-GRADUAÇÃO

Profa. Eli Iola Gurgel Andrade

CHEFE DO DEPARTAMENTO DE PEDIATRIA

Profa. Maria do Carmo Barros de Melo

**COLEGIADO DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS
DA SAÚDE – SAÚDE DA CRIANÇA E DO ADOLESCENTE**

COORDENADORA

Profa Roberta Maia de Castro Romanelli

SUBCOORDENADORA

Profa Débora Marques de Miranda

MEMBROS

Profa. Ana Cristina Simões e Silva – Titular

Prof. Eduardo Araújo de Oliveira – Suplente

Prof. Jorge Andrade Pinto – Titular

Prof. Alexandre Rodrigues Ferreira – Suplente

Profa. Helena Maria Gonçalves Becker – Titular

Profa. Ana Cristina Côrtes Gama – Suplente

Profa. Roberta Maia de Castro Romanelli – Titular

Profa. Luana Caroline dos Santos – Suplente

Profa. Juliana Gurgel – Titular

Profa. Ivani Novato Silva – Suplente

Profa. Débora Marques de Miranda – Titular

Prof. Leandro Fernandes Malloy Diniz – Suplente

Prof. Sérgio Veloso Brant Pinheiro – Titular

Prof. Cássio da Cunha Ibiapina – Suplente

Profa. Maria Cândida Ferrarez Bouzada Viana – Titular

Profa. Lêni Márcia Anchieta – Suplente

Ariene Silva do Carmo – Discente Titular

Elisângela Pessoa de Aguiar – Discente Suplente

AGRADECIMENTOS

À minha orientadora Profa. Débora Marques de Miranda por tamanha disponibilidade, profissionalismo e por acreditar que eu seria possível realizar esse trabalho. Obrigada por me receber tão bem.

À coorientadora Profa. Luciana Macedo de Resende, por me receber desde o início com muito carinho e profissionalismo, foi quem me abriu as portas da Universidade e me apresentou a minha orientadora e ao NIRS. Obrigada por confiar constantemente em mim.

Às professoras Sirley e Patrícia do departamento de fonoaudiologia por dividirem constantemente seus conhecimentos.

À grande amiga Gabriela Cintra Januário “Gabi”, que compartilhou comigo de todas as etapas desse trabalho. Muito obrigada de coração.

Ao Prof. Jonas Jardim de Paula da Faculdade de Ciências Médicas, cuja colaboração foi imprescindível à realização desse trabalho.

Aos meus familiares e amigos, por me encorajarem sempre.

Em especial:

- aos meus pais Nivaldo e Irene, que mesmo distantes sempre estiveram presentes me incentivando aos estudos.

- meu marido Maurício e meu filho Murilo pelo apoio constante e compreensão dos meus momentos de ausência.

- aos meus sogros Sergio e Inêz, pelo apoio constante e estarem presentes em todos os momentos.

Aos profissionais do Ambulatório de Fonoaudiologia e CT-MT por todo apoio à realização dessa pesquisa.

Às crianças que participaram desse estudo e seus familiares.

RESUMO

Trata-se de estudo de abordagem quantitativa, observacional e descritivo com o objetivo de avaliar a associação entre a atividade hemodinâmica cortical e a estimulação auditiva por meio de diversas condições, focando no neurodesenvolvimento de crianças com e sem o diagnóstico de toxoplasmose congênita de 0 a 3 meses de idade. Os sujeitos foram crianças em acompanhamento no período de outubro 2016 a janeiro de 2019 do Núcleo de Ações e Pesquisa em Apoio Diagnóstico (NUPAD), oriundas do Programa de Triagem Neonatal de Minas Gerais (PTN-MG) que tiveram o diagnóstico de toxoplasmose congênita, outro grupo foi formado com as crianças saudáveis (sorologia negativa para a toxoplasmose congênita). O protocolo do estudo consiste na avaliação da atividade hemodinâmica cortical em resposta a estimulação auditiva por meios de três condições voz da mãe (conversa espontânea), voz do pesquisador (conversa espontânea) e voz controlada (voz leitura gravada), utilizando a técnica de espectroscopia de luz próxima ao infravermelho; e avaliação auditiva por meio da Imitânciometria, das Emissões Otoacústicas Transientes (EOAT) e Potencial Evocado Auditivo de Tronco Encefálico (PEATE). O consentimento informado, por escrito, dos pais ou responsável legal pelas crianças foi solicitado e o projeto de pesquisa foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da UFMG.

Palavras-chave: Toxoplasmose congênita, audição, processos hemodinâmicos cerebrais, espectroscopia de luz próxima ao infravermelho, eletrofisiologia.

ABSTRACT

This is a quantitative, observational and descriptive study with the objective of evaluating the association between cortical hemodynamic activity and auditory stimulation through several conditions, focusing on the neurodevelopment of children with and without the diagnosis of congenital toxoplasmosis, from 0 to 3 months of age. The subjects were children in follow-up from October 2016 to January 2019 of the Nucleus of Actions and Research in Diagnostic Support (NUPAD), from the Neonatal Screening Program of Minas Gerais (PTN-MG), who had a diagnosis of congenital toxoplasmosis, another group was formed with healthy children (negative serology for congenital toxoplasmosis). The study protocol consists of the evaluation of cortical hemodynamic activity in response to auditory stimulation by means of three conditions: the mother's voice (spontaneous conversation), the researcher's voice (spontaneous conversation) and controlled voice (recorded reading voice) using the spectroscopy technique light near infrared; and auditory evaluation through Immittanceometry, Transient Evoked Otoacoustic Emissions (TEOAE) and Brain Stem Auditory Evoked Potential (BAEP). Informed written consent from the parents or legal guardian for the children was requested and the research project was approved by the UFMG Research Ethics Committee.

Key words: Congenital toxoplasmosis, hearing, cerebral hemodynamic processes, near-infrared light spectroscopy, electrophysiology.

LISTA DE QUADRO

Quadro 1	Adaptação da Classification based on serological, parasitological and clinical criteria (Lebech, 1996).	23
----------	---	----

LISTA DE FIGURAS

Artigo Revisão Integrativa

Figura 1	Flowchart of Integrative Review	40
Gráfico 1	Studies that identified the frequency of hearing loss with and without drug treatment.	52

Metodologia

Figura 1	Geometria utilizada na disposição dos canais para o exame de espectroscopia.	67
Figura 2	Aquisição de dados a partir da fNIRS.	68
Figura 3	Canais selecionados para análise da resposta hemodinâmica cortical temporal (azul), frontal (verde) e parietal (vermelho).	71

Artigo Original (1)

Figura 1	Selected channels for analysis of temporal (blue), frontal (green) and parietal (red) cortical hemodynamic response.	80
Figura 2	Total Channels activated by the hemisphere in the condition mother voice.	86

Artigo Original (2) (Short Communication)

Figura 1	Total Channels activated by the hemispheres in all four conditions.	101
----------	---	-----

Artigo Estudo de Caso (Apêndice)

Figura 1	Condition in which the collection was performed. Six blocks of this condition were tested.	128
----------	--	-----

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ABR - Audiometric Brainstem Response

BAEP - Brainstem Auditory Evoked Potential

CT-MM – Centro de Tecnologia em Medicina Molecular

EEG - Eletroencefalograma

dB - Decibel

EOAT – Emissões Otoacústicas Evocadas por estímulo transiente

fNIRS - Acrônimo do inglês que representa: *Functional near infrared spectroscopy*

HbO – Oxihemoglobina

HbR – Deoxihemoglobina

HbT – Hemoglobina Total

HC – Hospital das Clínicas

Hz – Hertz

JCIH – Joint Committee on Infant Hearing

NA – Nível de Audição

NIRS – Near Infrared Spectroscopy

NUPAD – Núcleo de Ações e Pesquisa em Apoio Diagnóstico

PEAs – Potenciais Evocados Auditivos

PEATE – Potencial Evocado Auditivo de Tronco Encefálico

PEATEa – Potencial Evocado Auditivo de Tronco Encefálico Automático

PCTC – Programa de Controle da Toxoplasmose Congênita de Minas Gerais

PTN – Programa de Triagem Neonatal de Minas Gerais

S/R – Relação sinal ruído

SESMG – Secretaria do Estado de Saúde de Minas Gerais

SNSD – Serious Neurological Sequelae Development

TCLE – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

UFMG – Universidade Federal de Minas Gerais

LISTA DE TABELAS

Artigo Revisão Integrativa

Tabela 1	Studies general characteristics, relevant information regarding the studied sample, objectives and main results of the studies included in the systematic review of the literature.	41
----------	---	----

Artigo Original (1)

Tabela 1	Neonatal characteristics of the groups with congenital toxoplasmosis and control, and those responsible.	82
Tabela 2	Neonatal characteristics of the group of patients that were not possible to be analyzed in Nirslab.	83
Tabela 3	Characteristics of the cortical hemodynamic response in the total channels and comparison between the groups with congenital toxoplasmosis and control.	87
Tabela 4	Characteristics of the cortical hemodynamic response in the total of channels and comparison between the groups with congenital toxoplasmosis and control, using tests of independent samples.	87
Tabela 5	Cortical hemodynamic characteristics of the optical regions of interest (ORI) of the temporal, frontal and parietal cortex in the one condition, compared with the groups.	88
Tabela 6	Characteristics of the cortical hemodynamic response of the regions of interest (ORI) of the temporal, frontal and parietal cortex in the maternal voice condition, compared to the groups, using independent sample tests.	89

Artigo Estudo de Caso (Apêndice)

Tabela 1	Test t p value and effect size of the control individuals data.	130
----------	---	-----

SUMÁRIO

1- INTRODUÇÃO	14
2- JUSTIFICATIVA.....	17
3- REVISÃO DA LITERATURA.....	20
3.1. A toxoplasmose congênita e desenvolvimento auditivo.....	20
3.1.1 Artigo de Revisão Integrativa (1).....	20
3.2 Potencial Evocado Auditivo na avaliação em bebês.....	53
3.3. NIRS e Habilidades Auditivas em bebês	58
4. OBJETIVOS	62
□ Objetivo Geral:	62
□ Objetivos Específicos:	63
5. METODOLOGIA.....	63
5.1. Desenho e local do estudo	63
5.2. Participantes do estudo	64
5.3. Medidas.....	65
5.3.2. Avaliação Auditiva	67
5.4. Procedimentos.....	68
5.5. Tamanho amostral.....	69
5.6. Análise dos dados	70
5.6.1. Análise descritiva dos dados e de comparação entre os grupos.....	70
5.6.2. Análise da atividade hemodinâmica cortical – fNIRS.....	70
5.7. Aspectos éticos	72
6. RESULTADOS	73
6.1 Artigo Original (1).....	74
6.2 Artigo Original (2): Short Communication	93
7. CONSIDERAÇÕES FINAIS	105
ANEXOS E APÊNDICES	107

1- INTRODUÇÃO

A toxoplasmose congênita é uma doença infecciosa que decorre da transferência do protozoário *Toxoplasma gondii* da placenta para feto. É decorrente de uma infecção primária da mãe durante a gestação ou por reagudização de infecção prévia em mães portadoras de imunodeficiência¹.

Múltiplos fatores estão associados com a ocorrência da toxoplasmose congênita, como a taxa de transmissão, idade materna, clima, local da residência, comportamento cultural, hábitos alimentares e de higiene básica. Assim, a combinação de fatores de risco e proteção leva a diferenças marcantes na prevalência mesmo entre países desenvolvidos².

A Toxoplasmose congênita clinicamente caracteriza-se pelas sequelas decorrentes de afecções oftalmológicas e do sistema nervoso central, responsáveis pela maior morbidade das crianças acometidas. A infecção é conhecida pela tríade de sintomas que inclui retinocoroidite, calcificações intracranianas e hidrocefalia³. Estudos recentes demonstram que a toxoplasmose congênita é um fator de risco para a perda auditiva e/ou alterações no processamento auditivo. Observa-se a ocorrência de perda auditiva neurossensorial em crianças com essa infecção⁴.

A detecção precoce de alterações no desenvolvimento em crianças é fundamental, pois a intervenção em tempo oportuno possibilita a implementação de medidas que minimizem o impacto no desenvolvimento infantil com prevenção ou redução de alterações cognitivas, comportamentais, educacionais e sociais⁵. A investigação de possíveis lesões ou disfunções no Sistema Nervoso Auditivo Central, como transtorno do processamento auditivo tem sido feita por meio dos Potenciais Evocados Auditivos (PEAs), a evolução do processamento sensorial auditivo foi

observada por meio da alteração hemodinâmica detectada por meio da *Near Infrared Spectroscopy* (NIRS).

Os PEAs avaliam a atividade neuroelétrica e integridade da via auditiva, desde o nervo auditivo até o córtex cerebral, em resposta a um estímulo acústico⁶. A NIRS é um exame não invasivo capaz de detectar as zonas de ativação hemodinâmica cerebral⁷, por meio de respostas cerebrais a estímulos, dentre eles o sonoro. A tecnologia é utilizada para explorar o desenvolvimento do cérebro infantil funcionalmente ativo como em desempenho de habilidades cognitivas, reconhecimento de objetos e processamento sensorial da fala⁸.

Para explorar e avaliar o processamento sensorial (auditivo, linguístico, motor, entre outros) em crianças, pesquisas mundiais tem utilizado a espectroscopia de luz próxima ao infravermelho do inglês *Near-Infrared Spectroscopy* (NIRS), sendo essa uma técnica de neuroimagem relativamente nova que vem permitindo avanços nas pesquisas sobre processamento cerebral, ampliando assim as possibilidades de investigação sobre o desenvolvimento infantil em estado dinâmico, como na aquisição de linguagem⁹.

O princípio fundamental do NIRS se dá por meio de mudanças no padrão de oxigenação do tecido cortical estudado, ou seja, a luz infravermelho incide no tecido, onde ocorre a dispersão e a absorção da mesma, podendo verificar as mudanças a concentração de oxigênio. Essas variações de concentração de oxiemoglobina (HbO), deoxiemoglobina (HbR) e hemoglobina total (HbT) podem ser captadas pelo detector e os dados podem ser traduzidos em informações sobre hemodinâmica e ativação cerebral^{9,10}.

A compreensão desse processamento busca esclarecer e elucidar a relação do processo de desenvolvimento infantil com a interface cérebro e comportamento. Este

conhecimento das bases do processamento sensorial é fundamental para a identificação de desenvolvimentos atípicos e processos patológicos, uma vez que pode contribuir para a construção da profilaxia e terapêutica de diversas condições de saúde.

Neste contexto, as evidências sugerem que crianças com toxoplasmose congênita apresentam maior risco de desenvolver transtornos do processamento auditivo e no grupo com sequelas neurológicas o risco pode ser ainda maior. Pretendemos avaliar as respostas a estímulos auditivos por meio do uso do Potencial Evocado Auditivo de Tronco Encefálico (PEATE), componente dos PEAs de curta latência que representa a atividade elétrica sincronizada dos elementos neurais do tronco encefálico em resposta à estimulação acústica e a NIRS por meio da estimulação auditiva, ferramentas com potencial de uso no diagnóstico das alterações auditivas apresentadas por crianças com toxoplasmose congênita.

É importante ressaltar que essa Tese de Doutorado obedeceu à resolução 03/2010 do Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde – Saúde da Criança e do Adolescente da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG). As seções são compostas por Introdução, Revisão da Literatura, Objetivos, Metodologia, Resultados e Discussão e Considerações Finais. A Revisão de Literatura sobre a toxoplasmose congênita foi apresentada sob a forma de artigo de revisão sistemática, e também os resultados e discussão foram apresentados sob a forma de dois artigos originais, sendo um apresentado em formato tradicional original e o outro como *short communication*. Foi incluído, ainda, um artigo de estudo de caso sobre o uso da NIRS e estimulação auditiva, que se constitui em prolongamento das investigações desta linha de pesquisa e que está apresentado sob forma de Apêndice I.

2- JUSTIFICATIVA

De acordo com as recomendações do *Joint Committee on Infant Hearing: JCIH*¹¹ e Comitê Multiprofissional em Saúde Auditiva: Comusa¹², todas as crianças que apresentarem indicadores de risco ao nascimento, principalmente os riscos associados às infecções devem ser monitoradas até os três anos de idade, por apresentarem maior possibilidade de desenvolvimento de perda auditiva progressiva e/ou outras complicações decorrentes das alterações inclusive de processamento sensorial.

As crianças infectadas com toxoplasmose congênita são consideradas de risco para transtorno do processamento auditivo central. Transtornos do desenvolvimento de linguagem podem ser decorrentes da alteração central da audição. Esta realidade pode impactar e ajudar a compreender a incidência de atraso no desenvolvimento da linguagem e distúrbios de aprendizagem em crianças com toxoplasmose congênita^{4,13,14}.

REFERÊNCIAS

1. Rosário GCV. Estimativa da incidência da toxoplasmose congênita na região metropolitana de São Paulo a partir da modelagem matemática da soroprevalência do *Toxoplasma gondii* na comunidade de caieiras. Tese de doutorado. São Paulo, 2008.
2. Lebech M, Joynson DH, Seitz HM, Thulliez P, Gilbert R, Dutton GN, et al. Classification system and case definitions of *Toxoplasma gondii* infection in immunocompetent pregnant women and their congenitally infected offspring. European Research Network on Congenital Toxoplasmosis. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1996; 15:799-805.
3. Dunn D, Wallon M, Peyron F, Petersen E, Peckham C, Gilbert R. Mother-to-child transmission of toxoplasmosis: risk estimates for clinical counseling. *Lancet*. 1999;353(9167):1829-33.
4. Resende, LM. Aspectos da audição e linguagem em crianças com toxoplasmose congênita diagnosticadas no período neonatal e tratadas precocemente. Tese (Doutorado em Distúrbio da Comunicação Humana) – Universidade Federal de São Paulo, 2013.
5. Spittle AJ, Doyle LW, Boyd RN. A systematic review of the clinimetric properties of neuromotor assessments for preterm infants during the first year of life. *Dev Med Child Neurol*. 2008;50(4):254-66.
6. Santos MAR, Munhoz MSL, Peixoto MAL, Haase VG, Rodrigues JL, Resende LM. Contribuição do Mismatch Negativity na avaliação cognitiva de indivíduos portadores de esclerose múltipla. *Rev Bras Otorrinolaringol*. 2006; 72 (6): 800-7.
7. Mesquita RC, Covolan RJM. Estudo funcional do cérebro através de NIRS e tomografia óptica de difusão. In: *Neurociências e Epilepsia*, vol 1 (Min LL, Fernandes PT, Covolan RJM, Cendes F, eds), Pleiade, São Paulo, 147-162. 2008.
8. Watenburger et al., The processing of prosody: evidence of interhemispheric specialization at the age of four. *NeuroImage*. 2007, 34, 416-425.
9. Oliveira SR, Machado AC, Miranda DM, Campos Fdos S, Ribeiro CO, Magalhaes Lde C, et al. [Near-infrared spectroscopy as an auxiliary tool in the study of child development]. *Rev Paul Pediatr*. 2015 Apr-Jun;33(2):230-40.
10. Lloyd-Fox S, Blasi A, Elwell CE. Illuminating the developing brain: the past, present and future of functional near infrared spectroscopy. *Neurosci Biobehav Rev*. 2010 Mar;34(3):269-84.

11. Joint Committee on Infant Hearing Year 2007 Position Statement: Principles and Guidelines for Early Hearing Detection and Intervention Programs. *Pediatrics*. 2007;120(4):898-921.
12. Lewis DR, Marone SAM, Mendes BCA, Cruz OLM, Nóbrega M. Comitê multiprofissional em saúde auditiva: COMUSA. *Braz. j. otorhinolaryngol. (Impr.)*. 2010;76:121-8.
13. Berrébi A, Assouline C, Bessieres MH et al. Long-term outcome of children with congenital toxoplasmosis. *Am J Obstet Gynecol* 2010; 203: 552.e1-6.
14. Azevedo MF, Silva AAM, Guedes APS et al. Achados audiológicos na toxoplasmose congênita. *Acta AWHO* 2000; 19(2): 96-101.

3- REVISÃO DA LITERATURA

3.1. A toxoplasmose congênita e desenvolvimento auditivo

A revisão da literatura sobre toxoplasmose congênita será exposta por meio do artigo de revisão integrativa da literatura (1), que teve como objetivo verificar se o tratamento medicamento em tempo oportuno minimiza as dificuldades auditivas na população infantil. Cabe ressaltar que o mesmo será submetido para a revista *Maternal and Child Health Journal*, uma vez que já se encontra nas normas da revista para a publicação do mesmo.

3.1.1 Artigo de Revisão Integrativa (1)

Title: Does Congenital toxoplasmosis really jeopardize the auditory development in infants?

An Integrative Review

Authors: Ana Livia Libardi Bertachini¹, Luciana Macedo de Resende², Gabriela Cintra Januário¹, Gláucia Manzan Queiroz de Andrade³, Roberta Maia de Castro Romanelli³, Débora Marques de Miranda⁴

Institutional affiliation

1 Speech-Language Pathologist. PhD student in the Child and Adolescent Health Program at the UFMG Medical School. Research Associate Núcleo de Ações e Pesquisa em Apoio Diagnóstico (Nupad).

2 Adjunct Professor, Department of Speech, Language and Hearing Pathology, Faculty of Medicine, Federal University of Minas Gerais - UFMG - Belo Horizonte (MG) - Brazil. Research Associate Núcleo de Ações e Pesquisa em Apoio Diagnóstico (Nupad).

3 Adjunct Professor, Department of Pediatrics, Faculty of Medicine, Federal University of Minas Gerais - UFMG - Belo Horizonte (MG) - Brazil. Research Associate Núcleo de Ações e Pesquisa em Apoio Diagnóstico (Nupad).

4 Adjunct Professor, Department of Pediatrics, Faculty of Medicine, Federal University of Minas Gerais - UFMG - Belo Horizonte (MG) - Brazil.

Address for correspondence: Débora Marques de Miranda. Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia em Medicina Molecular, Universidade Federal de Minas Gerais. Av. Prof. Alfredo Balena 190, Santa Efigênia – 30130-100 – Belo Horizonte, MG, Brazil. E-mail: debora.m.miranda@gmail.com. Telephone number: 00 55 31 3409-9750.

Abstract

Purpose: This study aims to review literature about frequency of lesions, related risks and treatment outcomes in congenital toxoplasmosis to answer the question: Does Congenital toxoplasmosis really jeopardize the auditory development in infants? As a secondary question we ask if the treatment impacts on the results. **Data source:** The search for theoretical reference on the subject studied was carried out in the databases PubMed and Latin American and Caribbean Literature in Health Sciences (Lilacs) / Virtual Health Library (VHL). Original manuscripts indexed and published in Portuguese, English or Spanish, involving children with vertical transmission of toxoplasma and evaluated from zero to 24 months of age were included. **Summary of findings:** Among 206 articles, only 18 fully met the eligibility criteria. Hearing loss was associated with congenital toxoplasmosis. Among children with hearing loss, 144 individuals had sensorineural, 39 retrocochlear and, 30 conductive type of hearing loss. In the reviewed studies, the affected children frequently have hearing impairment as comorbidity with neurologic and visual lesions. About congenital toxoplasmosis treatment, pyrimethamine and sulfadiazine were commonly the chosen medications associated with folinic/folic acid. The frequencies of lesions/sequelae drop drastically after treatment during pregnancy or postpartum. **Conclusions:** Congenital toxoplasmosis causes several auditory disorders but these auditory alterations are minimized by drug treatment. Literature evidence is too poor to undertake multi-step screening programs to avoid the complications of congenital transmission.

Keywords: Congenital Toxoplasmosis; Hearing Loss; Deafness; Child.

1. INTRODUCTION

About a century ago, *Toxoplasma* parasite cysts were first identified in the retina of an eleven-month-old baby with clinical changes and its congenital transmission. Callahan, Russell & Smith (1946) reported the *Toxoplasma gondii* on the histological examination of the mastoid of a six-week-old baby after a total mastoidectomy. Congenital toxoplasmosis results from the transfer of the protozoan *Toxoplasma gondii* through the placenta to the fetus. Commonly, fetal disease is the result of a maternal acute infection but, remaining placental parasites may still and reach the fetal circulation (Couvreur and Desmonts 1962; Desmonts and Couvreur 1974). It justifies treatment maintenance during the whole gestation, even when the fetus does not have any evidence of infection (Remington, McLeod, Thulliez and Desmonts 2016).

Around the world, the occurrence of congenital toxoplasmosis is quite variable. In developed countries, secondary prophylaxis and control programs decreases the seroprevalence rates in pregnant or fertile women (Garcia-Méric et. al, 2010; Lopes-Mori et. al, 2011, McDonald et. al., 2015, Berghold et. al, 2016; Prusa et. al, 2017). In developing countries, the seroprevalence of toxoplasmosis in the general population ranges from 40 to 90% depending on the region (Mitsuka-Bregano et. al., 2003, Barbosa et. al, 2009). Using a matched serology of mother and her baby to establish the diagnosis of Congenital Toxoplasmosis, the incidence of congenital toxoplasmosis was of 1 newborn for every 1,000 born alive in a city of Northeast Brazil (Bichara 2012). While the prevalence in the southeast is of 0.13% (Vasconcelos-Santos et al., 2009).

Toxoplasmosis in the mother / child binomial is usually asymptomatic and diagnosis is possible with the serology in pregnant and newborn (Wallon et al., 2004; Carellos et. al, 2014). According to Lebech et. al. (1996), the serological evaluation of toxoplasmosis in the mother / child binomial motivated the European Research Network

on Congenital Toxoplasmosis to propose a diagnostic classification based on serological, parasitological and clinical criteria (Frame 1). This classification was considered reliable for application in different countries and health services.

Frame 1: Adaptation of Classification based on serological, parasitological and clinical criteria (Lebech, 1996).

Confirmed Infection	Probable Infection	Possible Infection	Improbable Infection
-seroconversion during pregnancy; -confirmed congenital infection in the concept; and - positive culture of maternal blood.	- seroconversion with the first blood sample collected 2 months before conception; - significant increase of IgG and presence of IgM or IgA; - high IgG titers, presence of IgM or IgA and lymphadenopathy; and - high titers of IgG, presence of IgM or IgA in the second half of gestation.	- high and stable titers of IgG and negative IgM in the second half of gestation; and - high titers of IgG and IgM or IgA positive in the first half of gestation.	- low and stable IgG titers with or without IgM; and - high and stable IgG titers and negative IgM at the beginning of gestation.

Clinically, congenital toxoplasmosis is characterized by the triad of symptoms including retinochoroiditis, intracranial calcifications and hydrocephalus (Dunn et al., 1999). Though it may manifest with severe complications, such as miscarriage, fetal developmental retardation, encephalitis, neurological, mental illnesses, visual, and auditory inflammatory disorders, cardiovascular abnormalities, and pains (McLeod et al., 2006). Congenital toxoplasmosis is a known risk factor for neurosensorial hearing loss (Joint Committee on Infant Hearing Year 2000; Andrade et al., 2008; Reis 2014;).

The peripheral auditory system is fully formed at birth, while the central auditory system matures throughout the first years of life. The auditory deficit is triggered by the inflammation and intracranial calcifications reaching the inner ear (Kelemen 1958). The presence of *T. gondii* causes an inflammatory response in the internal acoustic meatus and the immune reaction damage of the vestibulocochlear nerve explains the occurrence of retrocochlear alterations (Salviz et al., 2013). Children with congenital toxoplasmosis may have altered language development compromising their skills and the academic learning (Berrébi et al., 2010).

In the study of Cortina-Borja et. al, (2010), the researchers followed 293 children in whom congenital toxoplasmosis had been identified by prenatal screening (in France, Austria, and Italy) or by neonatal screening (in Denmark, Sweden, and Poland) for an average 4 years. Two-thirds of the children received prenatal treatment for toxoplasmosis and 23 fetuses (8% of the fetuses) developed serious neurological sequelae (SNSD); nine of these cases of SNSD were terminated during pregnancy. By comparing the number of cases of SNSD among children who received prenatal treatment with the number among children who did not receive prenatal treatment, the researchers estimate that prenatal treatment reduced the risk of SNSD by three-quarters. Prenatal treatment reduced the risk of serious neurological sequelae, but, this must be interpreted with caution because of the low number of serious neurological sequelae cases and uncertainty about the timing of maternal seroconversion.

Villard et al. (2015) proposed different follow-up for different forms of the disease, such as congenital toxoplasmosis, immunosuppressed situations, and ocular toxoplasmosis, highlighting the importance of the serological test chosen in identifying infection and the subsequent prevention of the disease. The authors also emphasized the importance of the interpretation of the results and the association of IgA with IgM class

antibodies characterizing the acute infection (Villard et. al, 2016). However, in developing countries, most public health services do not perform more than one serological assay during antenatal care, and do not offer an avidity assay to estimate the date of maternal infection. Nonetheless, the use of these laboratory assays performed during pregnancy could help to guide clinical decision confirming the presence or absence of acute maternal infection (Augustine, 2016; Pomares & Montoya, 2016).

Considering the early identification of hearing loss and the beginning of rehabilitation are essential for the development of speech, language and other impactful cognitive functions, we perform an integrative review about the auditory lesion related to Congenital Toxoplasmosis. We reviewed about its frequency, related risks and the auditory-deficits associated. The guiding question was: Does Congenital toxoplasmosis really jeopardize the auditory development in infants? As a secondary question, we asked if the treatment impacts on auditory results.

2. METHODS

This review of the literature uses the criteria established by the Cochrane Handbook through the following steps: definition of the guiding questions (the subject to be researched), choice of the databases, how to locate the studies, selection and critical analysis of the articles (Higgins and Green 2011).

Firstly, an electronic search was conducted in the databases of the Online System of Search and Analysis of Medical Literature (Medline) / PubMed, Latin American and Caribbean Literature in Health Sciences (Lilacs), conducted by a combination search of two sets of Keywords using the boolean operators AND and OR. The descriptors "Toxoplasmosis Congenital" AND, "Hearing Loss" OR "Deafness" (through consultation with the Descriptors in Health Sciences - DeCS) were chosen,

their respective correspondents in Portuguese and Spanish. We included only manuscripts with observational and original full-data available, published in English, Portuguese and Spanish; studies targeting children diagnosed with congenital toxoplasmosis and which evaluated the auditory system and without time restrictions. We excluded articles that evaluated children diagnosed older than 24 months of age, studies reporting co-infection or the chance of a selective analysis, such as studies reporting congenital toxoplasmosis in individuals who have already died. Evaluation of the titles and abstracts was performed by at least two researchers, independently and blindly, obeying rigorously the inclusion and exclusion criteria defined in the search protocol. When the title and abstract were not enlightening, full article was retrieved. A complete reading from the selected articles allowed to extract relevant points of each study and synthesize them into tables to homogenize the information. Every step was done by the first and second authors, and the doubts were taken to discussion with other authors. According to Strobe (2007) the points observed were: title and abstract, context, objective, study design, participants, variables and main results.

3. RESULTS

By the combination of the descriptors and free terms mentioned above, 206 articles were found in the electronic search. Applying the inclusion criteria, 18 manuscripts were included, six of which were retrieved from the cited works (Figure 1). The general characteristics of each one, such as author, year of publication, country of achievement, study design, relevant points regarding the characterization of the samples, objectives, main results and drug treatments are summarized in Table 1. Four studies were carried out in Brazil (Andrade et al., 2008; Resende et al., 2010; Pereira et al., 2014; Leite Filho et al., 2017) eight in the United States of America (Stagno et al.,

1977; Wilson et al., 1987; Halpner, Hosford-Dunn and Malachowsk 1987; McGee et al., 1992; McAuley et al., 1994; Roizen et al., 1995; McLeod et al., 2006; Olariu, Remington and Montoya 2014) two in France (Couvreur, Desmonts and Girre 1976; Daffos et al., 1988) and one study conducted in other different country (Saudi Arabia, Italy, Greece and Thailand) (Muhaimed 1996; Ratynska et al., 2001; Galanakis et al., 2007; Pengsaa and Hattasingh 2015).

The eleven texts selected for review (Couvreur, Desmonts and Girre 1976; Stagno et al., 1977; Wilson et al., 1987; Halpner, Hosford-Dunn and Malachowsk 1987; McGee et al., 1992; Muhaimed 1996; McLeod et al., 2006; Andrade et al., 2008; Resende et al., 2010; Pengsaa and Hattasingh 2015; Leite Filho et al., 2017) allowed us to find 253 children with hearing disorders in a total of 1375 children surveyed, four of which the children were identified in screening programs (Andrade et al., 2008; Resende et al., 2010; Pereira et. al, 2014; Leite- Filho et al., 2017). At 1950s report, the auditory alterations were associated with a huge lethality (25%). Among children with hearing loss, 144 were diagnosed with sensorineural hearing loss, 39 were retrocochlear and 70 conductive (Couvreur, Desmonts and Girre 1976; Stagno et al., 1977; Wilson et al., 1987; Halpner, Hosford-Dunn and Malachowsk 1987; McGee et al., 1992; McLeod et al., 2006; Andrade et al., 2008; Resende et al., 2010; Pengsaa and Hattasingh 2015; Leite Filho et al., 2017) types. Only three studies (Muhaimed 1996; Ratynska et al., 2001; Galanakis et al., 2007) were based on neonatal auditory screening programs or neonatal auditory evaluation. These three point to congenital toxoplasmosis within perinatal infections as one of the major congenital infections due to its prevalence and potential auditory, visual and neurological damage.

According to the drug treatment protocol for congenital toxoplasmosis, the most frequent used medicine was pyrimethamine and sulfadiazine, commonly associated with

folinic acid (Couvreur, Desmots and Girre 1976; Wilson et al., 1987; Daffos et al., 1988; Wilson et al., 1987; McAuley et al., 1994; McLeod et al., 2006; Galanakis et al., 2007; Andrade et al., 2008; Resende et al., 2010; Olariu, Remington and Montoya 2014; Leite Filho et al., 2017). Thirty one children have moderate degree of hearing loss, only 30 of them were due to chronic otitis and the others were sensorineural hearing losses (Wilson et al., 1987; Wilson et al., 1987). Three longitudinal studies (McAuley et al., 1994; Roizen et al., 1995; Galanakis et al., 2007) did not observe auditory alterations in a total of 106 children studied after treatment. It should be emphasized that in two studies (McAuley et al., 1994; Roizen et al., 1995) only the children were medicated and in the other only the pregnant mothers were treated (Olariu et al., 2014; Pengsaa & Hattasingh, 2015).

In two longitudinal studies including 72 children diagnosed with congenital toxoplasmosis (Wilson et al., 1987; Leite Filho et al., 2017) it was possible to observe hearing loss in 40 children. In the study by Wilson et al. 1987, 13 children were diagnosed in the gestational period or soon after birth (Group I) and 11 children diagnosed late because of no signs of infection (Group II). Four children were treated for at least two weeks (Group I - 1, Group II - 3), 11 for at least three weeks of treatment (Group I - 9, Group II - 2) and 11 children did not receive treatment (Group I - 5, Group II - 6).

In a study about the prevalence of hearing loss, serology assay was carried out in 1054 children and IgM positive antibodies to *T. gondii* were found in the blood of 70 children. Among these, 49 (70%) were diagnosed with the bilateral sensorineural hearing loss. High prevalence of sensorineural hearing loss among children at risk for *T. gondii* infection was observed. They did not report the use of any treatment (Muhaimed 1996).

According to the McGee study (McGee et al., 1992), auditory evaluation was performed through the Brain Stem Auditory Evoked Potential in 30 infants with congenital toxoplasmosis, among them six children had moderate-type of conductive hearing loss caused by otitis media. Although these findings may not differ from the population at large, a number of factors may predispose such congenitally infected children to bacterial otitis media.

4. DISCUSSION

This review was not limited by time. Since 1950, we have found only twelve case series studies looking at auditory deficits in children with congenital toxoplasmosis. Early identification and drug treatment before one year of life seem to allow timely treatment with the reduction or elimination of sequelae (cerebral calcifications, retinochoroiditis and auditory alterations). (McLeod et al., 2006; Andrade et al., 2008; Resende et al., 2010; Pereira et al., 2014; Leite Filho et al., 2017).

In this review, the frequencies of hearing loss across studies are entirely different. But there are too many factors as the interactions between host and agent, heterogeneous treatments and infection in different times of gestation that can be evolved at this variability. The evidence suggests that the treatment may modify the impact of the infection and the related deficits. Both treatment, postnatal or during pregnancy, seems to decrease the rates of severe complications such as the auditory impairment (Lopis-Mori et al., 2011; Carellos et al., 2014). The study Vasconcelos-Santos & Andrade (2011) this has been hypothesized to be related at least in part to highly virulent atypical strains of *Toxoplasma gondii* that have been isolated in the New World. Among the studies evaluating children after treatment, the frequency of audiological alterations ranged from 3.5% to 44% (Couvreux, Desmonts e Girre, 1976;

Wilson et al., 1987; Daffos et al., 1988; Wilson et al. , 1987; McAuley et al., 1994; McLeod et al., 2006; Galanakis et al., 2007; Andrade et al., 2008; Resende et al., 2010; Leite Filho et al. , 2017), while those without any treatment, the frequency of hearing loss ranged from 6% to 75% (Stagno et al., 1977; Halpner, Hosford-Dunn and Malachowsk 1987; Muhaimed 1996; Ratynska et al., 2001; Olariu, Remington e Montoya 2014; Pereira et. al, 2014; Pengsaa and Hattasingh 2015).

Among 18 identified articles, ten were performed using a methodology that enabled the identification of the frequency of hearing loss. Identified frequencies ranged from zero to 75%. Studies reporting zero frequency of Congenital Toxoplasmosis have in common the early pharmacological treatment of the pregnant and / or child after birth. The hearing compromise seems to be associated with severe cases with neurological sequelae. In the study of Resende et al., (2010), the proportion found was 43.39% of auditory alterations toxoplasmosis-related. In the study by Pereira et al., (2014), which evaluated 8974 newborns born in a maternity hospital in São Paulo, the proportion of auditory system alterations toxoplasmosis-related were 10.9% of full-term children.

In the same study by Resende et al., (2010), among 106 infected children, 56.6% have normal hearing, 12.3% conductive changes, 3.8% cochlear alterations and 27.4% retrocochlear alterations. Another study, 48 affected children, 56.3% had normal hearing, 20.8% had conductive changes, 21.1% had cochlear, and 20.8% had retrocochlear alterations. The proportions of sensorineural hearing loss and conductive changes were similar to studies evaluating the hearing of neonates in the general population (Pereira et al., 2014). In the study of Leite Filho et al. (2017), 20.8% of retrocochlear alterations were observed in children of the congenital toxoplasmosis group and no children with retrocochlear alterations in the control group.

Regarding the types of hearing loss, in children submitted to treatment, there was a high frequency of retrocochlear alterations. Thus, children with congenital toxoplasmosis treated at birth tend to have changes in the central auditory system and no sensorineural changes as frequently found in children with untreated or late treatment toxoplasmosis. Besides these assumptions, there is considerable heterogeneity in the studies included in this review, with none methodological standardization about the sampling and profile of the children evaluated, which certainly contributed to the huge variability in the expression the hearing loss findings. The methodological differences are a common limitation in systematic review studies (Galvão, Sawada and Trevizan 2004; Martins, Thuler and Valente 2005; Casado, Viana and Thuler 2009). Also the protozoa-host characteristics, such as the gestational age of maternal disease, the immune status of the mother and the infected child, the parasite load and the strain type influence the possibility of transmission of toxoplasmosis and the clinical presentation of the disease (Dunn et al., 1999; Remington, McLeod, Wilson and Desmonts 2016). The presence of heterogeneity ends up reducing the strength of the conclusions generated in the systematic review (Khan et al., 2006).

However, despite all these limitations, apparently, the decrease of prevalence of injuries and sequelae are directly related to the implementation of the treatment. From the 18 studies included, 12 studies (in a total of 427 individuals studied) reported the treatment of the infected mother or child-only, resulting in a lower frequency of hearing loss in treated children. Actually, medical assistance includes trimestral search for congenital toxoplasmosis, and in many scenarios, the universal neonatal screening program for congenital toxoplasmosis. As there are few studies, we cannot understand at this point in time if the changes were promoted by prenatal or postnatal programs or

even if there is a need of this multi-step prevention searches. Cost-effectiveness studies must address these features in such preventable disorders programs.

Only one study (Wilson et al., 1987) observed moderate sensorineural hearing loss, 30% in group I (13 children the diagnosis was made prospectively) and 22% in group II (11 children no symptoms or signs were noted in the newborn period and the diagnosis was made only after the first sign of disease). With this, untreated children had a higher prevalence of hearing loss. Postnatal treatment of congenital toxoplasmosis has been indicated to reduce recurrence of the lesions (Vallochi et al., 2005; Remington, McLeod, Wilson and Desmonts 2006).

The findings of this review corroborate the need for diagnostic evaluation if early treatment of toxoplasmosis as a way to minimize the sequelae and auditory consequences of toxoplasmosis. However, the studies are too few for any assumption about congenital toxoplasmosis. More studies could help to understand the real need of screening programs and the risk factors or who should be the target population to this health problem.

According to the literature, in general, the most commonly used drugs for the treatment pregnant are: Spiramycin (indicated in the first trimester of pregnancy to treat pregnant women with acute infection, due to the fact of not crossing the placental barrier offering no risk to the fetus). The combination of sulfadiazine and pyrimethamine, associated with folinic acid, is indicated for pregnant women at gestational age greater than 18 weeks. Spiramycin is an antibiotic that does not cross the placenta and its use, at the beginning of pregnancy was associated with a decrease in the frequency of vertical transmission. It is indicated for women with suspected acute toxoplasmosis or acquired at the beginning of pregnancy (Mitsuka-Breganó et al., 2010). However, spiramycin efficacy for preventing congenital toxoplasmosis has been

questioned by groups of European researchers (Gilbert and Gras 2003; Syrocot et al., 2007). The combination of pyrimethamine, sulfadiazine and folinic acid is indicated for pregnant women diagnosed with acute toxoplasmosis, suspected or confirmed in the second or third trimester of pregnancy (Martins, Thuler and Valente 2005). The treatment of children with congenital toxoplasmosis, suspected or confirmed, must be carried out since birth, using the treatment regimen. In confirmed cases of congenital toxoplasmosis treatment should extend up to one year of age. The duration and dosage of pharmacological treatment vary among referral centers worldwide (Remington, McLeod, Wilson and Desmonts 2016). In general, severe forms of congenital toxoplasmosis (cerebral calcifications, hydrocephalus, microcephaly, seizures or microphthalmia) are treated with the combination of sulfadiazine and pyrimethamine for one year. A full dose of pyrimethamine should be maintained (1 mg/kg/day) at least in the first six months, followed by a reduced daily dose (0.5mg/kg/day), or on alternate days in the remaining six months (McLeod et al., 2006; Remington, McLeod, Wilson and Desmonts 2016).

Nine articles informed about the use of drugs, all treated children with pyrimethamine and sulfadiazine and only in two studies an association with the folinic acid was reported. Duration of drug treatment was the same for all evaluated studies, an average of 12 months. Minimize auditory deficit is one of the key points to justify prenatal and neonatal screening programs, with an epidemiological follow-up that guarantee treatment both in the pre- or at least neonatal period as a way to minimize sensory deficits in children exposed to *Toxoplasma* during the embryonic and fetal stages. Are we still in need of neonatal screening programs for Congenital Toxoplasmosis for all population?

5. CONCLUSION

Heterogeneity among the results from few studies and few cases is the hallmark. However, it was possible to identify that congenital toxoplasmosis can cause several auditory alterations in special sensorineural hearing loss when untreated. Use of pharmacological treatment for pregnant or infants with an early diagnosis of congenital toxoplasmosis seems to minimize the hearing loss. Besides, congenital toxoplasmosis has been investigated since the 50s, but it still comprises an understudied field and more data are necessary to have a better picture about the real need for multiple-step prevention programs.

REFERENCES

- Augustine, S.A.J. Towards universal screening for toxoplasmosis: rapid, cost-effective and simultaneous detection of *Toxoplasma* anti-IgG, IgM and IgA antibodies using very small serum volumes. *J Clin Microbiol* 2016; 54:1684-1685.
- Andrade, G. M. Q., Resende, L. M., Goulart, E. M. A., Siqueira, A. L., de Almeida Vitor, R. W., Januario, J. N. (2008). Hearing loss in congenital toxoplasmosis detected by newborn screening. *Brazilian Journal of Otorhinolaryngology*, 74(1), 21–28.
- Barbosa, I.R., Holanda, C.M.C.X., de Andrade-Neto, V.F. Toxoplasmosis screening and risk factors amongst pregnant females in Natal, northeastern Brazil. *Trans R Soc Trop Med Hyg.* 2009;103:377-82.
- Berghold, C., Herzog, S.A., Jakse, H., Berghold, A. Prevalence and incidence of toxoplasmosis: a retrospective analysis of mother-child examinations, Styria, Austria, 1995 to 2012. *Euro Surveill.* 2016 Aug 18;21(33). doi: 10.2807/1560-7917.ES.2016.21.33.30317.
- Berrébi, A., Assouline, C., Bessieres, M.H. et al. (2010). Long-term outcome of children with congenital toxoplasmosis. *Am J Obstet Gynecol*; 203: 552.e1-6.
- Bichara, C.N.C. et al. (2012). Incidence of congenital toxoplasmosis in the city of Belém, state of Pará, Northern Brazil, determined by a neonatal screening program: preliminary results. *Rev Soc Bras Med Trop.* 45 (1): 122-124, jan-fev.

- Carellós, E. V. M., Andrade, G. M. Q., Santos, D. V. V., Januario, J. N., Romanelli, R. M. C., Abreu, M. N. S., Silva, F. M., Loures, I. R. C., Andrade, J. Q., Caiaffa, W. T. (2014). Adverse Socioeconomic Conditions and Oocyst-Related Factors Are Associated with Congenital Toxoplasmosis in a Population-Based Study in Minas Gerais, Brazil. *PLOS ONE*. 9(2).
- Casado, L., Viana, L. M., Thuler, L. C. S. (2009). Fatores de risco para doenças crônicas não transmissíveis no Brasil: uma revisão sistemática. *Revista Brasileira de Cancerologia*; 55(4): 379-388.
- Cortina-Borja, M., Tan, H. K., Wallon, M., Paul, M., Prusa, A., Buffolano, W., et al. (2010). European multicentre study on congenital toxoplasmosis (EMSCOT). Prenatal treatment for serious neurological sequelae of congenital toxoplasmosis: an observational prospective cohort study. *PLoS Med*. 7:e1000351. doi: 10.1371/journal.pmed.1000351.
- Couvreur, J., Desmonts, G., Girre, J. Y. (1976). Congenital toxoplasmosis in twins: A series of 14 pairs of twins: Absence of infection in one twin in two pairs. *The Journal of Pediatrics*.
- Couvreur, J., Desmonts, G. Congenital and maternal toxoplasmosis: a review of 300 congenital cases. *Dev Med Child Neurol*. 1962;4:519–530.
- Daffos, F., Forestier, F., Capella-Paulousky, M. et al, (1988). Prenatal management of 746 pregnancies at risk for congenital toxoplasmosis. *N Eng J Med*.;318:271–275.
- Dard, C., Fricker-Hidalgo, H., Brenier-Pinchart, M.P., Pelloux, H. Relevance of and New Developments in Serology for Toxoplasmosis. *Trends Parasitol* 2016; 32:492-506.
- Desmonts, G., Couvreur, J. (1974). Congenital toxoplasmosis. A prospective study of 378 pregnancies. *N Engl J Med*., 290: 1110–1116.
- Dunn, D. et al. (1999). Mother-to-child transmission of toxoplasmosis: Risk estimates for clinical counseling. *Lancet*, v. 353, n. 9167, p. 1829-1833.
- Elsheikha, H.M. (2008). Congenital toxoplasmosis: Priorities for further health promotion action. *Public Health*. Vol 122 (4), 335–353.
- Frenkel, J.K. (1996). Toxoplasmosis. In: Veronesi R, Focaccia R, editors. *Veronesi: Tratado de infectologia*. São Paulo: Atheneu; 1290-305.
- Galanakis, E. et al. (2007). Outcome of toxoplasmosis acquired during pregnancy following treatment in both pregnancy and early infancy. *Fetal Diagnosis and Therapy*, v. 22, p. 444–448.

- Galvão, C. M., Sawada, N. O., Trevizan, M. A. (2004). Revisão sistemática: recurso que proporciona a incorporação das evidências na prática da enfermagem. *Rev Latino-am Enfermagem*; 12(3):549-56.
- Garcia-Méric, P., Franck, J., Dumon, H., Piarroux, R. Management of congenital toxoplasmosis in France: current data. *Presse Med.* 2010 May;39(5):530-8.
- Gilbert R., Gras, L. Effect of timing and type of treatment on the risk of mother to child transmission of *Toxoplasma gondii*. *BJOG - An International Journal of Obstetrics and Gynaecology*, v. 110, n. 2, p. 112-120.
- Halpner, J., Hosford-Dunn, H., Malachowski, N. (1987). Four Factors that Accurately Predict Hearing Loss in “High Risk” Neonates. *Ear and Hearing*, 8(4).
- Higgins, J.P., Green, S. (2011). *Cochrane Handbook for Systematic Reviews of Interventions Version 5.1.0* [homepage on the Internet]. March 2011 [cited October 2015]. The Cochrane Collaboration, 2011. Available from: <http://handbook.cochrane.org/>.
- Joint Committee on Infant Hearing. Year (2000) position statement: principles and guidelines for early hearing detection and intervention programs. *Pediatrics*; 106:798-817.
- Kawarabayashi, M., Borges, M.M., Tolezano, J.E., Jr Ilfa. (1993). Regional variation in toxoplasmosis seronegativity in the São Paulo Metropolitan region. *Rev Soc Bras Med Trop São Paulo*.35:479-83.
- Kelemen, G. (1958). Toxoplasmosis and Congenital Deafness. *A M A Arch Otolaryngol.* 68:547-61.
- Khan, A., Jordan, C., Muccioli C, et al. (2006). Genetic divergence of *Toxoplasma gondii* strains associated with ocular toxoplasmosis, Brazil. *Emerg Infect Dis*.12:942-9.
- Lebech, M., Joynson, D.H., Seitz, H.M., Thulliez, P., Gilbert, R.E., Dutton, G.N., et al. Classification system and case definitions of *Toxoplasma gondii* infection in immunocompetent pregnant women and their congenitally infected offspring. European Research Network on Congenital Toxoplasmosis. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 1996 Oct; 15(10):799-805.
- Leite Filho, C. A., Lagreca, L. C. C., Jesus, N. O. de, Corvaro, C. P., Ferrarini, M. A. G., Monteiro, A. I. M. P., & Azevedo, M. F. de. (2017). Alterações auditivas em crianças expostas à toxoplasmose durante a gestação. *Revista CEFAC*, 19(3), 330–339.
- Lopes-Mori, F. M. R., Mitsuka-Breganó, R., Capobianco, J. D., Inoue, I. T., Reiche, E. M. V., Marimoto, H. K., Casella, A. M. B., Bittencourt, L. H. F. B., Freire, R. L.,

- Navarro, I. T. (2011). Programas de controle da toxoplasmose congênita. *Rev Assoc Med Bras*, 57(5):594-599.
- Martins, L. F. L., Thuler, L. C. S., Valente, J. G. (2005). Cobertura do exame de Papanicolau no Brasil e seus fatores determinantes: uma revisão sistemática da literatura. *Rev Bras Ginecol Obstet*. 27(8):485-92.
- McAuley, J., Boyer, K.M., Patel, D. et al. (1994). Early and longitudinal evaluations of treated infants and children and untreated historical patients with congenital toxoplasmosis: the Chicago Collaborative Treatment Trial. *Clin. Infect. Dis.* 18(1), 38–72.
- McDonald, S.A., Devleeschauwer, B., Speybroeck, N., Hens, N., Praet, N., Torgerson, P.R., Havelaar, A.H., Wu F., Tremblay, M., Amene, E.W., Döpfer, D. Data-driven methods for imputing national-level incidence in global burden of disease studies. *Bull World Health Organ*. 2015 Apr 1;93(4):228-36. doi: 10.2471/BLT.14.139972.
- McGee, T., Wolters, C., Stein, L., Kraus, N., Johnson, D., Boyer, K., et al. (1992). Absence of sensorineural hearing loss in treated infants and children with congenital toxoplasmosis. *Otolaryngol Head Neck Surg*; 106(1):75-80.
- McLeod, R., Boyer, K., Karrisont, T., Kasza, K., Swisher, C., Roizen, N., Jalbrzikowski, J., Remington, J., Heydemann, P., Noble, A.G., Mets, M., Holfels, E., Withers, S., Latkany, P., Meier, P. (2006). Toxoplasmosis study group. Outcome of treatment for congenital toxoplasmosis, 1981-2004: the National Collaborative Chicago-Based, Congenital Toxoplasmosis Study. *Clin Infect Dis*; 42: 1383-1394.
- Mitsuka-Breganó R., Lopes-Mori FMR, Navarro IT. orgs.(2003). Toxoplasmose adquirida na gestação e congênita: vigilância em saúde, diagnóstico, tratamento e condutas [online]. Londrina: EDUEL, 2010. 62 p. ISBN 978-85-7216-676-8. Available from SciELO Books.
- Muhaimed, H. (1996). Prevalence of sensorineural hearing loss due to toxoplasmosis in Saudi children: a hospital-based study. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol*. Jan;34(1-2):1-8.
- Olariu, T. R.; Remington, J. S.; Montoya, J. M.; (2014). Polymerase Chain Reaction in Cerebrospinal Fluid for the Diagnosis of Congenital Toxoplasmosis. *The Pediatric Infectious Disease Journal*, 33(6), June.
- Pengsaa, K., Hattasingh, W. (2015). Congenital toxoplasmosis: an uncommon disease in Thailand. *Paediatr. Int. Child Health*; 35: 56–60.

- Pereira, T., Cristina Costa, K., Pomilio, M. C. A. , Costa, S. M. S., Rodrigues, G. R. I. Sartorato, E. L. (2014). Etiological investigation of deaf in neonates screened in a universal newborn hearing screening program. Mar-Abr, 16(2), 422–429.
- Pomares, C., Montoya, J.G. Laboratory diagnosis of congenital toxoplasmosis. J Clin Microbiol 2016; pii: JCM.00487-16.
- Prusa, A.R., Kasper, D.C., Sawers, L., Walter, E., Hayde, M., Stillwaggon, E. Congenital toxoplasmosis in Austria: Prenatal screening for prevention is costsaving. PLoS Negl Trop Dis. 2017 Jul 10;11(7):e0005648. doi: 10.1371/journal.pntd.0005648. eCollection 2017 Jul.
- Ratynska et al. (2001).Correlations between risk factors for hearing impairment and TEOAE screening test outcome in neonates at risk for hearing loss. Scand Audiol. 30: Suppl 52: 15-17.
- Reis, A.F.P.S. (2014). Toxoplasmose Congênita e o risco para a perda auditiva: estudo de caso. Trabalho apresentado como conclusão de curso (Bacharel em Fonoaudiologia) – Universidade Tuiuti do Paraná.
- Remington, J.S., McLeod, R., Thulliez, P., Desmots, G. (2016). Toxoplasmosis. In: Remington JS, Klein JO, Wilson CB, Baker CJ, eds. Infectious Diseases of the Fetus and Newborn Infant, 8.ed. Philadelphia: *Elsevier-Saunders*. p. 948-1091.
- Resende, L. M., Andrade, G. M. Q., Azevedo, M. F., Perissinoto, Vieira, A. B. C., (2010). Congenital toxoplasmosis: Auditory and language outcomes in early diagnosed and treated children, Congenital Toxoplasmosis Brazilian Group of the Universidade Federal de Minas Gerais (CTBG-UFMG)*. *Scientia Medica* (Porto Alegre), 20(1), 13–19.
- Roizen, N., Swisher, C. N., Stein, M. A., Hopkins, J., Boyer, K. M., Holfelsil, E., McLeod, R. (1995). Neurologic and Developmental Outcome in Treated Congenital Toxoplasmosis MDII; Signs of active central nervous system infec. *Pediatrics*, 95(11).
- Sáfadi, M.A.P.; Farhat, C.K. Toxoplasmose. In:Farhat, C.K., Carvalho, E.S., Carvalho, L.H.F.R., Succi, R.C.M. Infectologia pediátrica. 2a ed. São Paulo: *Atheneu*; 612-9. 1999.
- Salviz, M., Montoya, J.G., Nadol, J.B., Santos, F. (2013). Otopathology in Congenital Toxoplasmosis. *Otol Neurotol*. August; 34(6): 1165–1169.
- Stagno, S., Reynolds, D. W., Amos, C. S., Dahle, A. J., McCollister, F. P., Mohindra, I., Ermocilia, R., Alford, C. A. (1977). Auditory and visual defects resulting from

symptomatic and subclinical congenital cytomegaloviral and toxoplasma infections. *Pediatrics*, 59(5), 669–678.

Syrocot et al. (2007). Effectiveness of prenatal treatment for congenital toxoplasmosis: a metaanalysis of individual patients' data. *Lancet*, v. 369, n. 9556, p. 115-22.

Vasconcelos-Santos, D.V., Azevedo, D.O.M., Campos, W.R., Oréface, F., Queiroz-Andrade, G.M., Carellos, É.V.M., et al. Congenital Toxoplasmosis in Southeastern Brazil: Results of Early Ophthalmologic Examination of a Large Cohort of Neonates. *Ophthalmology*. 2009; 116:2199-205.

Vasconcelos-Santos, D.V.; Queiroz Andrade, G.M. Geographic difference in outcomes of congenital toxoplasmosis. *Pediatr Infect Dis J*. 2011 Sep;30(9):816-7; author reply 817. doi: 10.1097/INF.0b013e31822426a6.

Villard, O., Cimon, B., L'Ollivier, C., Fricker-Hidalgo, H., Godineau, N., Houze, S., et al. Serological diagnosis of *Toxoplasma gondii* infection. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2016; 84:22-33.

Wallon, M., Kodjikian, L., Binquet, C., Garweg, J., Fleury, J., Quantin, C., et al. Long-term ocular prognosis in 327 children with congenital toxoplasmosis. *Pediatrics*. 2004 Jun; 113(6):1567-72.

Wilson, C.B., Remington, J.S., Stagno, S., Reynolds, D.W. (1980). Development of adverse sequelae in children born with subclinical congenital *Toxoplasma* infection. *Pediatrics*; 66(5):767-74.

Figure 1. Flowchart of Integrative Review

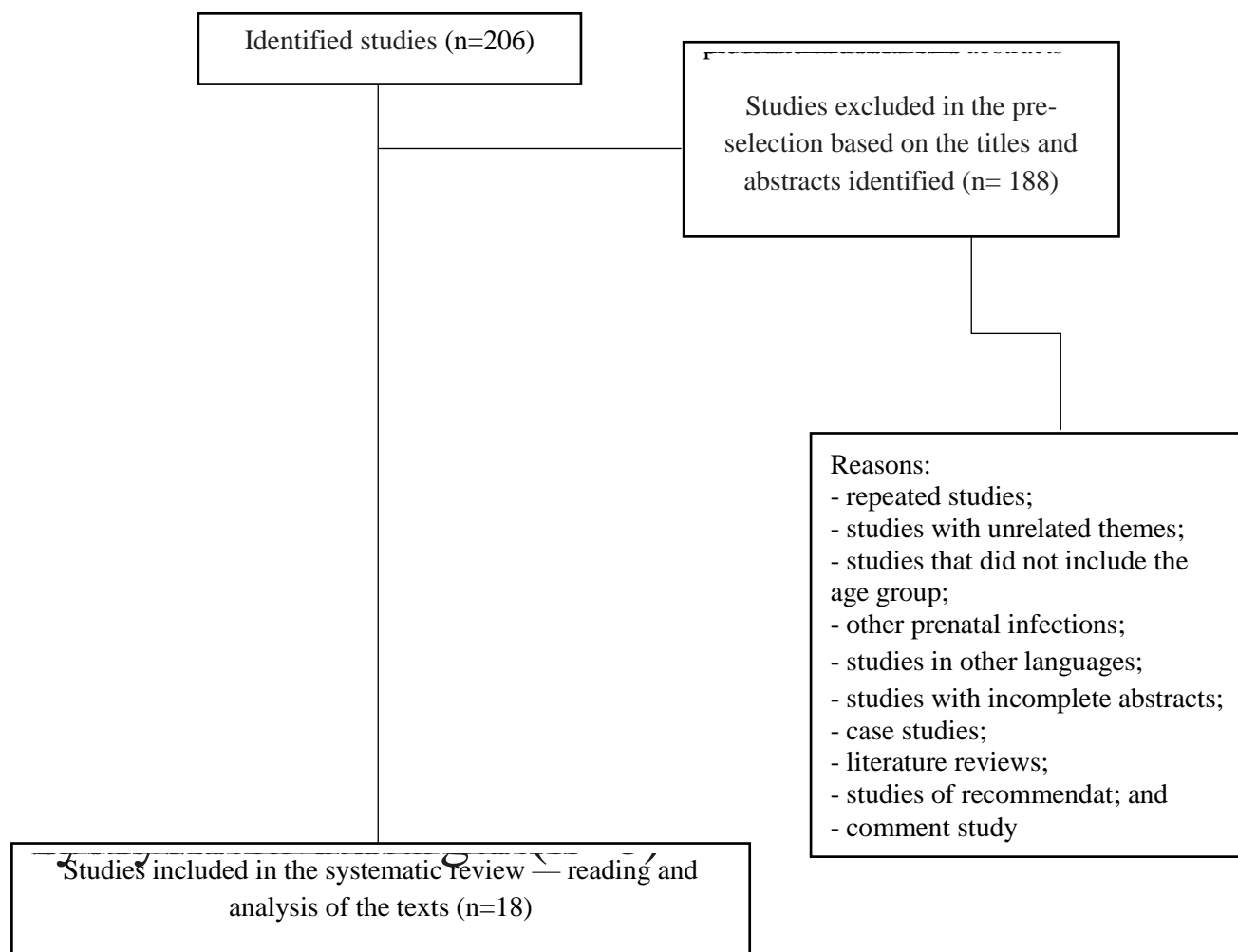


Table 1 Studies general characteristics, relevant information regarding the studied sample , objectives and main results of the studies included in the systematic review of the literature.

Author / Year / Country	Study Design Study Time (follow-up)	Sample (n)	Study Objective	Mean age of children Auditory assessment	Main Results	Pregnant and/or Newborns treated Treatment time
Couvreur et al., 1976 France	Prospective Study	14 pairs of twins with congenital toxoplasmosis.	To evaluate 14 pairs of twins studied regarding the clinical and biological disparities of congenital toxoplasmosis.	Cases 2A e 2B: one child 3 years of age, she was discovered to have a cochlear deafness.	It was possible to identify hearing loss in a child.	They were treated with pyrimethamine and sulfamerazine for 21 days.
Stagno et al., 1977 United States of America	Prospective Study	133 patients were examined, they were low-income and black children aged 2 to 104 months.	To evaluate visual and auditory sequelae due to congenital, symptomatic and subclinical cytomegalovirus and toxoplasmosis.	Grayson Stadler audiometer (model 1704), hearing sensitivity was assessed by the pure tone and speech audiometry in sound field and/or with earphones.	Five cases of hearing loss from the twelve infants diagnosed with congenital toxoplasmosis were found in the sample. Of these, three infants died due to serious infections and the histopathological study showed the distribution of viral antigens in cochlear structures.	-
Wilson et al., 1980 United States of	Longitudinal Study	Congenital Toxoplasma infection was studied in	Describe tracking results of 24 children born with	The age of the children ranged from 1 month to 9.3 years. Hearing was measured by pure-tone	The incidence of sensorineural hearing loss in children tested in group I was 30% (3,9) and	Treatment consisted of pyrimethamine and sulfadiazine or

America		<p>24 children with the consent of their parents (Group I - 13 children diagnosed during pregnancy or at birth; Group II 11 children without any signs of mother or child infection).</p> <ul style="list-style-type: none"> - Untreated (5 children in group I and 6 children in group II); - Treated after signs of the disease for less than 2 weeks (1 group I and 3 of group II); - Treated for at least 3 weeks before 1 year (9 children of group I and 2 of 	congenital toxoplasmosis.	and speech reception threshold audiometry.	that in group II was 22% (2,42). One child in each group had a moderate unilateral hearing loss.	pyrimethamine and trisulfapyrimidines.
---------	--	--	---------------------------	--	--	--

		group II).				
Halpner et al., 1987 United States of America	Prospective Study. Period of 7 years	975 children with congenital toxoplasmosis admitted to a neonatal intensive care unit.	To study the risk factors present in infants with congenital toxoplasmosis.	-	Congenital infections, including Toxoplasmosis, were the cause of frequent hearing loss (33%) even in the absence of other associated indicators. Among the 820 who were successfully followed, 50 babies had confirmed cochlear hearing losses and one baby had a permanent conductive loss..	-
Daffos et al., 1988 France	Prospective Study	746 documented cases of maternal toxoplasma infection, in which the infants were followed for at least three months. Infection was diagnosed antenatally in 39 of 42 fetuses. Twenty-continued.	The aim of this study was to determine the reliability of each diagnostic test in large number of cases and to show that effective pre-natal treatment of toxoplasmosis is possible after the presence of fetal infection has been confirmed.	-	Of the 15 fetuses with congenital toxoplasmosis who were carried to term, all but 2, who had chorioretinitis, remained clinically well during follow-up. Does not show auditory changes.	All the mothers were treated with spiramy-throughout pregnancy; if fetal infection was demonstrated, pyrimethamine and either sulfadoxine or sulfadia- four of the 39 pregnancies were terminated, and 15 were plasmazine were added to the regimen.

<p>McGee et al., 1992 United States of America</p>	<p>Prospective Study</p>	<p>30 congenitally Infected Infants</p>	<p>As part of a pilot study to assess feasibility and safety of prolonged therapy for congenital</p>	<p>ABR were tested in the Auditory Evoked Potential Laboratory of the Siegel Institute (in 2 months of birth).</p>	<p>Six (20%) of the 30 Infants had mild to moderate conductive type hearing loss associated with otitis media. No infant or child had sensorineural hearing loss. The better outcome we observed compared to previous reports of a 15% to 26% incidence of sensorineural hearing loss and 10% to 15% incidence of educationally significant; bilateral hearing impairment may be related to early initiation and/or prolonged Institution of antimicrobial therapy.</p>	<p>All children received medication at birth (pyrimethamine, sulfadiazine, or spramiclin).</p>
<p>McAuley et al., 1994 United States of America</p>	<p>Longitudinal Study</p>	<p>35 children met the inclusion criteria for both treatment and enrollment (between December 1981 and May 1991).</p>	<p>The purpose of the pilot phase of this study was to determine the feasibility and safety of the evaluation and treatment of infants with</p>	<p>ABR were tested in the Auditory Evoked Potential</p>	<p>The patients did not have auditory alterations, however the sequelae of congenital toxoplasmosis were observed.</p>	<p>In general about patients like these drugs: pyrimethamine, sulfadiazine, folic acid and leucovorin. What varied were the treatment time</p>

			congenital toxoplasmosis and to assess the pharmacokinetics of pyrimethamine in these infants.			protocols for each patient.
Roizen et al., 1995 United States of America	Longitudinal Study	They followed and evaluated 36 children with congenital toxoplasmosis, treated early, born between December 1981 and January 1991.	To monitor and evaluate children with congenital toxoplasmosis, treated early.	-	No children had hearing difficulties.	All children received 6 months or more of therapy with Pyrimethamine and sulfadiazine or triple sulfonamide and folic acid and 32 were treated for 1 year with pyrimethamine and sulfadiazine.
Muhaimeed, H., 1996 Saudi Arabia	A cross-sectional study (Prevalence)	Prevalence study of sensorineural hearing loss in Saudi children with congenital toxoplasmosis and age between one (1) and 14 years.	To study the prevalence of hearing loss in Saudi children with congenital toxoplasmosis.	Children aged between one (1) and 14 years.	1054 children and IgM positive antibodies to T. gondii were found in the blood of 70 children. 49 were diagnosed with the bilateral sensorineural hearing loss. Hearing loss with defined causes were excluded. The high prevalence of hearing loss among children at risk for	They did not report the use of any treatment.

					<i>T. gondii</i> infection was confirmed.	
Ratynska et al., 2001 Italy	Prospective Study	They studied 70 newborns with congenital infections for hearing loss (toxoplasmosis, rubella, cytomegalovirus and herpes simplex).	Find correlation between hearing problems and risk factors and also correlate these with otoacoustic emissions results.	The auditory evaluation consisted of otoacoustic emissions evoked by transient stimulus (TEOAE).	Children with risk factors such as TORCHS had a significantly lower amplitude of otoacoustic emissions when compared to children without these risk factors. There were double cases of deafness among children of mothers with high levels of antibodies to <i>T. gondii</i> .	-
McLeod et al., 2006 United States of America	Cohort Study	120 infants with congenital toxoplasmosis.	This analysis characterizes longer-term outcomes that may be expected after carefully monitored treatment with pyrimethamine and sulfadiazine administered throughout the first year of life to infants with congenital <i>Toxoplasma</i> infection at birth.	-	None had hearing loss.	Treatment of infants without substantial neurologic disease at birth with pyrimethamine and sulfadiazine for 1 year resulted in normal cognitive, neurologic, and auditory outcomes for all patients. Treatment of infants who had moderate or severe neurologic disease

						at birth resulted in normal neurologic and/or cognitive outcomes for 72% of the patients, and none had sensorineural hearing loss.
Galanakis et al., 2007 Greece	Longitudinal Study	They evaluated 35 newborns of mothers who acquired congenital toxoplasmosis during gestation.	To accompany newborns of mothers diagnosed with congenital toxoplasmosis and using prenatal care.	-	35 newborns with toxoplasmosis, after treatment the results showed the absence of sequelae.	Congenital toxoplasmosis treated with sulfadiazine, pyrimethamine and folic acid.
Andrade et al., 2008 Brazil	Prospective Study. Period of 1 year.	It analyzed children with congenital toxoplasmosis, identified by the neonatal screening program in Belo Horizonte.	To evaluate the hearing of newborns with congenital toxoplasmosis.	The auditory evaluation consisted of: behavioral observation audiometry, audiometric brainstem response (ABR), transient and distortion product otoacoustic emission, and tympanometry.	20 had serology indicative of congenital toxoplasmosis, 15 (75%) were asymptomatic at birth. 19 children were evaluated by hearing tests, and four had sensorineural deficits (21.1%). One child had another risk factor for hearing impairment. Three had toxoplasmosis alone, two of which were children treated after birth and had	All patients underwent treatment with pyrimethamine and sulfadiazine starting before 2 months of age and lasting up to 12 months.

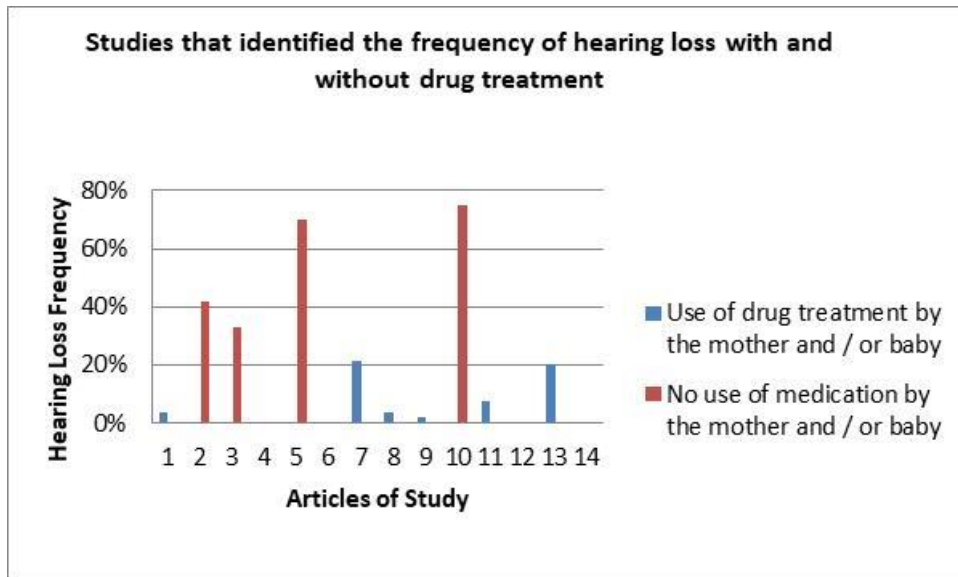
					hearing loss.	
Resende et al., 2010 Brazil	Cross-sectional study. Period of 1 year.	To evaluate 190 children diagnosed with congenital toxoplasmosis by the State Program of Neonatal Screening of Minas Gerais between September 2006 and March 2007.	To describe the audiological and language status in children with congenital toxoplasmosis early diagnosed and treated.	Auditory evaluation consisted of: behavioral observation audiometry, audiometric brainstem response (ABR), transient and distortion product otoacoustic emission, and tympanometry.	106 children were diagnosed with congenital toxoplasmosis. 60 children had normal hearing (56.6%) and 46 children had hearing loss, 13 children (12.3%) had conductive changes, 4 (3.8%) had a sensorineural hearing loss and 29 (27.4%) had hearing loss with retrocochlear involvement. There was an association between hearing loss and language deficit.	All patients underwent treatment with pyrimethamine and sulfadiazine starting before 2.5 months of age and lasting for 12 months, and underwent pediatric, ophthalmologic and speech-language pathology.
Olariu et al., 2014 United States of America	Retrospective study	To evaluate 161 children aged 0 to 180 days.	To study two groups of children: 58 children with congenital infection diagnosed by clinical and serological tests and 103 uninfected children born to untreated	Infants were grouped into 3 convenient age categories: 0–30 (neonates), 31–90 and 91–180 days	Congenital toxoplasmosis was confirmed by CSF in 27 of the 58 serological diagnoses of congenital toxoplasmosis. In 103 children without congenital toxoplasmosis, the frequency of positive spinal brain fluid varied with the presence of clinical symptoms (hydrocephalus in 70.9%, cerebral calcifications in 53.3% and	Mothers were not treated during prenatal care.

			mothers.		ocular disease in 50.9%). Of 6 children who were negative for IgM and IgG antibodies, 3 had confirmed CSF for congenital toxoplasmosis. IgM and IgG while combined with the evaluation of CSF have greater sensitivity for the diagnosis of congenital toxoplasmosis.	
Pereira et al., 2014 Brazil	Descriptive, cross-sectional and prospective study. Period of 3 years.	Neonates diagnosed with hearing loss identified in a universal neonatal hearing screening program from August 2003 to December 2006, in the city of Jundiaí / SP.	To describe the results of the etiological investigation of auditory deficiency performed in neonates screened in a universal neonatal hearing screening program.	The auditory evaluation consisted of otoacoustic emissions evoked by transient stimulus (TEOAE). Auditory brainstem evoked potential (BAEP) by click stimuli	The etiological investigation of hearing impairment was performed after a battery of examinations. 64.7% of the children studied had prenatal causes, 29.4% had perinatal causes, and 5.9% had a probable etiology, that is, one child had an unknown etiology. The presence of congenital infections was confirmed in 18.2% of the cases, and Congenital Toxoplasmosis, even being investigated, is not among the infections.	-
Pengsaa &	Retrospective	20 cases – when	To describe the	-	Most patients had systemic	Mothers were not

<p>Hattasingh, 2015 Bangkok- Thailand</p>	<p>study</p>	<p>they were babies 13 most likely and seven suspected cases of congenital toxoplasmosis</p>	<p>results a questionnaire enquiring about cases of congenital toxoplasmosis during 1995–2013 was distributed to paediatricians in referral and university hospitals in Thailand and the responses were analysed.</p>		<p>manifestations, but all 15 surviving cases developed deafness, visual impairment or developmental delay.</p>	<p>treated during prenatal care.</p>
<p>Leite Filho et al., 2017 Brazil</p>	<p>Longitudinal Study Accompanied by 2 years</p>	<p>Groups: a group composed of 48 children with congenital toxoplasmosis; and a control group composed of 43 children without congenital infection.</p>	<p>To verify the occurrence and the most frequent type of auditory alteration in children exposed to toxoplasmosis during the gestation.</p>	<p>The evaluations were performed at birth (1st evaluation), between 6 and 9 months (2nd evaluation), between 9 and 24 months (3rd evaluation), and at 24 months (4th evaluation). Auditory evaluation TEOAE, suppression of otoacoustic emissions, audiometry with visual reinforcement</p>	<p>47 children did only two hearing evaluations and only 11 completed all assessments up to 24 months. In the control group, 58.1% presented normal hearing, 37.2% conductive loss, 4.7% cochlear loss and no retrocochlear alteration, while the toxoplasmosis group had 56.3% normal hearing, 20.8% loss conductive, 2.1% cochlear</p>	<p>All children were treated for one year with sulfadiazine, pyrimethamine and folinic acid.</p>

				(performed from six months of age) and playful (performed from two years of age), immittance measures acoustic and auditory brainstem evoked potential (BAEP) by click stimuli and tone burst.	loss and 20.8% retrocochlear / central alteration.	
--	--	--	--	--	--	--

Graphic 1 Studies that identified the frequency of hearing loss with and without drug treatment.



3.2 Potencial Evocado Auditivo na avaliação em bebês

Jewett e Willinston¹ foram os pioneiros a estudar detalhadamente o PEATE em humanos. Os autores registraram por meio de eletrodos de superfícies fixados no vértice e na mastóide as repostas evocadas por um estímulo acústico de forte intensidade. Verificaram como resposta uma série de ondas e as correlacionaram com resposta do nervo auditivo, núcleo coclear e uma série de outros tratos da via auditiva no tronco encefálico. Denominaram essas ondas sucessivas com algarismos romanos de I a VII, dando origem à audiometria de tronco encefálico^{1,2,3}.

O Potencial Evocado Auditivo do Tronco Encefálico (PEATE) é um exame eletrofisiológico, que capta a atividade elétrica gerada pelo sistema auditivo, e tem como objetivo avaliar o sistema auditivo central e periférico por meio de atividades elétricas, além de verificar o limiar auditivo eletrofisiológico⁴. Contudo possibilita a avaliação da atividade elétrica gerada pelo nervo vestibulo-coclear, tratos e centros neurais que se localizam no tronco encefálico e são os responsáveis por estimular as vias auditivas⁵. Muitos autores relatam que o PEATE sofre influência da maturação auditiva e que os achados deste em crianças nos primeiros meses de vida podem diferir das crianças a partir dos 18 meses^{6,7}. O uso do instrumento de avaliação e diagnóstico baseados no PEATE em recém-nascidos permite observar características diferentes e peculiares das encontradas em crianças acima de dois anos de idade, pois nos recém-nascidos a latência da onda V diminui devido à mielinização progressiva da via auditiva^{8,9}.

A maturação do sistema auditivo ocorre em duas fases, primeiramente ocorre na vida intrauterina até por volta do sexto mês de gestação quando há a maturação das vias auditivas periféricas e até os 18 meses de idade quando há a maturação das vias auditivas do sistema nervoso central até o tronco encefálico^{10,11}.

Diante disso, um estudo que utilizou o PEATE em recém nascidos relatou que a latência da onda V diminui devido à mielinização progressiva da via auditiva⁸. As latências absolutas diminuem com o avanço da idade atingindo a maturidade por volta dos dois meses para a onda I e 18 meses para a onda V¹² em consequência da maturação das vias auditivas do sistema nervoso central até o tronco encefálico durante esta fase do desenvolvimento^{10, 11}.

Durante o primeiro ano de vida os neurônios do tronco encefálico estão amadurecendo e as conexões neurais estão sendo formadas. Neste período o tronco e o tálamo estão começando a conectar-se com o córtex auditivo, quando a entrada sensorial no sistema auditivo é interrompida - em especial durante os primeiros estágios do desenvolvimento - as propriedades morfofuncionais dos neurônios no sistema auditivo central podem ser drasticamente alteradas¹³ e produzir sequelas irreparáveis no desenvolvimento da audição e conseqüentemente no desenvolvimento da linguagem.

No estudo de Zimmerman et al¹⁴ afirmam que a maturidade funcional do sistema auditivo periférico está completa quatro semanas após o nascimento a termo, pois ao acompanharem neonatos termos observaram que a latência absoluta da onda I se equiparou à de referência para adultos nesse período.

Salamy et al¹⁵ relatam que a latência absoluta da onda I já apresenta valores semelhantes aos de adultos em lactentes nascidos a termo nos primeiros três meses de idade, enquanto a da onda III entre 08 e 16 meses e da onda V entre 18 e 36 meses de idade. Gorga et al¹⁶ não observaram mudanças na latência absoluta da onda I dos 03 meses aos 03 anos de idade, o que sugere que a maturação do gerador da onda I já estava completa aos 03 meses.

No Estudo de Casali & Santos (2010) ¹⁷ verificou-se que a maturação da onda I ocorre mais rápido e encontra-se completa ao nascimento ou logo nas semanas seguintes, considerando-se o parto a termo. As estruturas geradoras da onda III e principalmente da onda V são mais centrais e sofrem influência do processo maturacional por mais tempo, equiparando-se aos dos adultos por volta do segundo ano de vida ^{4,10,11,18,19}.

O uso do PEATE automático (PEATEa) tem se difundido no meio científico, pois é um procedimento de análise de tronco encefálico que tem como finalidade a triagem, a qual apresenta como resposta “Passa” ou “Falha”, possibilitando a visualização das ondas pelo examinador. É um procedimento mais rápido, pois a análise da resposta é feita automaticamente pelo equipamento com critério estatístico de aprovação. A literatura registra controvérsias quanto a sua sensibilidade e especificidade, alguns autores relatam sensibilidade de 100% e especificidade de 99,7% no PEATEa ²⁰, ao passo que outros registram sensibilidade de 40,9% e especificidade de 63,2% ¹⁶. Suppiej et al. referem que o PEATE clínico é um teste de maior sensibilidade (100%) e especificidade (90,8%), quando comparado ao PEATEa que apresenta menor sensibilidade (88,9%) e especificidade (70,6%) ²¹.

No estudo de Angrisani et al., o uso do PEATEa identificou mais de 99,4% das alterações centrais com valor preditivo positivo de 97%, ou seja, ao falhar no PEATEa a criança teria 97% de chance real de apresentar alteração central. Entretanto, os valores de especificidade foram medianos (54,5% – 63,6%). Nove orelhas das 320 que passaram na triagem com PEATEa, apresentaram alteração central na avaliação diagnóstica, caracterizada por aumento das latências absolutas das ondas III e/ou V sem melhora na segunda avaliação em trinta dias, e interpicos I-III, III-V e/ou I-V aumentados. Apesar disso, o valor preditivo negativo variou de 85,7% a 100% ou seja,

o neonato que passou na triagem com PEATEa teve de 85% a 100% de chance de ser audiologicamente normal²². Suppiej et al. também registraram diferenças de sensibilidade e especificidade comparando o PEATEa e PEATE²¹.

REFERÊNCIAS

1. Jewett DL, Willinston JS. Auditory evoked far fields averaged from the scalp of humans. *Brain*. 1971;94:681-96.
2. Souza LCA et al. Eletrofisiologia da audição e emissões otoacústicas: princípios e aplicações clínicas. São Paulo: Tecmedd, 2008.
3. Munhoz MSL, Silva MLG, Caovilla HH, Frazza MM, Ganança MM, Câmara JLS. Respostas auditivas de Tronco Encefálico. Em: Munhoz MSL, Caovilla HH, Silva MLG, Ganança MM. *Audiologia clínica. Série otoneurológica*. São Paulo: Atheneu; 2003. p. 191-220.
4. Souza LCA et al. Eletrofisiologia da audição e emissões otoacústicas: princípios e aplicações clínicas. São Paulo: Tecmedd, 2008.
5. Hood L. *Clinical applications of the auditory brainstem response*. San Diego: Singular; 1998.
6. Jiang ZD, Wilkson AR. Does peripheral auditory threshold correlate with brainstem auditory function at term in preterm infants? *Acta Oto-laryngol*. 2006; 126: 824-27.
7. Karpijoke E, Jaaskelainen S. Neonatal brainstem audio-metry with standard neurophysiological auditory evoked potential recording in small premature babies. 8th Congress of International Organization of Societies for electrophysiological Technology (OSET) proceedings. *Am J Electroneurodiagn Technol*. 2007; 47: 342-5.
8. Galambos CS, Galambos R. Brainstem evoked response audiometry in newborn hearing screening. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg*. 1979; 105: 86-9.

9. Hecox K, Galambos R. Brainstem auditory evoked responses in human infant and adults. *Arch Otolaryngol.* 1974; 99: 30-3.
10. Sleifer P, Costa SS, Cóser PL, Goldani MZ, Dornelles C, Weiss K. Auditory brainstem response in premature and full-term children. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol.* 2007; 71: 449-56.
11. Hall III JW. *Handbook of auditory evoked responses.* Boston: Allyn and Bacon; 1992.
12. Cristobal R, Oghalai JS. Hearing loss in children with very low birth weight: current review of epidemiology and pathophysiology. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed.* 2008; 93: 462-8.
13. Sininger YS, Doyle KJ, Moore JK. The case for early identification of hearing loss in children. Auditory system development, experimental auditory deprivation, and development of speech perception and hearing. *Pediatr Clin North Am.* 1999; 46:1-14.
14. Zimmerman MC, Morgan DE, Dubno JR. Auditory brainstem evoked response characteristics in developing infants. *An Otol, Rhinol Laryngol* 1987; 96: 291-99.
15. Salamy A, McKean CM. Postnatal development of human brainstem potentials during the first year of life. *Electroenceph, Clin Neurophysiol* 1976; 40: 418-26.
16. Gorga M, Kaminski J, Beauchaine K, Jesteadt W, Neely S. Auditory brainstem responses from children three months to three years of age: normal patterns of response II. *J Speech Hear Res* 1989; 32(2) p. 281-8.
17. Casali R L, Santos MF. C. Potencial Evocado Auditivo de Tronco Encefálico: padrão de respostas de lactentes termos e prematuros. *Braz. j. otorhinolaryngol.* (Impr.), 2010; 76 (6) p. 729-738.
18. Rondina C, Matas CG. Neuropatia Auditiva: estudo de caso. *Acta AWHO.* 2006; 24(1):10-17.

19. Andrade GMQ, Resende LM, Goulart EMA, Siqueira AL, Vitor RWA, Januário JN . Deficiência auditiva na toxoplasmose congênita detectada pela triagem neonatal. Revista Brasileira de Otorrinolaringologia. 2008;74: 21-28.
20. Hall III J.W, Smith S.D, Popelka G.R – Newborn Hearing Screening with Combined Otoacoustic Emissions and Auditory Brainstem Responses. J Am.Acad. Audiol 2004; 15:414-25.
21. Suppiej A, Rizzardi E, Zanardo V, Franzoi M, Ermani M, Orzan E. Reliability of hearing screening in high-risk neonates: comparative study of otoacoustic emission, automated and conventional auditory brainstem response. Clinical Neurophysiology, 2007; 118(4), 869-76.
22. Angrisani RMG et al . PEATE automático em recém nascidos de risco: estudo da sensibilidade e especificidade. Rev. CEFAC, 2012. 14 (2), p. 223- 233.

3.3. NIRS e Habilidades Auditivas em bebês

Estudos evidenciam que a partir do nascimento e durante o desenvolvimento dos primeiros meses de vida, o cérebro infantil já apresenta sensibilidade diferenciada para

o processamento de sinais acústicos, sejam eles vocais ou não, com diferentes propriedades acústicas. Essas diferenças nos estímulos sonoros provocam um padrão diferencial de ativação cerebral e especialização hemisférica na primeira infância¹. No estudo de Russo & Santos sugerem que a criança já é capaz de ter consciência do som, discriminar entre a presença e ausência do som, e efetuar respostas corretas na procura do som entre o período do nascimento e os quatro meses de idade².

No estudo de Arimitsu et al. (2011) o objetivo foi determinar o grau de especialização hemisférica de características linguísticas utilizando sons vocais com diferenciação de fala fonêmica e prosódica em bebês mais o uso da ferramenta NIRS. Com isso foi observada a lateralização funcional para a área temporal direita para o processamento da prosódia e engajamento bilateral das áreas auditivas para os contrastes fonêmicos³.

Gervain et al. (2012) em seu estudo com NIRS investigaram que os bebês são capazes de discriminar diferentes estímulos gramaticais baseados na repetição vocal, por meio das habilidades de percepção e combinações necessárias para aquisição da linguagem⁴. A fala de um familiar dirigida à criança aumenta a atividade hemodinâmica na região temporal, quando comparada a fala dirigida aos adultos, e a voz materna dirigida à criança gera a atividade hemodinâmica nas regiões frontais⁵.

Benavides-Varela et al. (2011) observou ativação cerebral com padrão de reconhecimento semelhante a adultos quando neonatos foram estimulados com palavras diferentes com mesma vogal. Em contraste foi observado novo modelo de ativação quando as palavras possuíam vogais distintas com mesma consoante. Indicando que as informações transportadas pelas vogais são melhores reconhecidas pelos neonatos do que as informações transportadas pelas consoantes. Áreas frontais direitas podem estar

envolvidas no reconhecimento de sequência de fala desde os primeiros estágios de aquisição da linguagem⁶.

Sato et al. (2010) verificaram que quando as crianças são estimuladas por meio da voz materna tanto em língua japonesa como inglesa, as ativações acontecem nas regiões temporal e frontal bilateralmente. A região temporal esquerda obteve maior ativação para estímulo na língua materna quando comparada à língua estrangeira. Resultados sugerem que o cérebro do neonato tem maior sintonia com a língua materna⁷. Com estímulos auditivos com sentenças em inglês (língua materna), língua sem exposição pré-natal (tagalog) e exposição ao inglês e tagalog sendo reproduzido da forma inversa, verificou-se que houve diferença de padrão de ativação cerebral para a língua de exposição pré-natal em comparação a língua sem exposição. No entanto não houve diferença significativa na localização da atividade cerebral entre as duas línguas. Resultados sugerem que experiências de linguagem pré-natal definem como o cérebro responde a linguagem familiar e não familiar⁸.

Para Kotilahti et al (2010) não houve lateralização cerebral consistente ao utilizar o estímulo estória na língua finlandesa contada com prosódia infantil (manhês) e concerto de Mozart em piano ao fundo. No entanto, a média de resposta ao estímulo de fala foi significativamente maior do que zero no hemisfério esquerdo, o que não ocorreu no hemisfério direito e para o estímulo musical nos dois hemisférios⁹.

Ao investigar o início do desenvolvimento de linguagem e a especialização hemisférica para processamento de línguas nativas e não nativas em bebês com um dia de vida, foi possível identificar maior ativação do hemisfério esquerdo na região temporal durante estímulo de linguagem nativa e houve laterização para hemisfério direito para o estímulo não nativo¹⁰.

Portanto, a NIRS permite a investigação e compreensão do processamento sensorial auditivo, como a detecção, sensação sonora, discriminação, atenção e memorização dos sons. Sendo uma ferramenta eficaz para avaliação da audição a nível cortical em crianças, e pode ser utilizada associada a outros métodos já existentes e padronizados de avaliação auditiva¹¹.

REFERÊNCIAS

1. Telkemeyer S, Rossi S, Nierhaus T, Steinbrink J, Obrig H, Wartenburger I. Acoustic Processing of temporally modulated sounds in infants: evidence from a combined near-infrared spectroscopy and EEG study. *Frontiers Psychology*. 2011;62(2):28-27.
2. Russo ICP, Santos TMM. A audição e o desenvolvimento da linguagem. In: Russo ICP, Santos TMM. *Audiologia infantil*. São Paulo: Cortez, 1994. p.15-27.
3. Arimitsu T, Uchida-Ota M, Yagihashi T, Kojima S, Watanabe S, Hokuto I et al. Functional hemispheric specialization in processing phonemic and prosodic auditory changes in neonates. *Frontiers in Psychology*. 2011;202(2):61-70.
4. Gervain J, Berent I, Werker JF. Binding at birth the newborn brain detects identity relations and sequential position in speech. *J CognNeurosci*. 2012;24(3):564-74.
5. Naoi N, Minagawa-Kawai Y, Kobayashi A, Takeuchi K, Nakamura K, Yamamoto J, Kojima S. Cerebral responses to infant-directed speech and the effect of talker familiarity. *NeuroImage*. 2012;59(2):1735-44.
6. Benavides-Varela S, Gomes DM, Macagno F, Bion RAH, Peretz I, Mehler J. Memory in the Neonate brain. *PLoS ONE* 2011;11(6):e27497.
7. Sato Y, Sogabe Y, Mazuka R. Development of hemispheric specialization for lexical pitch-accent in Japanese infants. *J Cogn Neurosci*. 2010 Nov;22(11):2503-13.

8. May L, Byers-Heinlein K, Gervain J, Werker JF. Language and the newborn brain: does prenatal language experience shape the neonate neural response to speech? *Frontiers in psychology*. 2011;2:222.
9. Kotilahti K, Nissila I, Nasi T, Lipiainen L, Nojonen T, Merilainen P, et al. Hemodynamic responses to speech and music in newborn infants. *Hum Brain Mapp*. 2010 Apr;31(4):595-603
10. Vannasing P, Florea O, Gonzalez-Frankenberger B, Tremblay J, Paquette N, Safi D, et al. Distinct hemispheric specializations for native and non-native languages in one-day-old newborns identified by fNIRS. *Neuropsychologia*. 2016 Apr;84:63-9.
11. Almeida, AF; Marques, DM; Resende, LM. Espectroscopia de luz próxima ao infravermelho e processamento sensorial auditivo em lactentes. *Rev CEFAC*,2016. 18 (4). pp. 965-973.

4. OBJETIVOS

- **Objetivo Geral:**

Estudar a ativação hemodinâmica cerebral diante de estímulo auditivo por meio da *Near infrared spectroscopy* (NIRS) e os potenciais evocados auditivos (PEATE), em

crianças que foram identificadas pelo programa de triagem neonatal do Núcleo de Ações e Pesquisa em Apoio Diagnóstico (NUPAD) com toxoplasmose congênita (grupo caso) comparadas com bebês saudáveis (grupo controle) de 0-3 meses de vida.

- **Objetivos Específicos:**

- ✓ Observar e descrever as respostas corticais observadas ao NIRS por meio da estimulação auditiva em crianças saudáveis (grupo controle) diante de estímulos sonoros variados, identificando o melhor estímulo para o estudo subsequente.
- ✓ Observar e descrever as respostas corticais realizadas com a NIRS por meio da estimulação auditiva diante de voz materna espontânea das crianças do grupo caso e das crianças do grupo controle, e verificar os resultados na idade a partir de um mês de vida.
- ✓ Descrever os achados audiológicos do PEATE de crianças identificadas pelo programa de triagem neonatal com diagnóstico de toxoplasmose congênita (grupo caso) e submetidos a tratamento precoce, avaliados a partir de um mês de idade. E também descrever esses achados das crianças saudáveis (grupo controle).

5. METODOLOGIA

5.1. Desenho e local do estudo

Trata-se de um estudo de abordagem analítico-descritiva, quantitativa e transversal, realizado no Centro de Tecnologia em Medicina Molecular (CT-MM) e no ambulatório de Audiologia do Hospital São Geraldo do Hospital das Clínicas, em parceria com o Núcleo de Ações e Pesquisa em Apoio Diagnóstico (NUPAD), todos parte integrante da Universidade Federal de Minas Gerais.

O CT-MM é formado por profissionais experientes, que se dedicam a unir pesquisa e prática clínica. O Hospital São Geraldo HC/UFMG faz parte de um grande complexo HC, nele está situado o ambulatório de audiologia, otorrinolaringologia fonoaudiologia e oftalmologia. O NUPAD por meio do Programa de Controle da Toxoplasmose Congênita de Minas Gerais (PCTC-MG) é responsável pelo programa de triagem neonatal e apoio às gestantes de todo o estado de Minas Gerais. O Programa, viabilizado tecnicamente pelo Nupad, está sob a gestão da Secretaria de Estado de Saúde de Minas Gerais (SES-MG), que visa oferecer atendimento multiprofissional à todas as mães e bebês que tiveram sorologia positiva para toxoplasmose congênita (Programa de Triagem Neonatal de Minas Gerais (PTN-MG)).

5.2. Participantes do estudo

Os participantes do estudo foram crianças oriundas do Programa de Triagem Neonatal de Minas Gerais (PTN-MG) que tiveram diagnóstico de toxoplasmose congênita. Os mesmos foram distribuídos, de forma não pareada, sendo definidos dois grupos: grupo com sorologia positiva para toxoplasmose congênita (grupo caso) e grupo com sorologia negativa (grupo controle) para toxoplasmose congênita. Como critério de inclusão, no grupo CASO consta o aceite e assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE), com diagnóstico ou suspeita sorológica de Toxoplasmose Congênita, ter pelo menos 20 dias de idade até 3 meses, medidas de imitância acústica dentro da normalidade.

Para a inclusão no grupo CONTROLE da pesquisa, foram selecionados bebês, com 20 dias a 3 meses de idade, saudáveis, e cujos respectivos responsáveis assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) e que tenham apresentado exames de triagem auditiva normais.

Os critérios de exclusão para os dois grupos foram: crianças que nasceram prematuras, crianças que apresentaram alterações de orelha média, diagnosticada pelas medidas de imitância acústica; outras infecções ou co-infecções; nenhum sinal clínico ou ultrassonográfico fetal de outras encefalopatias que não relacionadas a toxoplasmose.

5.3. Medidas

5.3.1. Avaliação da atividade hemodinâmica cortical – NIRS

O instrumento NIRS utilizado nesse estudo foi um equipamento NIRx NIRScout Tandem 1616 (Glen Head, EUA), com o método de iluminação por onda contínua. Os dados foram adquiridos a uma taxa de amostragem de 3,76Hz.

Foi utilizada uma combinação de 30 fontes e 28 detectores que formaram 84 canais dispostos sobre o escalpo, cobrindo bilateralmente as regiões frontal, parietal, temporal e occipital, seguindo a orientação do Sistema Internacional 10-20 de EEG. A distância entre a fonte e o receptor que formou cada canal variou de 1,5 a 2,5 cm, dependendo da localização dos mesmos.

A avaliação da atividade hemodinâmica cortical foi considerada funcional (fNIRS), visto que utilizou de paradigmas de estimulação auditiva durante a realização do exame de espectroscopia. A estimulação auditiva consistiu de quatro diferentes estímulos auditivos apresentados à criança.

Durante o exame de espectroscopia a primeira etapa consistiu na estimulação com a voz materna, a mãe foi orientada a conversar com a criança, sendo administradas seis apresentações de 10 segundos da voz da mãe de forma espontânea, intercalados por intervalos de silêncio de 10 segundos. Cabe ressaltar que durante esta etapa, o bebê permaneceu deitado no colo de sua mãe, e a intensidade (shimmer¹ – amplitude da onda sonora) emissão vocal materna foi em média de 60dB, o que corrobora com o estudo de Berti e Torres².

Na segunda etapa, foi apresentada à criança uma voz controlada (com intensidade média de 65dB), ou seja, uma gravação de um trecho da história da Chapeuzinho Vermelho, com seis apresentações dessa gravação com duração de 10 segundos cada, com intervalo de silêncio de 10 segundos entre cada apresentação. Cabe ressaltar que nesta etapa o bebê encontrava-se deitado no colo da mãe, a uma distância de 40 centímetros da fonte sonora.

A terceira etapa consistiu na estimulação com a voz do pesquisador, o mesmo foi orientado a conversar com a criança de forma espontânea colhendo seis apresentações da voz do pesquisador com duração de 10 segundos cada, com intervalo de silêncio de 10 segundos entre cada fala do pesquisador com o bebê. Foram tomados os devidos cuidados em relação a intensidade vocal do pesquisador, respeitando a intensidade vocal em torno de 60dB.

E por fim, na quarta etapa foi solicitado a mãe que lesse um trecho da história da Chapeuzinho Vermelho, com seis apresentações dessa leitura com duração de 10 segundos cada, com intervalo de silêncio de 10 segundos entre cada apresentação. As mães respeitaram a intensidade média preconizada no estudo.

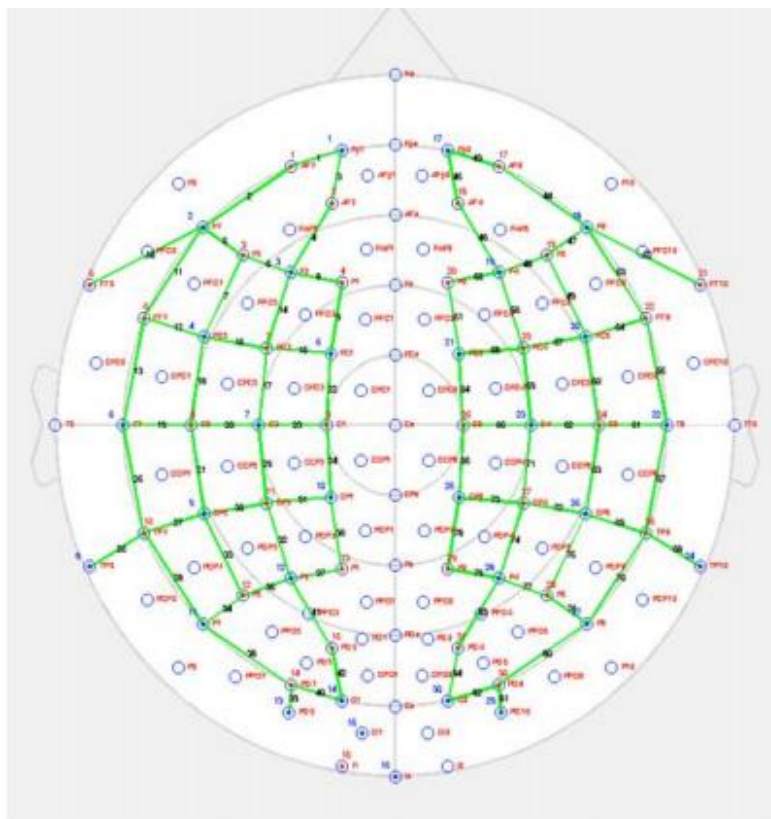


Figura 1: Geometria utilizada na disposição dos canais para o exame de espectroscopia. Os 84 canais estão representados pelas linhas verdes. **Fonte:** Arquivo pessoal do autor.

5.3.2. Avaliação Auditiva

O equipamento utilizado para a realização de EOAT e PEATEa foi Elios® da marca ECHODIA. Trata-se de um dispositivo de teste de função computadorizado portátil e multifuncional.

O protocolo de registro das EOAT adotado utilizou estímulos cliques não lineares a uma intensidade de 80 dBNPS. As EOAT foram consideradas presentes quando a reprodutibilidade foi maior ou igual a 50% e a relação S/R (sinal/ruído), maior ou igual a 3dB³.

Para realizar o PEATEa utilizou-se o equipamento da marca ECHODIA com fones de inserção com duas varreduras de 40dBNA, afim de observar limiares presença da onda V nesta intensidade com latências dentro da normalidade, de acordo com a

faixa etária da criança. Não foi realizado o PEATE para verificar a integridade de via auditiva em 80dB.

Para a realização de Imitanciometria utilizou-se o equipamento da marca Interacoustics, modelo At235h na frequência de 1000Hz, como recomendado para a faixa etária⁴, calibrado segundo o padrão ANSI S3.6.

5.4. Procedimentos

A seleção dos bebês participantes se deu por meio de um agendamento prévio pelo NUPAD e a partir disso foi possível analisar os prontuários, respeitando os critérios de elegibilidade previamente descritos. Após a identificação das crianças elegíveis, fez-se o convite para participação no estudo, sendo informados dos objetivos do estudo, dos procedimentos a serem realizados e da voluntariedade da participação.

As crianças de ambos os grupos foram avaliadas quanto a audição e a atividade hemodinâmica cortical em resposta à estimulação auditivas, nas idades entre 20 dias até 3 meses de vida.

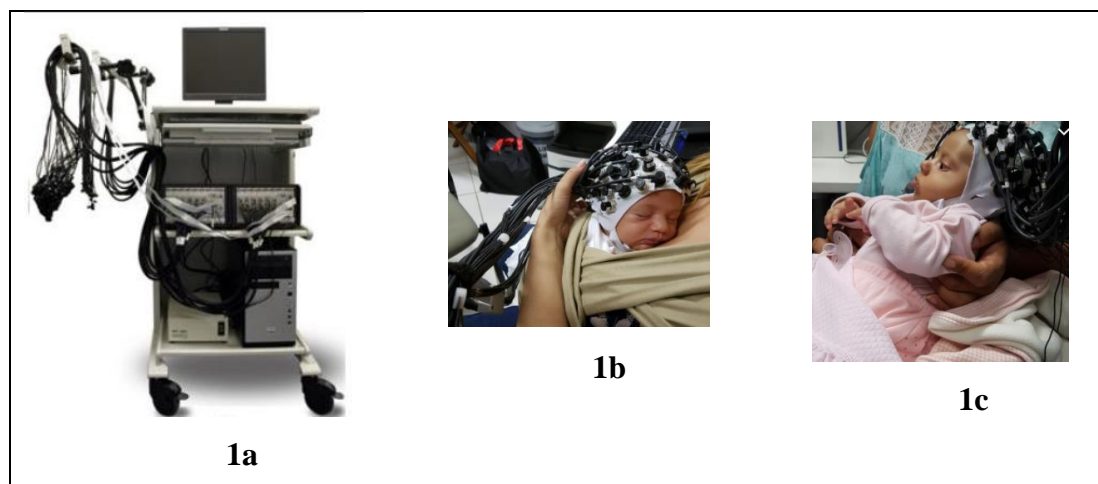


Figura 2: Aquisição de dados a partir da fNIRS. A figura 1a representa o equipamento usado para aquisição dos dados de fNIRS. A figura 1b e 1c representam o cenário de aquisição de dados de fNIRS. **Fonte:** Arquivo pessoal do autor.

As avaliações foram realizadas em uma única sessão. A avaliação da atividade hemodinâmica cortical, as EOA e os PEATEa foram realizados em uma sala reservada, com poucas distrações, em ambiente com proteção acústica, situado no CT-MM (Figura 1). Já o teste de imitânciometria foi realizado em uma sala no Hospital São Geraldo HC/UFMG devido o equipamento não ser portátil.

Durante todo o protocolo de avaliação da atividade cortical, a criança permaneceu sentada no colo de sua mãe e foram respeitados os cuidados com a intensidade vocal, os horários de necessidades das mesmas em relação sono, fome e cansaço. O estímulo foi aplicado sempre pela mesma pesquisadora. O exame era interrompido caso a criança apresentasse sinal de desconforto. Durante a coleta, uma ficha individual descritiva do comportamento de cada bebê foi preenchida, nessa ficha foi registrado o tempo inicial e final de cada estímulo, além de observações durante o exame (por exemplo, choro, mexeu algum dos membros, entre outras). Essas informações foram usadas posteriormente durante o processo de análise dos dados, para extrair intercorrências no sinal da fNIRS. A duração média de todo o processo de avaliação da fNIRS mais avaliação auditiva foi de 50 minutos.

Após todos os exames, os pais foram orientados quando ao desenvolvimento da audição e da linguagem, e a importância da estimulação de seus bebês.

5.5. Tamanho amostral

Ainda não há um protocolo definido a ser seguido em experimentos ópticos com fNIRS, nem valores de referência que possibilitem um cálculo amostral adequado para o desfecho do resultado do exame de espectroscopia. No entanto, alguns pesquisadores relatam que desde que se obtenha uma taxa sinal ruído satisfatória para gerar imagens ópticas, assume-se que um mínimo de 10 participantes por grupo já seria suficiente para

detectar e estabelecer comparações entre os grupos, conforme sejam observadas diferenças entre os grupos.

5.6. Análise dos dados

5.6.1. Análise descritiva dos dados e de comparação entre os grupos

A análise estatística foi realizada a partir do Statistical Package for Social Sciences for Personal Computer (SPSS 22.0)⁵. A caracterização do grupo estudado foi feita por meio de estatística descritiva. As variáveis contínuas foram expressas por medidas de tendência central e dispersão e as variáveis categóricas por frequências. Quando aplicado testes estatístico o nível de significância adotado no estudo foi de 5%.

5.6.2. Análise da atividade hemodinâmica cortical – fNIRS

Os dados referentes à avaliação da atividade hemodinâmica cortical em resposta ao estímulo auditivo foram pré-processados no *software* nirsLAB-v2017 (NIRX Medical Technologies, Glen Head, EUA).

Nesta etapa as intensidades detectadas foram filtradas entre 0,003 Hz e 0,5 Hz. Esses filtros foram utilizados com a finalidade de eliminar interferências no sinal óptico de origem fisiológica (respiração, batimentos cardíacos) e artefatos gerados por agitação excessiva do bebê e ruídos. Ainda nessa fase, foram computados os estados hemodinâmicos (concentrações de HbO e HbR) utilizando a Lei de Beer-Lambert modificada.

Na etapa seguinte, pós-processamento, foi utilizado o *software* nirsLAB-v2017 (NIRX Medical Technologies, Glen Head, EUA). Nessa fase, foi calculada a resposta hemodinâmica média em cada canal por meio de todas as condições do experimento, de 20 segundos antes do início do estímulo até 20 segundos depois o início da estimulação.

O passo seguinte consistiu em verificar a ativação hemodinâmica em cada canal e consequentemente verificar as regiões de interesse ativadas por meio do aumento da HbO no momento da estimulação, podendo após essa análise serem gerados tabelas e gráficos de ativação para cada grupo.

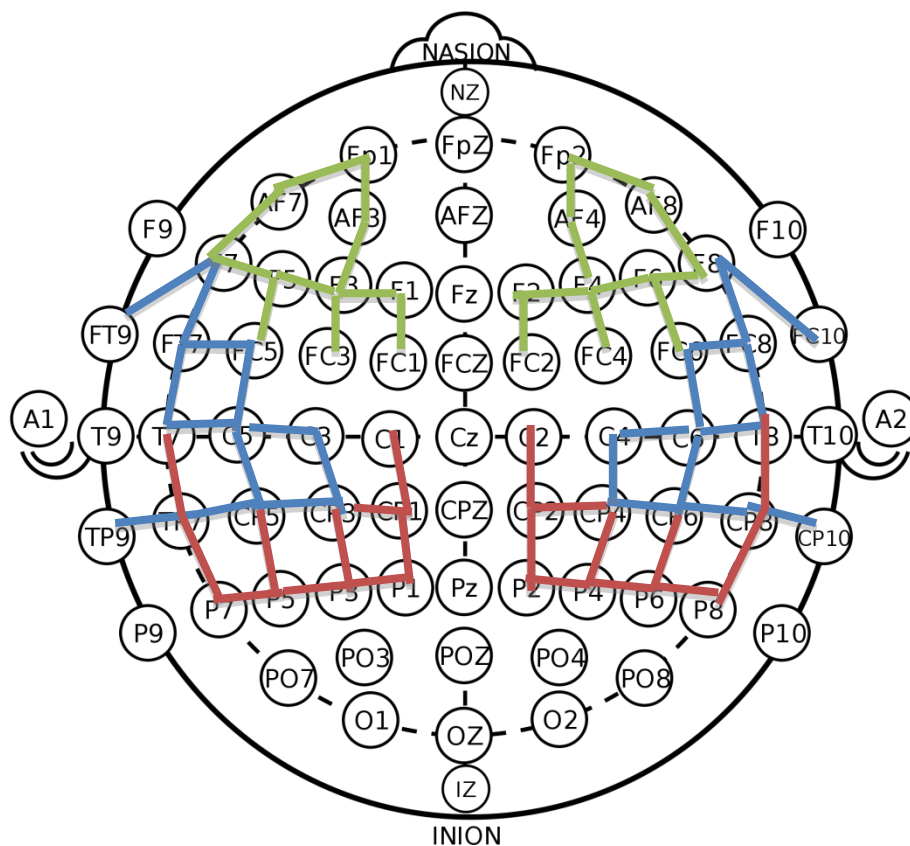


Figura 3: Canais selecionados para análise da resposta hemodinâmica cortical temporal (azul), frontal (verde) e parietal (vermelho)⁷.

Além disso, considerando que a resposta cortical esperada para os estímulos deve ser contralateral ao estímulo aplicado, foi feita a comparação do total de canais entre os grupos e dos canais simétricos no hemisfério esquerdo e direito para regiões específicas (Figura 3), comparando com os dois grupos estudados, utilizando a análise estatística Teste t Student, controlado pelo Teste de Levene para Igualdade de Variâncias, com o intuito de verificar possíveis diferenças entre as médias das variáveis

paramétricas. E também foi utilizado o Teste T pareado para o estudo somente com os dados do grupo controle.

5.7. Aspectos éticos

A coleta de dados foi precedida pela aprovação pelo Comitê de Ética em Pesquisa da UFMG, sob parecer CAAE nº 45493415.6.0005149 (ANEXO 1) e a assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (ANEXO 6). Todos os demais documentos relacionados aos aspectos éticos são apresentados como Anexos 2,3 4 e 5.

Todas as fases deste estudo foram desenvolvidas respeitando-se as determinações da Resolução 196/96 do Ministério da Saúde⁶ que regulamenta a pesquisa envolvendo seres humanos.

REFERÊNCIAS

1. Behlau M, Madazio G, Feijó D, Pontes P. Avaliação da Voz. In: Behlau M (org.) Voz - O Livro do Especialista. Vol. I. Rio de Janeiro: Revinter; 2001. Cap. 3, 86-180.
2. Berti L, Torres L. Comparação entre medidas acústicas de vogais em provas de repetição e conversa espontânea. *Linguagem & Ensino, Pelotas*. 2011. 14(2), 553-572.
3. Côrtes-Andrade IF, Bento DV, Lewis. Emissions (TEOE): newborn hearing screening program protocols. *Rev CEFAC* 2013;15:521-7.
4. Gatto CI, Tochetto TM. Deficiência auditiva infantil: implicações e soluções. *Rev CEFAC*. 2007; 9(1): 110-5.
5. IBM Corp. IBM SPSS Statistics for Windows, Version 22.0. Armonk, NY. IBM Corp. 2012.
6. Brasil. Ministério da Saúde. Conselho Nacional de Saúde. Normas de pesquisa envolvendo seres humanos. Res. CNS 196/96. *BioÉtica* 1996; 4 Suppl:15-25.
7. Catani M, et al., Beyond cortical localisation in clinico-anatomical correlation, *Cortex* (2012), <http://dx.doi.org/10.1016/j.cortex.2012.07.001>.

6. RESULTADOS

Foram avaliadas 78 (50 do grupo com toxoplasmose congênita e 28 do grupo sem toxoplasmose congênita) entre outubro de 2016 a janeiro de 2019. Todos os bebês fizeram a avaliação auditiva e o teste fNIRS.

Os resultados foram descritos em dois artigos originais:

O artigo 1 apresentou os resultados de 67 crianças (40 do grupo com toxoplasmose congênita e 27 do grupo sem toxoplasmose congênita) com idade de 20 dias a 3 meses de vida. Os grupos foram comparados quanto a atividade hemodinâmica cortical (fNIRS) na condição de estimulação materna. Nesse artigo foi verificada a resposta hemodinâmica média em cada canal por meio da condição do experimento, de 20 segundos antes do início do estímulo até 20 segundos depois o início da estimulação.

O passo seguinte consistiu em verificar a ativação hemodinâmica em cada canal e conseqüentemente verificar as regiões de interesse ativadas por meio do aumento da HbO no momento da estimulação, podendo após essa análise serem gerados tabelas e gráficos de ativação para cada grupo.

O artigo 2 apresentou os resultados de 26 crianças com idade entre 20 dias a 3 meses de idade. Foi possível verificar diante das quatro condições (voz materna, voz pesquisador, voz controlada e voz da mãe realizando uma leitura) a ativação hemodinâmica em cada canal, o total de ativações corticais e verificar a questão de atividades por hemisfério, gerando dados de tabelas e gráficos de ativação.

6.1 Artigo Original (1)

Title: Cortical Hemodynamic Response in Babies with Congenital Toxoplasmosis through auditory stimulation

Authors: Ana Livia Libardi Bertachini^{a,b}, Luciana Macedo de Resende^{b,c}, Gabriela Cintra Januário^{a,b}; Roberta Maia de Castro Romanelli^{b,d}, Rickson Coelho Mesquita^e, Gláucia Manzan Queiroz de Andrade^{b,f}, Débora Marques de Miranda^d

Institutional affiliation

^aSpeech-Language Pathologist. PhD student in the Child and Adolescent Health Program at the Faculty of Medicine, Federal University of Minas Gerais – UFMG. Belo Horizonte, Minas Gerais, Brazil.

^bResearcher associated with Núcleo de Ações e Pesquisa em Apoio Diagnóstico (Nupad).

^cAdjunct Professor, Department of Speech, Language and Hearing Pathology, Faculty of Medicine, Federal University of Minas Gerais – UFMG. Belo Horizonte, Minas Gerais, Brazil.

^dAssociate Professor, Department of Pediatrics Faculty of Medicine, Federal University of Minas Gerais – UFMG. Belo Horizonte, Minas Gerais, Brazil.

^eAssociate Professor, Department of Physics, UNICAMP, Campinas, São Paulo, Brazil.

^fAdjunct Professor, Department of Pediatrics Faculty of Medicine, Federal University of Minas Gerais – UFMG. Belo Horizonte, Minas Gerais, Brazil.

Address for correspondence: Débora Marques de Miranda. Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia em Medicina Molecular, Universidade Federal de Minas Gerais. Av. Prof. Alfredo Balena 190, Santa Efigênia – 30130-100 – Belo Horizonte, MG, Brazil. E-mail: debora.m.miranda@gmail.com. Telephone number: 00 55 31 3409-9750.

Abstract

To evaluate the association between cortical hemodynamic activity and auditory stimulation through maternal voice stimulation, focusing on the neurodevelopment of children with and without the diagnosis of congenital toxoplasmosis, from 0 to 3 months of age. To evaluate the cortical hemodynamic activity in response to auditory

stimulation through the condition of the mother's voice (spontaneous conversation), using the technique of infrared light spectroscopy; and auditory evaluation through Immittance, Transient Evoked Otoacoustic Emissions (TEOAE) and Brain Stem Auditory Evoked Potential (BAEP). In children with congenital toxoplasmosis it was possible to identify a more diffuse cortical activation in relation to the control group. A difference was observed between the brain and the congenital disease without it being stimulated by the mother's voice.

Keywords: Congenital Toxoplasmosis, NIRS, mother voice, auditory stimulation.

1. Introduction

Congenital toxoplasmosis is an infectious disease resulting from the transfer of the protozoan *Toxoplasma gondii* from the placenta to the fetus. It might result from a primary infection of the mother during pregnancy or by exacerbation of maternal previous infection (Lebech et al., 1996; Saadatnia and Golkar, 2012). Clinically, it is characterized by a sequelae due to ophthalmological conditions and central nervous system, responsible for the greater morbidity of the children affected. The triad of symptoms includes retinocoroiditis, intracranial calcifications and hydrocephaly (Dunn et al., 1999). Congenital toxoplasmosis is a potential risk indicator for sensorineural hearing loss (Joint Committee on Infant Hearing, 2007).

Hearing is considered a fundamental part of the human being complex communication system. The development of the peripheral auditory system is complete around the fifth month of intrauterine life, both anatomically and physiologically (Lichtig et al., 2001). In the early years of life, maturation of the Central Nervous System occurs is a critical period for hearing and language development (Yoshinaga-Itano, 2003). Through auditory feedback, language is acquired favoring the symbolic learning (Marchiori, 2002; Zocoli et al., 2006). Speech production comes later, since children store acoustic information indistinctly during the course of auditory and language development (Bamiou et al., 2001; Marchiori, 2002; Zocoli et al., 2006). The

networks evolved in recognition and language are distributed in different brain regions and related to speech perception, being dependent on peripheral and central auditory integrity (Moore, 2007; Santos et al., 2008).

Infants seem to recognise human voices irrespective of what they say (Demany, Mckensie and Vurpillot, 1977). In particular, an infant can discriminate his or her own mother's voice from a different voice (DeCasper and Fifer, 1980; DeRegnier et al., 2000), because he or she has heard the maternal voice in utero. Maternal speech is primordial to the acquisition of language. Maternal's voice characteristics induce babies to have interest and to move their eyes in direction to the person who is addressing them, actively seeking the eyes contact (Flores, Beltrami and Souza, 2011). The baby's reactions follow the curves of maternal prosody (Laznik et al., 2005). Voice and speech perception play fundamental roles in social interactions. Functional magnetic resonance imaging (fMRI) studies with adult subjects show that the superior temporal gyrus (STG) and the proximity of the superior temporal sulcus (STS) are important bilaterally in processing vocalizations, with the right hemisphere playing a dominant role (DeRegnier et al., 2000; Flores, Beltrami and Souza, 2011). In contrast, the left-lateralized network of the STG and the left angular gyrus are responsible for language processing (Laznik et al., 2005).

Evidence shows that infants can recognize their mothers' voices shortly after birth (Mehler, Bertoncini and Barriere, 1978; DeCasper and Fifer, 1980). fMRI (2-month-old infants) and ERP (4-month-old infants) studies have demonstrated that infant brains respond differently to their own mothers' voices than to unfamiliar voices (Purhonen et al., 2004; Purhonen, et al., 2005; Dehaene-Lambertz et al., 2010). Enhanced response to one's mother's voice in such an early age suggests that a mother's voice might be relevant for language development in typical infants (Liu, Kuhl and

Tsao, 2003; Dehaene-Lambertz et al., 2010). Interestingly, characteristics of maternal speech change as children age, suggesting that mothers adjust speech directed toward their children as a function of their language skills (Liu, Tsao and Kuhl, 2009).

In this context, we hypothesized that children with congenital toxoplasmosis would have different/lower hemodynamic response to distinct stimuli compared to controls. The objective of this study was then evaluate the responses to auditory stimuli through the use of fNIRS with maternal vocal stimulation.

2. Methods

2.1. Patients and study design

Data collection was preceded by UFMG Research Ethics Committee approval, under CAAE no. 45493415.6.0005149. Children screened from the Neonatal Screening Program of Minas Gerais (PTN-MG) performed by the Nucleus of Actions and Research in Diagnostic Support (NUPAD) who had positive or suspected serology for congenital toxoplasmosis participated in the study. Inclusion criteria were as follows: acceptance and signed Informed Consent Term (TCLE), to be diagnosed or suspected of congenital toxoplasmosis, to be in the age range from zero to three months of age, to present normal measures of acoustic immittance and normality in the brainstem auditory evoked potential.

2.2. Near-infrared spectroscopy

The NIRS instrument used in this study was a NIRx NIRScout Tandem 1616 (Glen Head, USA), with the continuous wave illumination method. Data were acquired at a sampling rate of 3.76 Hz.

It was used a combination of 30 sources and 28 detectors that formed 84 channels arranged on the scalp, bilaterally covering the frontal, parietal, temporal and occipital regions, following the guidance of the International 10-20 EEG System. The distance between the source and the receiver that formed each channel ranged from 1.5 to 2.5 cm, depending on their location.

The evaluation of cortical hemodynamic activity was considered functional (fNIRS), since it used auditory stimulation paradigms during the spectroscopy examination. The auditory stimulus consisted of the mother's baby talking spontaneously with the child.

The spectroscopic examination consisted of stimulation with the maternal voice. The mother was instructed to talk with the child, and six 10-second presentations of the mother's voice were administered spontaneously, interspersed with 10-second silence intervals. It should be noted that during this stage, the baby remained lying in the lap of his mother, and the intensity (shimmer (Befi-Lopes et al., 2014) - amplitude of the sound wave) maternal vocal emission was on average 60 dB, which corroborates with the study of Berti and Torres, 2011.

2.3. Analysis of cortical hemodynamic activity - fNIRS

Data on the evaluation of cortical hemodynamic activity in response to auditory stimulus were preprocessed in the nirsLAB-v2017 software (NIRX Medical Technologies, Glen Head, USA).

At this stage the intensities detected were filtered between 0.003 Hz and 0.5 Hz. These filters were used to eliminate interferences in the optical signal of physiological origin (breathing, heartbeat) and artifacts generated by excessive baby agitation and

noise. At this stage, hemodynamic states (HbO and HbR concentrations) were also calculated using the modified Beer-Lambert Law.

In the next step, post-processing, software nirsLAB-v2017 (NIRX Medical Technologies, Glen Head, USA) was used. In this phase, the mean hemodynamic response in each channel was calculated by all conditions of the experiment, from 20 seconds before the start of the stimulus until 20 seconds after the initiation of the stimulation. Subsequently, the parametric statistic (z) and the optical index for activation were calculated for all channels.

The next step was to calculate the mean response of HbO and HbR in the optical region of interest for each subject, generating a mean time series of hemodynamic response per group, and after that analysis tables and activation graphs could be generated for each group.

In addition, considering that the cortical response expected for the stimulus should be contralateral to the applied stimulus, a comparison of the total channels between the groups and the symmetrical channels in the left and right hemispheres was made for specific regions (Figure 1), comparing with the two groups studied, using the statistical analysis ANOVA Student's t test, controlled by the Levene Test for Equality of Variance, in order to verify possible differences between the means of the parametric variables.

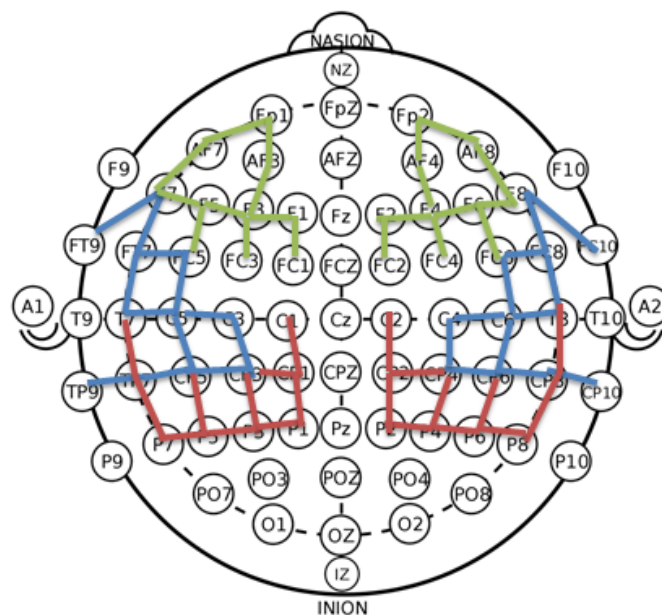


Figure 1: Selected channels for analysis of temporal (blue), frontal (green) and parietal (red) cortical hemodynamic response (Catani et al., 2012).

2.4. Descriptive analysis of data and comparison between groups

Statistical analysis was performed from the Statistical Package for Social Sciences for Personal Computer (SPSS 22.0). The study group was characterized by descriptive statistics. The continuous variables were expressed by measures of central tendency and dispersion and categorical variables by frequencies. The level of significance adopted in the study was 5%.

2.5. Positive and negative aspects in carrying out this scientific research

We scored as positive aspects the following factors: most of the children (70%) came from the Control Program of Congenital Toxoplasmosis of Minas Gerais (PCTC-MG), not presenting scientific bias, because they attended the care before completing three months of life, the rest were invited from the Maternity Santa Casa de Misericórdia; all children diagnosed with Congenital Toxoplasmosis were early treated,

receiving the medication pyrimethamine and sulfadiazine before completing 2 and a half months; Due care was taken in discarding premature infants from the study and who had some associated comorbidity.

As a negative aspect, we point out that at the moment of collection, some children were agitated, often having the displacement of the NIRS cap, at this time we await and restart the procedure; Mothers were instructed to speak at habitual intensity when talking to their children (60 dB), but some were shy, causing their voices not to reach 60 dB, and others even exceeding 60 dB because they habitually talked in a upper intensity; In some collections we had children awake and others sleeping during the whole experiment.

3. Results and Discussion

Sixty seven participants (40 of the congenital toxoplasmosis group and 27 group without congenital toxoplasmosis) were evaluated between October 2016 and January 2019. All infants underwent auditory evaluation and the fNIRS test. It should be noted that when analyzing the data in Nirslab we had eleven losses, because saved information of the examination had undergone modifications that made data analysis not possible for these patients.

3.1. Characterization of the studied group

The descriptive statistical analysis was performed with data from the groups. Description of the perinatal characteristics, children's age in the evaluations and age of those responsible are presented in table 1. It should be noted that all children with a diagnosis of toxoplasmosis would initiate or had already initiated the drug treatment (pyrimethamine and sulfadiazine).

Table 1: Neonatal characteristics of the groups with congenital toxoplasmosis and control, and those responsible.

Characteristics	Group	N	Mean	Standard Deviation	Maximum	Minimum
Age of Children (months)	C	27	1	0	2	0
	CT	40	1	0,82	3	0
	Total	67	1	0	3	0
Age of Mothers (years)	C	27	27	1	41	18
	CT	40	24	7	36	21
	Total	67	25	8	41	18
Gestational Age (weeks)	C	27	38,67	1	41	37
	CT	40	37,92	1	40	28
	Total	67	38,19	1	41	28
Birth Weight (kg)	C	27	3,07	0,604	4,026	2,31
	CT	40	3,03	0,19	3,24	2,97
	Total	67	3,04	0	4,026	2,31
Cephalometric Perimeter (cm)	C	27	37,7	1,99	42	35
	CT	40	37,6	2,13	45	32
	Total	67	37,6	2,077	45	32,1

C=Control; CT= Congenital Toxoplasmosis; Total=(C+ CT).

Among the group with Congenital Toxoplasmosis, it was found that 57.5% were males, the mean GA was 38.43 weeks and the mean weight was 3.030 kg, the mean CP was 37.6 cm. For the control group, it was found that 55.55% were female, the mean GA was 38.67 weeks and the mean weight was 3.070 kg and the mean CP was 37.7 cm. Regarding the auditory exams, it was possible to verify that in none of the groups there were alterations in the examinations results.

3.2. Group characterization was excluded

It should be noted that in analyzing the data in Nirslab, we had eleven losses because we did not get the results. With this in Table 2 we will characterize these children that we do not analyze in depth.

Table 2: Neonatal characteristics of the group of patients that were not possible to be analyzed in Nirslab.

Discarded Patients	Gender	Gestational Age	Age	Group Type	Cephalic Perimeter	Birth Weight	Associated Comorbidity
1	M	39	1m	2	32,1	3.000	No
2	F	40	2m	2	38,5	2.900	No
3	F	40	2m	1	39,8	3.150	No
4	M	39	2m	1	40	3.500	No
5	M	39	2m	1	42	3.200	No
6	F	40	2m	1	39	3.500	No
7	M	38	2m	1	40	3.195	No
8	F	38	2m	2	37	3.250	No
9	F	39	2m	1	37	3.150	No
10	F	39	2m	2	33	3.300	No
11	F	40	2m	2	34	2.900	No

Gender (Male/Female); Gestational Age (Weeks); Age (Months); Cephalic Perimeter (cm); Birth Weight (Kg)

3.3. Cortical hemodynamic activity

3.3.1. Descriptive analysis of cortical hemodynamic activity in response to auditory stimuli (mother's voice)

When the analysis was performed using the Nirslab software, separately by groups, it was possible to verify differences in each channel comparisons calculated for both HbO and HbR, using the statistical value Z. The Z values of HbO and HbR were combined to estimate the optical activation index for each channel. The channels that showed significant activation (considered as positive optical index value) in at least 50% (dark red color) of the children were selected for later statistical analysis of groups, generating an optical region of interest (ORI) for each age.

Subsequently, for each group, the mean HbO and HbR response of all subjects who had significant ORI activation was calculated, generating a series of hemodynamic response per group. In addition, from this analysis the activation graphs were generated for each group in the maternal voice condition (Figure 2). It was verified that in the congenital toxoplasmosis group the activations are more diffuse compared to the control group (point activations). During the maturation process, less clues are activated by a specific stimulus because most of them are tuned to other functions, so the area activated by this stimulus becomes smaller (Johnson, 2000). Therefore, we can assume that sensory activation tends to become unilateral as the cortex acquires greater specialization.

The child's brain already has a different sensitivity for the processing of acoustic signals, whether vocal or not, with different acoustic properties, this occurs from birth and during development in the first months of life. Studies indicate that these differences in sound stimuli cause a differential pattern of cerebral activation and hemispheric specialization in early childhood (Telkemeyer et al., 2011). In the study of Bamio, Musiek and Luxon (2001) it is suggested that the child is already capable of sound awareness, discriminating between the presence and absence of sounds and giving answers in the search for a specific sound between birth and four months of age.

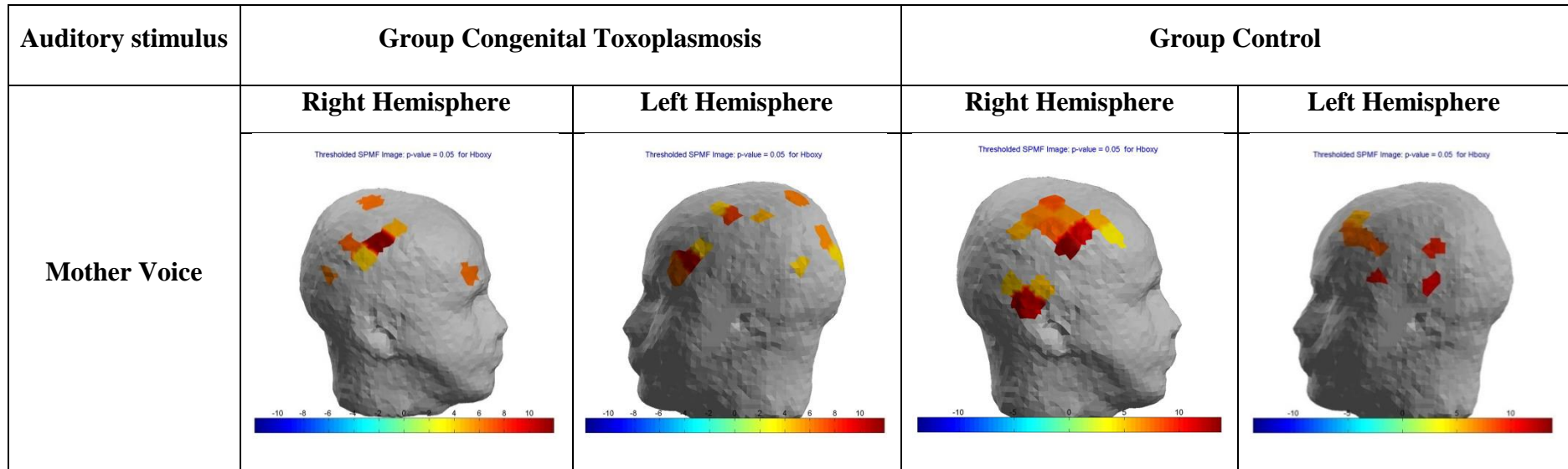
In the present study, in the control group, it was possible to verify greater activation in the temporal and temporoparietal region. In the group with congenital toxoplasmosis, greater activation in the frontal and temporoparietal regions was observed. In the study (Naoi et al., 2012) performed with 105 infants with ages ranging from 4 to 13 months and their mothers. It was possible to verify that the children from 4 to 13 months present a greater activation in the temporal area for speech with child prosody when compared to adult prosody for both maternal voice and unknown voice.

Furthermore, there is greater activation in the frontal area in response to prosody for the child with mother's voice stimulation when compared to other stimuli.

The data analyzed show that, from birth, infants are able to discriminate speech sounds and their phonetic contrasts. In our study, it was possible to verify a right hemisphere predominance in both groups, and other studies (Minagawa-Kawai et al., 2011; Gervain et al., 2012) report greater activation in the temporal areas of the left hemisphere, showing an efficient lateralization for the left hemisphere, which has large language centers. This reinforcement of left dominance may be considered a neural precursor for the acquisition of language.

This is a simple and inevitable consequence of the fact that the brain, like all biological systems, is subject to strong restrictions on bioenergetic and structural resources. In the study, altered development in a specific brain structure such as brain calcifications caused by congenital toxoplasmosis may reduce the resources available in these regions, and other regions will be permanently recruited (Just and Varma, 2007).

Figura 2: Total Channels activated by the hemisphere in the condition mother voice.



The description of the cortical hemodynamic activity characteristics in the totals of selected channels and the comparison between the control and congenital toxoplasmosis groups are shown in table 3. A statistically significant difference between the subgroups regarding the activation or deactivation during the auditory stimuli in the analyzed channels was noted.

Table 3: Characteristics of the cortical hemodynamic response in the total channels and comparison between the groups with congenital toxoplasmosis and control.

Total activation channels	Group (N)		Mean		SD		Mean standard error	
	C	CT	C	CT	C	CT	C	CT
Mother Voice	22	34	5,73	5,44	4,12	4,96	0,88	0,85

C=Control; CT= CongenitalToxoplasmosis. SD (Standard Deviation).

A Student's t-test ANOVA, controlled by the Levene Test for Equality of Variance, was also performed to verify possible differences between the means of the parametric variables (Table 4).

Table 4: Characteristics of the cortical hemodynamic response in the total of channels and comparison between the groups with congenital toxoplasmosis and control, using tests of independent samples.

Total of channels activated	Levene test				T-test for equality of averages		95% Range of Trust Difference		
	Z	Sig.	t	df	*Sig.	Difference average	Default error in Difference	Bottom Higher	
Mother Voice			Variance Equals assumed	0,23	54	0,82	0,28	1,27	-2,26 2,83
	0,73	0,39							
			Variance Equals no assumed	0,23	51	0,81	0,28	1,22	-2,16 2,74

*Sig (2 extremities)

Comparison between the optical regions of interest from temporal, frontal and parietal channels (ORI) in the right and left hemispheres did not indicate a statistically significant difference in the comparison between the groups (Table 5). However, with the Student t-test ANOVA, controlled by Levene's Test for Equality of Variance it was possible to verify a difference in the parietal cortex compared to the other regions (Table 6).

Table 5: Cortical hemodynamic characteristics of the optical regions of interest (ORI) of the temporal, frontal and parietal cortex in the one condition, compared with the groups.

Regions of Interest (ORI)	Group (N)		Mean		SD		Mean standard error	
	C	CT	C	CT	C	CT	C	CT
Temporal Cortex	22	34	1,90	2,32	1,82	2,54	0,39	0,44
Frontal Cortex	22	34	1,86	1,88	2,14	2,92	0,46	0,50
Parietal Cortex	22	34	1,72	1,17	2,25	1,80	0,48	0,30

C=Control; CT=Congenital Toxoplasmosis. SD (Standard Deviation).

Table 6: Characteristics of the cortical hemodynamic response of the regions of interest (ORI) of the temporal, frontal and parietal cortex in the maternal voice condition, compared to the groups, using independent sample tests.

Total of channels activated		Levene test			T-test for equality of averages		95% Range of Trust Difference			
		Z	Sig.	t	df	*Sig.	Difference average	Default error in Difference	Bottom	Higher
Temporal Cortex	Variance Equals assumed			-0,6	54	0,51	-0,41	0,62	-1,67	0,84
	Variance Equals no assumed	1,7	0,19	-0,8	53,3	0,48	-0,41	0,58	-1,58	0,75
	Variance Equals assumed			-0,2	54	0,97	-0,018	0,72	-1,47	1,43
	Variance Equals no assumed	0,9	0,76	-0,2	53,0	0,97	-0,018	0,68	-1,37	1,34
Frontal Cortex	Variance Equals assumed			1,0	54	0,31	0,55	0,54	-0,53	1,64
	Variance Equals no assumed	3,3	0,72	0,9	37,8	0,34	0,55	0,57	-0,60	1,70
	Variance Equals assumed									
	Variance Equals no assumed									
Parietal Cortex	Variance Equals assumed									
	Variance Equals no assumed									
	Variance Equals assumed									
	Variance Equals no assumed									

*Sig (2 extremities)

The main studies reviewed showed that the phonemic alterations activate the frontal and inferior parietal regions and the right temporal region; and activation occurs mainly in the right temporal region for prosodic contrasts (Arimitsu et al., 2011). This corroborates our findings, considering the variation of oxygenation detected by NIRS. In the newborns, it was observed that different syllabic structures caused activation in the frontal and temporal regions (Gervain et al., 2012). These same regions are activated in response to familiarity in the recognition of the mother's voice (Arimitsu et al., 2011).

4. Conclusion

In the present study, we provide the first exploration of how neural processing occurs for language of the newborn with and without congenital toxoplasmosis being influenced by the initial experience of language.

Bibliographic references

- Arimitsu, T.; Uchida-Ota, M.; Yagihashi, T.; Kojima, S.; Watanabe, S.; Hokuto, I. et al. 2011. Functional hemispheric specialization in processing phonemic and prosodic auditory changes in neonates. *Frontiers in Psychology*; 202, 2, 61-70. <https://doi.org/10.3389/fpsyg.2011.00202>.
- Bamiou, D.E.; Musiek, F.E.; Luxon, L.M. 2001. Aetiology and clinical presentations of auditory processing disorders- a review. *Arch Dis Child*; 85, 361-365. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1718975/>.
- Befi-Lopes, D.M.; Cáceres-Assençõ, A.M.; Marques, S.F.; Vieira, M. 2014. Escolares com distúrbio específico de linguagem utilizam mais rupturas de fala que seus pares. *CoDAS*; 26, 6, 439-443. doi: 10.1590/2317-1782/20142014095.
- Berti, L.; Torres, L. 2011. Comparação entre medidas acústicas de vogais em provas de repetição e conversa espontânea. *Linguagem & Ensino, Pelotas*; 14, 2, 553-572.
- Catani M, et al., Beyond cortical localisation in clinico-anatomical correlation, *Cortex* (2012), <http://dx.doi.org/10.1016/j.cortex.2012.07.001>.
- DeCasper, A.J.; Fifer, W.P. 1980. Of human bonding: newborns prefer their mother's voice. *Science* 208, 1174–1176.
- Dehaene-Lambertz, G., Montavont, A., Jobert, A., Alliol, L., Dubois, J., Hertz-Pannier, L., Dehaene, S., 2010. Language or music or Mozart? Structural and environmental influences on infant's language networks. *Brain Lang.* 114, 53–65. DOI: [10.1016/j.bandl.2009.09.003](https://doi.org/10.1016/j.bandl.2009.09.003).
- Demany, L.; Mckensie, B.; Vurpillot, E. 1977. Rhythm perception in early infancy. *Nature*; 266, 718–19.
- DeRegnier, R.; Nelson, C.A.; Thomas, K.M. et al. 2000. Neurophysiologic evaluation of auditory recognition memory in healthy newborn infants and infants of diabetic mothers. *J Pediatr*; 137, 777–84. DOI: [10.1067/mpd.2000.109149](https://doi.org/10.1067/mpd.2000.109149).

- Dunn, D.; Wallon, M.; Peyron, F.; Petersen, E.; Peckham, C.; Gilbert, R. 1999. Mother-to-child transmission of toxoplasmosis: risk estimates for clinical counseling. *Lancet*; 353 (9167):1829-33. <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0140673698082208>.
- Flores, M. R.; Beltrami, L.; de Souza, A.P.R. 2011. O manhês e suas implicações para a constituição do sujeito na linguagem. *Distúrb Comun, São Paulo*; 23, 2, 143-152.
- Gervain, J.; Berent, I.; Werker, J.F. 2012. Binding at birth the newborn brain detects identity relations and sequential position in speech. *J Cogn Neurosci.*; 24, 3, 564-74. https://www.mitpressjournals.org/doi/10.1162/jocn_a_00157.
- Johnson, M. H. 2000. Functional brain development in infants: Elements of an interactive specialization framework. *Child Development*, 71, 75-81. 2000. doi: 10.1111/1467-8624.00120.
- Joint Committee on Infant Hearing. Year 2007 Position Statement: principles and guidelines for early hearing detection and intervention programs. *Pediatrics*. 2007; 120, 4, 898-921.
- Just, M. A.; Varma, S. 2007. The organization of thinking: What functional brain imaging reveals about the neuroarchitecture of complex cognition. *Cognitive, Affective & Behavioral Neuroscience*, 7, 3, 153-191. <https://doi: 10.3758/CABN.7.3.153>.
- Laznik, M.C.; Maestro, S.; Muratori, F.; Parlato, E. 2005. Interações sonoras entre bebês que se tornaram autistas e seus pais. *An Col Franco-Bras sobre a Clínica com Bebês*. Jan, 2005; Paris. [proceedings online] Disponível em: URL: <http://www.proceedings.scielo.br/scielo.php?script=sciarttext&pid=MSC000000072005000100004&lng=en&nrm=abn>>. Acesso em 02 de fevereiro de 2019).
- Lebech, M.; Joynson, D.H.; Seitz, H.M.; Thulliez, P.; Gilbert, R.; Dutton, G.N.; et al. 1996. Classification system and case definitions of *Toxoplasma gondii* infection in immunocompetent pregnant women and their congenitally infected offspring. European Research Network on Congenital Toxoplasmosis. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*; 15. 799-805.
- Litchtig, I.; Monteiro, S.R.G.; Couto, M.I.V.; de Haro, F.M.B.; de Campos, M.S.C.; Vaz, F.A.C.; Okay, Y. 2001. Avaliação do comportamento auditivo e neuropsicomotor em lactentes de baixo peso ao nascimento. *Rev Ass Med Brasil*; 47, 1, 52-8. <http://dx.doi.org/10.1590/S0104-42302001000100030>.

- Liu, H.-M.; Kuhl, P.K.; Tsao, F.-M. 2003. An association between mothers' speech clarity and infants' speech discrimination skills. *Dev. Sci.* 6, F1-F10. <https://doi.org/10.1111/1467-7687.00275>.
- Liu, H.-M. Tsao, F.-M, Kuhl, P.K., 2009. Age-related changes in acoustic modifications of mandarin maternal speech to preverbal infants and five-year-old children: a longitudinal study. *J. Child Lang.* 36, 909. <https://doi.org/10.1017/S030500090800929X>.
- Marchiori, L.L.M. 2002. Análise das Alterações Auditivas em Escolares com Queixa de Problemas de Aprendizagem. *Fono Atual;* 21, 10-15. <http://www.scielo.br/pdf/rboto/v72n5/a07v72n5.pdf>.
- Mehler, J.; Bertoncini, J.; Barriere, M. 1978. Infant recognition of mother's voice. *Perception* 7, 491–497. DOI: [10.1068/p070491](https://doi.org/10.1068/p070491).
- Minagawa-Kawai, Y.; Lely, H.V.D.; Ramus, F.; Sato, Y.; Mazuka, R.; Dupoux, E. 2011. Optical brain imaging reveals general auditory and language-specific processing in early infant development. *Cereb Cortex;* 21, 2, 254-61. <https://doi.org/10.1093/cercor/bhq082>.
- Moore, D.R. 2007. Auditory processing disorders: Acquisition and treatment. *Journal of Communication Disorders;* 40, 4, 295-304.
- Naoi, N.; Minagawa-Kawai, Y.; Kobayashi, A.; Takeuchi, K.; Nakamura, K.; Yamamoto, J.; Kojima, S. 2012. Cerebral responses to infant-directed speech and the effect of talker familiarity. *NeuroImage;* 59, 2, 1735-44. <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1053811911009062>.
- Purhonen, M., Kilpeläinen-Lees, R., Valkonen-Korhonen, M., Karhu, J., Lehtonen, J., 2004. Cerebral processing of mother's voice compared to unfamiliar voice in 4-month-old infants. *Int. J. Psychophysiol.* 52, 257–266. DOI: [10.1016/j.ijpsycho.2003.11.003](https://doi.org/10.1016/j.ijpsycho.2003.11.003).
- Purhonen, M., Kilpeläinen-Lees, R., Valkonen-Korhonen, M., Karhu, J., Lehtonen, J., 2005. Four-month-old infants process own mother's voice faster than unfamiliar voices- electrical signs of sensitization in infant brain. *Cogn. Brain Res.* 24, 627–633. DOI: [10.1016/j.cogbrainres.2005.03.012](https://doi.org/10.1016/j.cogbrainres.2005.03.012).
- Saadatnia, G.; Golkar, M. 2012. A review on human toxoplasmosis. *Scand J Infect Dis.;* 44 (11): 805-14. https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.3109/00365548.2012.693197?journalCode=inf_d19.

Santos, J.N.; Lemos, S.M.A.; Rates, S.P.M.; Lamounier, J.A. 2008. Habilidades auditivas e desenvolvimento de linguagem em crianças. *Pró-Fono Revista de Atualização Científica*; out-dez; 20, 4, 255-60. <http://dx.doi.org/10.1590/S0104-56872008000400009>.

Telkemeyer, S.; Rossi, S.; Nierhaus, T.; Steinbrink, J.; Obrig, H.; Wartenburger, I. 2011. Acoustic processing of temporally modulated sounds in infants: evidence from a combined near-infrared spectroscopy and EEG study. *Frontiers Psychology*; 62, 2, 28-27. <https://doi.org/10.3389/fpsyg.2011.00062>.

Yoshinaga-Itano, C. 2003. From Screening to Early Identification and Intervention: Discovering Predictors to Successful Outcomes for Children With Significant Hearing Loss. *J Deaf Stud Deaf Educ*; 8, 01, 11–30. <https://doi.org/10.1093/deafed/8.1.11>.

Zocoli, A.M.F.; Riechel, F.C.; Zeigelboim, B.S.; Marques, J.M. 2006. Audição: abordagem do pediatra acerca dessa temática. *Rev Bras Otorrinolaringol*; 72, 5, 617-23.

6.2 *Artigo Original (2): Short Communication*

Title: Cortical Hemodynamic Response in Babies by means of hearing stimulation

Authors: Ana Livia Libardi Bertachini^{a,b}, Luciana Macedo de Resende^{b,c}, Gabriela Cintra Januário^{a,b}; Roberta Maia de Castro Romanelli^{b,d}, Rickson Coelho Mesquita^e, Gláucia Manzan Queiroz de Andrade^{b,f}, Débora Marques de Miranda^d

Institutional affiliation

^aSpeech-Language Pathologist. PhD student in the Child and Adolescent Health Program at the Faculty of Medicine, Federal University of Minas Gerais – UFMG. Belo Horizonte, Minas Gerais, Brazil.

^bResearcher associated with Núcleo de Ações e Pesquisa em Apoio Diagnóstico (Nupad).

^cAdjunct Professor, Department of Speech, Language and Hearing Pathology, Faculty of Medicine, Federal University of Minas Gerais – UFMG. Belo Horizonte, Minas Gerais, Brazil.

^dAssociate Professor, Department of Pediatrics Faculty of Medicine, Federal University of Minas Gerais – UFMG. Belo Horizonte, Minas Gerais, Brazil.

^eAssociate Professor, Department of Physics, UNICAMP, Campinas, São Paulo, Brazil.

^fAdjunct Professor, Department of Pediatrics Faculty of Medicine, Federal University of Minas Gerais – UFMG. Belo Horizonte, Minas Gerais, Brazil.

Address for correspondence: Débora Marques de Miranda. Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia em Medicina Molecular, Universidade Federal de Minas Gerais. Av. Prof. Alfredo Balena 190, Santa Efigênia – 30130-100 – Belo Horizonte, MG, Brazil. E-mail: debora.m.miranda@gmail.com. Telephone number: 00 55 31 3409-9750.

Abstract

Hemodynamic cortical activity of babies with aging between 20 days to 3 months was evaluated in response to four different auditory stimulations. Auditory stimulation consisted by the maternal voice, the unfamiliar recorded voice, the researcher voice and

mother's reading voice with the brain response being registered by infrared light spectroscopy. Auditory integrity was assessed with Imitancimetry, Transient evoked otoacoustic emissions and brainstem auditory evoked potential. In the present study, the FDR test was applied method adjusted in a level of significance of 5% ($p < 0.05$). When we applied this correction, we verified that all combinations reached a level of statistical significance.

Keywords: Near infrared spectroscopy (NIRS), language, hearing, cortex, electrophysiology

1. Introduction

Maternal speech is primordial to the acquisition of the language and social skills. Maternal's voice characteristics directs the baby interest and consequently they tend to move their eyes for the person who is addressing them, actively seeking eyes contact (Flores, Beltrami and Souza, 2011). The baby's reactions follow the curves of the "mother like" prosody produced by the mothers (Laznik et al., 2005). Functional magnetic resonance imaging (fMRI) studies with adult subjects show that the superior temporal gyrus (STG) and the proximity of the superior temporal sulcus (STS) are regions associated bilaterally in processing vocalizations, with the right hemisphere playing a dominant role (Flores, Beltrami and Souza, 2011; Laznik et al., 2005). While, the left-lateralized network of the STG and the left angular gyrus are responsible for language processing (Belin and Grosbras, 2010).

Infants seems to recognise human voices independently from the speech content (Demany, Mckensie and Vurpillot, 1977). Infants can discriminate his or her own mother's voice from a different voice (DeCasper and Fifer, 1980; DeRegnier et al.,

2000), because he or she has heard the maternal voice in utero. The features like quiet speech, paused and gentle tone of voice. of the maternal voice make the baby to have interest and to move their eyes to the person who is addressing them, actively seeking the eyes contact (Flores, Beltrami and Souza, 2011). The baby's reactions follow the curves of the maternal prosody (Laznik et al., 2005).

We aimed to verify the cortical hemodynamic responses from children when exposed to different auditory stimuli to describe the differences of activation.

2. Methods

2.1 Subjects

Data collection was preceded by approval by the Research Ethics Committee of UFMG, under CAAE no. 45493415.6.0005149. Twenty-six children (from 20 days to 3 months of age) from the Nucleus of Actions and Research in Diagnostic Support (NUPAD) of the Neonatal Screening Program of Minas Gerais (PTN-MG), who had negative test result for serology of congenital toxoplasmosis. As inclusion criteria the following aspects were adopted: to sign the Informed Consent Term (ICF), children within the age range from zero to three months, normal results in auditory assessment of impedance measures and brainstem auditory evoked potential (presence of wave V for clicks to 40 dBNA in BAEP and normality of ossicular tympanic system, type A tympanometric curve and acoustic reflexes present).

2.2 Near-infrared spectroscopy and Auditory stimuli

The NIRS instrument used in this study was a NIRx NIRScout Tandem 1616 (Glen Head, USA), with the continuous wave illumination method. Data were acquired at a sampling rate of 3.76 Hz.

It was used a combination of 30 sources and 28 detectors that formed 84 channels arranged on the scalp, bilaterally covering the frontal, parietal, temporal and occipital regions, following the guidance of the International 10-20 EEG System. The distance between the source and the receiver that formed each channel ranged from 1.5 to 2.5 cm, depending on their location.

The evaluation of cortical hemodynamic activity was considered functional (fNIRS), since it used auditory stimulation paradigms during the spectroscopy examination. Auditory stimuli consisted of four different arrangements: the mother's baby talking spontaneously with the child, Researcher voice (unfamiliar voice), Controlled unfamiliar voice (recorded) and the mother performing a reading of a short text "A little red riding hood".

During spectroscopic examination, all stimuli consisted of, six 10-second presentations of the voices, interspersed with 10-second silence intervals. Note that during this phase, the baby remained lying on his mother's lap, and the intensity (Shimmer) (Befi-Lopes et al., 2014) - amplitude of the sound wave) of the vocal emission was on average 60 dBSPL, which corroborates with the study of (Berti and Torres, 2011).

2.3 Analysis of cortical hemodynamic activity - fNIRS

Data on the evaluation of cortical hemodynamic activity in response to auditory stimulus were preprocessed in the nirsLAB-v2017 software (NIRX Medical Technologies, Glen Head, USA).

At this stage the intensities detected were filtered between 0.003 Hz and 0.5 Hz. These filters were used to eliminate interferences in the optical signal of physiological origin (breathing, heartbeat) and artifacts generated by excessive baby agitation and

noise. At this stage, hemodynamic states (HbO and HbR concentrations) were also calculated using the modified Beer-Lambert Law.

The next step was to calculate the mean response of HbO and HbR in the optical region of interest for each subject, generating a mean time series of hemodynamic response, and after that analysis tables and activation graphs could be generated for children.

In addition, we performed an analysis of the total activated channels for each stimulus and an analysis according to the hemodynamic cortical response for each hemisphere, thus listing regions of interest. For the statistical analysis, the Test - t of paired samples was performed.

Due to the large amount of variables used in the study we have the risk of spurious associations. To minimize the false associations, the false discovery rate (false discovery rate, or FDR) was used. Cutoff was set at 0.05 for significance for a simple comparisons. FDR is defined as the number of false discoveries divided by the total number of discoveries (both true and false). For the FDR, the Benjamini-Hochberg (1995) test (BH) was used, since the p-values were calculated for all hypothesis tests and ordered in an increasing way. The formula $(i / m) Q$ was used (i = the individual p-value's rank; m = total number of tests; and Q = the false discovery rate (a percentage, chosen was 0.05).

3. Results and Discussion

Using Nirxlab software, it was possible to verify differences in the Z-score comparisons of each channel calculated for HbO and HbR. The Z values of HbO and HbR were combined to estimate the optical score for each channel. Channels with a significant activation (considered as positive optical index value) in at least 50% (dark

red) of the children were selected for subsequent statistical analysis, generating an optical region of interest (ORI).

The mean HbO and HbR response was calculated for all subjects who had significant ORI activation, generating a series of hemodynamic responses per hemisphere. The activation regions were shown in graphs generated for the four conditions proposed by the study (Figure 2).

Even in an early age, the child's brain processes differently the acoustic signals. Differences in sound stimuli seem to cause a differential pattern of cerebral activation and hemispheric specialization in early childhood (Telkemeyer et al., 2011). In the study by Bamiou, Musiek and Luxon (2001), the authors suggest that the child is already capable of sound awareness, discriminating between the presence and absence of sounds and answering in search for a specific sound between birth and four months of age.

In a study (Naoi et al., 2012) carried out with 105 infants with ages ranging from 4 to 13 months and their mothers, children had a greater activation in the temporal area for speech with prosody for the child when compared to adult prosody for both maternal voice and unknown voice. Greater activation in the frontal area was observed in response to prosody for the child after stimulation with the mother's voice when compared to the other stimuli. Already in our study, we could perceive that when it comes to the stimulus performed with the maternal voice, a greater activation is noticed in the frontotemporal and temporoparietal regions and when analyzing the stimulus voice of the researcher (not familiar) we perceive activation only in the temporal region.

Based on our findings, we observe that infants are able to discriminate speech sounds and their phonetic contrasts. Lateralization of the auditory response in the left hemisphere was predominant, which corroborates with previous studies (Minagawa-

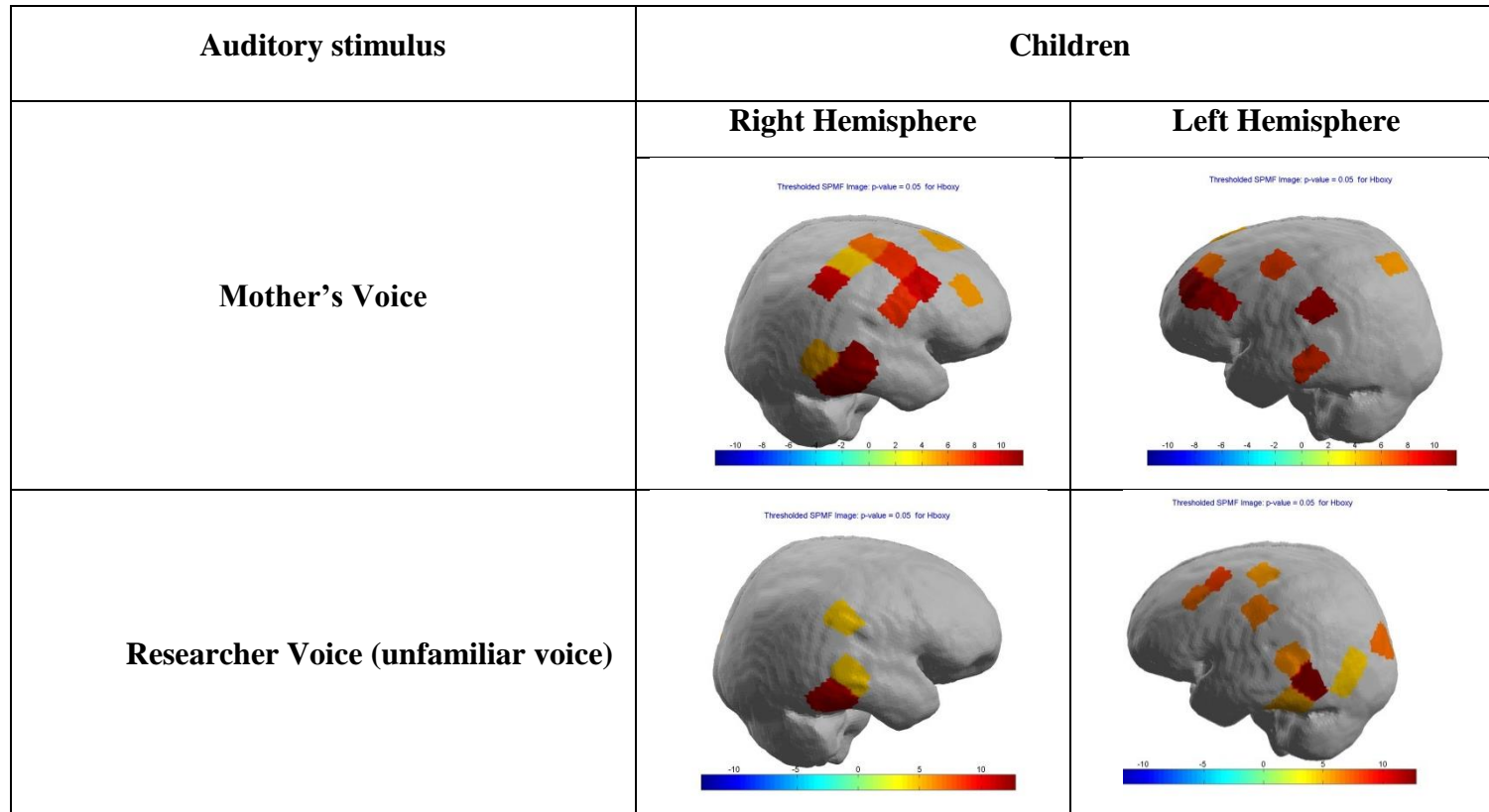
Kawai et al., 2011; Gervain et al., 2012). Temporal area of the left hemisphere is the dominant region for language processing. This reinforcement of left dominance can be considered a neural precursor for the acquisition of language. According to the study from Noyes-Grosser (2005), the child initially develops the spoken words (phonological and morphologic level) and assigns meaning to them (semantic level). This function relates to the Wernicke area and the adjacent association cortex, located in the upper and lower parietal temporal region. Children with delayed language may experience difficulties in various dimensions, such as phonological, morphological, semantic and pragmatics.

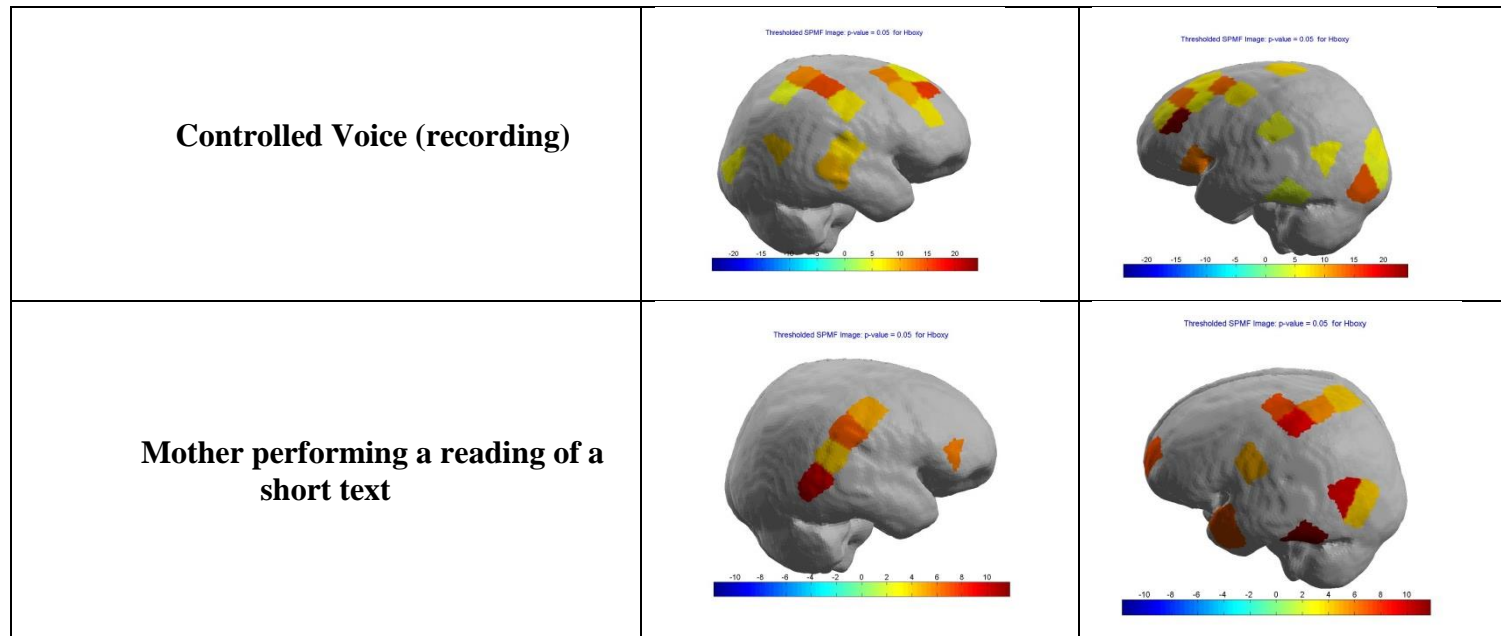
When analyzing the recorded voice, no evident activation pattern was identified, as it happened with mother's voice. Nonetheless some activation occurred in the frontal region of the left hemisphere. The similar happens in Naoi et al., 2012 study, which reports that the stimulus with a more clear activation was the mother's voice when compared to unknown voices or a recorded message.

In the study by Kotilahti et al. 2010 there was no consistent cerebral lateralization in response to the auditory stimuli from a storytelling. However, the mean response to speech stimuli was significantly greater than zero in the left hemisphere, which did not occur in the right hemisphere. In our study we had a greater area of activation in the left hemisphere, which corroborates with the cited study.

The value of p was calculated using 42 combinations of the variables in relation to the four voice stimulus conditions with cortical hemodynamic activation of the total brain, the relation with the right and left hemispheres and in relation to the regions of interest and corrected by the FDR method adjusted in a level of significance of 5% ($p < 0.05$). When we applied this correction, we verified that all combinations reached a level of statistical significance.

Figura 1: Total Channels activated by the hemispheres in all four conditions.





4. Conclusion

By using the conditions described in this study, we compare the brain activation in infants after diverse auditory stimuli. This study provides a basis for future research to explore the functional role of brain activity. Disorders of the auditory and / or language skills correspond to areas of interest studied.

Future basis to explore the functional role of brain activity, such as in comparing the course of development and differences for premature children, children with hearing loss, and other developmental, sensory diseases.

Reference

- Bamiou, D.E.; Musiek, F.E.; Luxon, L.M. 2001. Aetiology and clinical presentations of auditory processing disorders- a review. *Arch Dis Child*; 85, 361-365.
- Befi-Lopes, D.M.; Cáceres-Assenço, A.M.; Marques, S.F.; Vieira, M.. Escolares com distúrbio específico de linguagem utilizam mais rupturas de fala que seus pares. *CoDAS*; 26, 6, 439-43. 2014.
- Belin, P., Grosbras, M.H. Before speech: cerebral voice processing in infants. *Neuron* 25, 733–735. 2010.
- Benjamini, Y.; Hocheberg, Y. Controlling the False Discovery Rate: a Practical and Powerful Approach to Multiple Testing. *Journal of the Royal Statistics Society, London*, v.57, n.1, p.289-300, 1995.
- Berti, L.; Torres, L.. Comparação entre medidas acústicas de vogais em provas de repetição e conversa espontânea. *Linguagem & Ensino, Pelotas*; 14, 2, 553-572. 2011.
- DeCasper, A.J.; Fifer, W.P. Of human bonding: newborns prefer their mother's voice. *Science* 208, 1174–1176. 1980.
- DeMany, L.; Mckensie, B.; Vurpillot, E. Rhythm perception in early infancy. *Nature*; 266, 718–19. 1977.
- DeRegnier, R.; Nelson, C.A.; Thomas, K.M. et al. Neurophysiologic evaluation of auditory recognition memory in healthy newborn infants and infants of diabetic mothers. *J Pediatr*; 137, 777–84. 2000. DOI: [10.1067/mpd.2000.109149](https://doi.org/10.1067/mpd.2000.109149).

- Flores, M.R.; Beltrami, L.; De Souza, A.P.R.. O manhês e suas implicações para a constituição do sujeito na linguagem. *Distúrb Comun, São Paulo*, 23(2): 143-152. 2011.
- Gervain J, Berent I, Werker JF. Binding at birth: the newborn brain detects identity relations and sequential position in speech. *J Cogn Neurosci*. 2012 Mar;24(3):564-74.
- Kotilahti K, Nissila I, Nasi T, Lipiainen L, Noponen T, Merilainen P, et al. Hemodynamic responses to speech and music in newborn infants. *Hum Brain Mapp*. 2010 Apr;31(4):595-603.
- Laznik, M.C.; Maestro, S.; Muratori, F.; Parlato, E. Interações sonoras entre bebês que se tornaram autistas e seus pais. *An Col Franco-Bras sobre a Clínica com Bebês*. Jan, Paris. 2005. [proceedings online] Disponível em: URL: <http://www.proceedings.scielo.br/scielo.php?script=sciarttext&pid=MSC000000072005000100004&lng=en&nrm=abn>>. Acesso em 02 de dezembro de 2017).
- Minagawa-Kawai Y, van der Lely H, Ramus F, Sato Y, Mazuka R, Dupoux E. Optical brain imaging reveals general auditory and language-specific processing in early infant development. *Cereb Cortex*. 2011 Feb;21(2):254-61.
- Naoi N, Minagawa-Kawai Y, Kobayashi A, Takeuchi K, Nakamura K, Yamamoto J, et al. Cerebral responses to infant-directed speech and the effect of talker familiarity. *NeuroImage*. 2012 Jan 16;59(2):1735-44.
- Noyes-Grosser DM et al. Rationale and methodology for developing guidelines for early intervention services for young children with developmental disabilities. *Infants & Young Children* 2005, v.18,p.119-135.
- Telkemeyer S, Rossi S, Nierhaus T, Steinbrink J, Obrig H, Wartenburger I. Acoustic processing of temporally modulated sounds in infants: evidence from a combined near-infrared spectroscopy and EEG study. *Frontiers in psychology*. 2011;1:62.

7. CONSIDERAÇÕES FINAIS

A hemodinâmica cerebral permite avaliação e associação entre informações da audição e da linguagem com a estrutura e /ou o funcionamento cerebral em crianças nos estágios iniciais do desenvolvimento.

No primeiro artigo original, apresentamos evidências de que o funcionamento cortical em resposta à estimulação da voz materna é diferente para crianças com o diagnóstico de toxoplasmose congênita ao compararmos com as crianças sem a infecção pelo *Toxoplasma gondii*. Esses resultados levantam uma série de questões sobre como os processos cerebrais influenciam a manifestação de uma habilidade ou comportamento a eles relacionado. A atividade cortical se mostrou diferente nas crianças com toxoplasmose congênita, sendo mais recrutante nesses indivíduos, o que corrobora com a literatura quando se usa o fNIRS com outras comorbidades.

No segundo artigo (short communication), os resultados evidenciam que o funcionamento cortical em crianças saudáveis em resposta à quatro tipos de estimulação podem ser diferentes, mesmo não apresentando mudanças hemodinâmicas corticais tão evidentes.

Para identificar diferenças hemodinâmicas com a fNIRS, o tamanho amostral pareceu suficiente, corroborando com os dados da literatura que apontam um número mínimo de 10 crianças em cada grupo para a identificação de diferenças na resposta cortical, mesmo se tratando de crianças, que representam um grupo de grande variabilidade.

As dificuldades presentes foram em relação a técnica, ou seja, a dificuldade de adaptação das crianças à touca usada durante o exame de fNIRS e o tempo longo de duração do protocolo de aquisição dos dados, fazendo com que muitas crianças ficassem cansadas, inviabilizando a obtenção das respostas, principalmente as comportamentais.

Estudos que envolvam amostras maiores são recomendados. Além disso, sugerimos o desenvolvimento de pesquisas que investiguem a atividade cortical e a sua associação

com os testes de desenvolvimento da linguagem nesta população, visto que a grande maioria das crianças com diagnóstico de toxoplasmose auditiva apresentam alterações no processamento da audição. Uma sugestão seria comparar a resposta cortical dessas crianças com um teste já padronizado (como a Bayley-III – como sugestão) com os resultados de crianças sem a toxoplasmose congênita, o que é de nosso interesse para futuras pesquisas.

A complexidade das questões abordadas nesse estudo ainda exige mais esforços para esclarecer as contribuições dos múltiplos fatores envolvidos no desenvolvimento auditivo dessas crianças estudadas, bem como sua associação com a atividade hemodinâmica cortical e fatores de desfecho.

ANEXOS E APÊNDICES

ANEXO 1 – Aprovação do Comitê de Ética (COEP) UFMG

UNIVERSIDADE FEDERAL DE
MINAS GERAIS



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DA EMENDA

Título da Pesquisa: Estudo do Processamento Sensorial Auditivo na Toxoplasmose Congênita diagnosticada e tratada precocemente: estudo longitudinal

Pesquisador: Débora Marques de Miranda

Área Temática:

Versão: 3

CAAE: 45493415.6.0000.5149

Instituição Proponente: UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 2.277.701

Apresentação do Projeto:

A toxoplasmose congênita é uma doença infecciosa que decorre da transferência do protozoário *Toxoplasma gondii* da placenta para feto. Estudos recentes demonstram que a toxoplasmose congênita é um potencial indicador de risco para surdez. Observa-se a ocorrência de perda auditiva neurossensorial em crianças com essa infecção. Essa realidade pode ser explicada pelo processo inflamatório desencadeado pelo parasito com conseqüente surgimento de calcificação intracraniana que acomete a Orelha Interna. Existe um delicado equilíbrio entre a resposta imune do hospedeiro, que tenta eliminar o parasito, e as estratégias de evasão imune provocada pelo parasito, que permitem a sobrevivência final de ambos, o parasito e o hospedeiro. A investigação de possíveis lesões ou disfunções no Sistema Nervoso Auditivo Central, como transtorno do processamento auditivo tem sido feita através dos Potenciais Evocados Auditivos (PEAs) e Near Infrared Spectroscopy (NIRS). Neste contexto, as evidências sugerem que crianças com toxoplasmose congênita apresentam maior risco de desenvolver transtorno do processamento auditivo e no grupo com sequelas neurológicas o risco pode ser ainda maior. Pretende-se avaliar as respostas a estímulos auditivos através do uso de MMN e a NIRS. Procura-se ainda, investigar as citocinas pró-

Endereço: Av. Presidente Antônio Carlos, 6627 2º Ad S1 2005

Bairro: Unidade Administrativa II

CEP: 31.270-901

UF: MG

Município: BELO HORIZONTE

Telefone: (31)3409-4592

E-mail: coep@prpq.ufmg.br

UNIVERSIDADE FEDERAL DE
MINAS GERAIS



Continuação do Parecer: 2.277.701

inflamatórias e anti-inflamatórias na determinação da ocorrência, gravidade da doença e definição de desfecho. Para tal, será conduzido um estudo de coorte longitudinal, descritivo com 60 crianças com toxoplasmose congênita, acompanhando as idades de um mês, 12 meses, 24 meses. Será realizada uma análise dos prontuários em que consta o estado de saúde geral dos pacientes com toxoplasmose congênita, e também se há ou não sequelas neurológicas (calcificações, dilatação ventricular) e oftalmológicas (retinocoroidite), bem como os resultados de exames de imagens (ultra-som transfontanela e/ou tomografia computadorizada do crânio) já realizados. Todos os procedimentos serão realizados individualmente com as crianças e/ou familiar, pela própria pesquisadora. Para posterior análise e estudos estatísticos, as respostas encontradas serão anotadas em protocolo específico. Antes da realização de quaisquer procedimentos será realizada a pesquisa timpanométrica e emissões otoacústicas evocadas por estímulo transiente. As avaliações auditivas serão realizadas com as crianças em sono natural, ou acordadas em estado de calma e silêncio para não interferir na obtenção dos resultados dos exames. Será coletado sangue venoso dos participantes da pesquisa em tubos heparinizados, com anticoagulante EDTA e em tubos sem anticoagulantes. A quantificação dos marcadores será realizada através do Kit HSTCMAG-28SK-21 Human High Sensitivity T Cell, 21 plex, contendo marcadores pró e anti-inflamatórios, utilizando a tecnologia Luminex. Amostras de plasma ou soro dos participantes serão utilizadas para a realização dos testes. A pesquisa das emissões otoacústicas evocadas por estímulo transiente (EOAT) será realizada com estímulo clique não-linear e intensidade 80dBnps, numa janela de 20ms. O MMN será realizado com o equipamento Biologic Navigator Pro e registrado mediante a utilização de cinco eletrodos descartáveis posicionados em Fz e Cz em referência ao lóbulo direito (Fz e Cz/A2) e depois esquerdo (Fz e Cz/A1), utilizando-se os 2 canais de registro do equipamento, com o eletrodo terra posicionado em Fpz. No NIRS será registrado o comportamento da hemodinâmica cerebral. Avaliação da Linguagem será feita por meio de um instrumento que avalia o vocabulário expressivo, isto é, quantas e quais palavras uma criança fala, verificando o conteúdo da linguagem destinada a crianças a partir de dois anos de idade. As variáveis estudadas serão a infecção congênita pelo *T. gondii*, a presença de sequelas neurológicas, os resultados audiológicos, o comportamento da hemodinâmica cerebral e o desenvolvimento da linguagem. Será feita análise descritiva dos resultados dos exames realizados. Também será verificada a associação entre os resultados obtidos nos diferentes procedimentos e nas diferentes idades dos participantes. A análise de dados será executada por meio do programa

Endereço: Av. Presidente Antônio Carlos, 6627 2º Ad SI 2005
Bairro: Unidade Administrativa II **CEP:** 31.270-901
UF: MG **Município:** BELO HORIZONTE
Telefone: (31)3409-4592 **E-mail:** coep@prpq.ufmg.br

Continuação do Parecer: 2.277.701

estatístico SPSS versão 18.0. A análise descritiva da população estudada será feita por média, desvio padrão e mediana. Será realizada uma comparação entre os grupos de variáveis categóricas utilizando o teste não

paramétrico de Mann-Whitney. O nível de significância utilizado será de 5% ($p < 0,05$).

Objetivo da Pesquisa:

Identificar marcadores imunológicos associados ao déficit auditivo em bebês oriundos do programa estadual de triagem neonatal diagnosticados com toxoplasmose congênita durante o tratamento e estudar os potenciais evocados auditivos (MMN), a evolução do processamento sensorial auditivo e Espectroscopia óptica de difusão (NIRS) em crianças que foram identificadas pelo programa de triagem neonatal com diagnóstico de toxoplasmose congênita quando iniciam o tratamento no primeiro mês de vida e também crianças que estão em fase final do tratamento aos 12 meses de idade.

- Objetivo Secundário:

+ Correlacionar os biomarcadores identificados nas crianças submetidas ao tratamento com as deficiências no desenvolvimento de linguagem.

+ Descrever os achados audiológicos dos MMN de crianças identificadas pelo programa de triagem neonatal com diagnóstico de toxoplasmose congênita e submetidos a tratamento precoce, avaliados com um mês e 12 meses de idade.

+ Observar as respostas corticais relacionadas à conectividade obtidas por NIRS nas crianças com toxoplasmose congênita e verificar os resultados na idade de um mês e também a de 12 meses de vida.

+ Correlacionar os achados obtidos pela NIRS e os MMN observando correlação entre os achados de oximetria das mais diversas regiões do cérebro e o potencial evocado.

+ Aplicar o instrumento de Avaliação de Desenvolvimento de Linguagem (ADL) nas crianças que foram identificadas pelo programa de triagem neonatal com diagnóstico de toxoplasmose congênita quando elas estiverem com 24 meses de idade

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Riscos:

Por apresentar uma etapa de cunho experimental com procedimento invasivo, a pesquisa apresenta riscos no momento da coleta sanguínea, para as crianças. Visando minimizar os riscos físicos, este procedimento será realizado por profissionais devidamente capacitados. Já a etapa de avaliação (observacional e longitudinal) será indolor e não invasiva, não apresentando riscos a integridade física dos

Endereço: Av. Presidente Antônio Carlos, 6627 2º Ad SI 2005
Bairro: Unidade Administrativa II **CEP:** 31.270-901
UF: MG **Município:** BELO HORIZONTE
Telefone: (31)3409-4592 **E-mail:** coep@prpq.ufmg.br

UNIVERSIDADE FEDERAL DE
MINAS GERAIS



Continuação do Parecer: 2.277.701

participantes. As anotações sobre os resultados dos exames serão mantidos em segredo de acordo com a legislação atual.

Em todas as anotações, os bebês não serão identificados. O nome da criança não será utilizado em nenhum relatório ou publicação neste

estudo. Os resultados desta pesquisa serão posteriormente publicados em revistas de cunho científico, sejam eles favoráveis ou não a hipótese anteriormente apresentada. Caso sejam encontradas alterações nos resultados dos exames, serão oferecidas orientações e encaminhamentos para os tratamentos necessários.

- Benefícios:

+ Os benefícios relacionam-se identificação de potenciais marcadores inflamatórios de deficiência auditiva na Toxoplasmose congênita, avaliação da efetividade do tratamento e o impacto da deficiência auditiva no desenvolvimento da fala das crianças. Além do conhecimento das respostas sensoriais em crianças de variadas idades com toxoplasmose congênita e à prevenção dos problemas decorrentes das alterações audiológicas e do processamento sensorial.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Projeto de pesquisa apresenta uma temática importante do ponto de vista da saúde da criança e teve o mérito aprovado pelo Departamento de Pediatria da Faculdade de Medicina da UFMG. Os autores solicitam a inclusão do protocolo de estimulação auditiva com voz materna, voz controlada (gravação) e voz do pesquisador juntamente com a NIRS

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Todos os documentos foram devidamente apresentados conforme consta em parecer número 1.160.604, datado de 28 de Julho de 2015.

Recomendações:

Não aplica

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Somos favoráveis pela aprovação de emenda ao projeto de pesquisa sob responsabilidade da pesquisadora Profa. Dra. Débora Marques de Miranda, intitulado: Estudo do Processamento Sensorial Auditivo na Toxoplasmose Congênita diagnosticada e tratada precocemente: estudo longitudinal.

Considerações Finais a critério do CEP:

Tendo em vista a legislação vigente (Resolução CNS 466/12), o COEP-UFMG recomenda aos

Endereço: Av. Presidente Antônio Carlos, 6627 2º Ad SI 2005

Bairro: Unidade Administrativa II

CEP: 31.270-901

UF: MG

Município: BELO HORIZONTE

Telefone: (31)3409-4592

E-mail: coep@prpq.ufmg.br

Continuação do Parecer: 2.277.701

Pesquisadores: comunicar toda e qualquer alteração do projeto e do termo de consentimento via emenda na Plataforma Brasil, informar imediatamente qualquer evento adverso ocorrido durante o desenvolvimento da pesquisa (via documental encaminhada em papel), apresentar na forma de notificação relatórios parciais do andamento do mesmo a cada 06 (seis) meses e ao término da pesquisa encaminhar a este Comitê um sumário dos resultados do projeto (relatório final).

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_564330 E1.pdf	04/08/2017 16:22:03		Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	Emenda_Coep_Toxo.docx	04/08/2017 16:18:39	Débora Marques de Miranda	Aceito
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_516725.pdf	14/07/2015 16:12:34		Aceito
Outros	Protocolo da DEPE.jpg	14/07/2015 16:05:00		Aceito
Outros	Anuência do setor de audiologia do Hospital São Geraldo HCUFGM.jpg	14/07/2015 16:04:36		Aceito
Outros	Anuência do Centro de Imagem Molecular doHC-UFMG.jpg	14/07/2015 16:04:23		Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	Termo de Consentimento Livre e Esclarecido para o grupo Controle.docx	14/07/2015 16:03:21		Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto Final (1).doc	14/07/2015 16:02:48		Aceito
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_516725.pdf	20/05/2015 11:25:44		Aceito
Outros	declaração 001.jpg	20/05/2015 11:24:30		Aceito
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_516725.pdf	15/05/2015 16:45:54		Aceito
Outros	aprovação comite 001.jpg	15/05/2015 16:43:18		Aceito
Folha de Rosto	folhaderosto 001.jpg	15/05/2015 16:41:57		Aceito
Outros	protocoloADL.pdf	13/05/2015 12:56:18		Aceito
Outros	Protocolo de Coleta de Dados.docx	13/05/2015		Aceito

Endereço: Av. Presidente Antônio Carlos, 6627 2º Ad SI 2005

Bairro: Unidade Administrativa II **CEP:** 31.270-901

UF: MG **Município:** BELO HORIZONTE

Telefone: (31)3409-4592

E-mail: coep@prpq.ufmg.br

Estudo do Processamento Sensorial Auditivo na Toxoplasmose Congênita diagnosticada e tratada precocemente

UNIVERSIDADE FEDERAL DE
MINAS GERAIS



Continuação do Parecer: 2.277.701

Outros	Protocolo de Coleta de Dados.docx	12:55:58		Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Protocolo_de_Pesquisa_Departamento_de_Pediatria_Plataforma_Brasilcerto-2-2.doc	13/05/2015 12:55:25		Aceito
Outros	454934156emendaassinada.pdf	15/09/2017 11:14:46	Vivian Resende	Aceito
Outros	454934156parecerassinado.pdf	15/09/2017 11:14:54	Vivian Resende	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:



Não

BELO HORIZONTE, 15 de Setembro de 2017

**Assinado por:
Vivian Resende
(Coordenador)**

Endereço: Av. Presidente Antônio Carlos, 6627 2º Ad SI 2005
Bairro: Unidade Administrativa II **CEP:** 31.270-901
UF: MG **Município:** BELO HORIZONTE
Telefone: (31)3409-4592 **E-mail:** coep@prpq.ufmg.br

ANEXO 2 – Parecer Gerência de Ensino e Pesquisa UFMG

 Hospital das Clínicas Universidade Federal de Minas Gerais	MEMORANDO	 GESQUALIS GESTÃO PELA QUALIDADE EM SAÚDE	
Data da Emissão: 01/07/2015	N.º do memorando	Código:	Página:
De: Gerência/Chefia da UF-HSG			
Para: Gerência de Ensino e Pesquisa / HC-UFMG			
Assunto: Parecer sobre projeto de pesquisa			

Venho emitir parecer favorável à realização do projeto de pesquisa intitulado ESTUDO DO PROCESSAMENTO SENSORIAL AUDITIVO NA TOXOPLASMOSE CONGÊNITA DIAGNOSTICADA E TRATADA PRECOCEMENTE: ESTUDO LONGITUDINAL, a ser desenvolvida sob a coordenação da Profa. Débora Marques de Miranda.

Esclarecemos que o estudo será realizado sem qualquer prejuízo para o funcionamento da Unidade.

Estamos à disposição para quaisquer esclarecimentos.

Cordialmente,

Daniel Vitor de Vasconcelos Santos
Gerente da UF-HSG


D. V. Vasconcelos Santos
GERENTE
UF-HSG
MATR. UFMG 24528-7

ANEXO 3 – Parecer Departamento de Pediatria

Faculdade de Medicina da UFMG
Departamento de Pediatria
Parecer – 06/2015

Pesquisadores: Débora Marques de Miranda, Glaucia Maizán, Monique Ellen Gervasio Nunes, Luiza da Conceição Amorim Martins, Roberta Romanelli, Ana Livia Libardi Bertachini, Luciana Macedo de Resende

Título do Projeto: ESTUDO DO PROCESSAMENTO SENSORIAL AUDITIVO NA TOXOPLASMOSE CONGÊNITA DIAGNOSTICADA E TRATADA PRECOCEMENTE: ESTUDO LONGITUDINAL

Mérito:

Trata-se de um estudo de coorte, longitudinal, descritivo. O objetivo é identificar marcadores imunológicos associados ao déficit auditivo em bebês oriundos do programa estadual de triagem neonatal diagnosticados com toxoplasmose congênita e estudar a audição através dos potenciais evocados auditivos (MMN), a evolução do processamento sensorial auditivo e Espectroscopia óptica de difusão (NIRS) nestas crianças.

O estudo pretende contribuir para a identificação de potenciais marcadores inflamatórios de deficiência auditiva na Toxoplasmose congênita, avaliação da efetividade do tratamento e o impacto da deficiência auditiva no desenvolvimento da fala das crianças.

As avaliações serão feitas no início do tratamento com um mês de vida e na fase final do tratamento, aos 12 meses de idade. As crianças serão reavaliadas com 24 meses. Serão constituídos três grupos. O grupo 01 (Casos) será constituído com bebês, de ambos os sexos, com toxoplasmose congênita com deficiência auditiva, n= 20. O grupo 02 (Controle) será composto por bebês, de ambos os sexos, sem toxoplasmose congênita com mesma idade do grupo 01, n= 20 e o grupo 03 com diagnóstico de toxoplasmose congênita sem alterações oculares e auditivas, n= 20.

Os pacientes serão submetidos às consultas médicas habituais, com avaliação de dados de prontuário, coleta de sangue para avaliação de marcadores imunológicos e avaliação auditiva através de emissões otoacústicas, potenciais evocados auditivos (MMN) e Espectroscopia óptica de difusão (NIRS). Será realizada a análise descritiva dos dados coletados.

Os riscos para os participantes foram considerados, inclusive os da punção venosa. Foi garantido o sigilo dos dados. Os pesquisadores se comprometem a divulgar e tornar público os resultados do estudo.

O projeto está detalhado na metodologia. Os critérios de inclusão e exclusão estão bem definidos, assim como a análise estatística. Os aspectos éticos foram adequadamente tratados. Os termos de consentimento para os participantes e para os responsáveis estão adequados. As sugestões feitas na diligência foram atendidas.

Sugiro apenas acrescentar o local onde serão recrutados os pacientes do grupo controle.

Voto: Aprovado

APROVADO EM REUNIÃO DE
CÂMARA DEPARTAMENTAL
08 / 05 / 2015


Prof. Cláudia Regina Lindgren Alves
Chefe do Departamento de Pediatria
Faculdade de Medicina - UFMG

ANEXO 4 – Parecer Diretoria de Ensino e Pesquisa HC - UFMG



Universidade Federal de Minas Gerais
Hospital das Clínicas
Diretoria de Ensino e Pesquisa




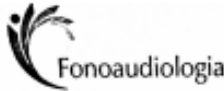
DECLARAÇÃO

Declaramos para fins de comprovação no Comitê de Ética e Pesquisa em Seres Humanos – COEP/UFMG que o projeto de pesquisa intitulado “ESTUDO DO PROCESSAMENTO SENSORIAL AUDITIVO NA TOXOPLASMOSE CONGÊNITA DIAGNOSTICADA E TRATADA PRECOCEMENTE: ESTUDO LONGITUDINAL” de responsabilidade do Profª Débora Marques de Miranda foi recebido na Diretoria de Ensino e Pesquisa HC-UFMG para registro e avaliação.

Belo Horizonte, 10 de julho de 2015.


Edriane de Rezende Moraes
Secretária da GEP do HC-UFMG

ANEXO 5 – Parecer sobre o uso do Ambulatório de Fonoaudiologia




AUTORIZAÇÃO

Autorizo a professora Luciana Macedo de Resende e a aluna de doutorado a desenvolver o projeto de pesquisa intitulado **"Estudo do processamento sensorial auditivo na toxoplasmose congênita diagnosticada e tratada precocemente: estudo longitudinal"** no Ambulatório de Fonoaudiologia do Hospital das Clínicas-UFMG. A amostra da pesquisa será constituída por crianças com um mês de vida, diagnosticados com toxoplasmose congênita, oriundos do Programa de Controle da Toxoplasmose Congênita em Minas Gerais (PCTC-MG) – NUPAD/UFMG. As crianças serão avaliadas com um mês e com 12 meses de idade (primeira e segunda consulta), e aos 24 meses essas crianças retornarão para uma nova avaliação da linguagem.

Estou ciente de que o objetivo primário do projeto Identificar marcadores imunológicos associados ao déficit auditivo em bebês oriundos do programa estadual de triagem neonatal diagnosticados com toxoplasmose congênita durante o tratamento e estudar os potenciais evocados auditivos (MMN), a evolução do processamento sensorial auditivo e Espectroscopia óptica de difusão (NIRS) em crianças que foram identificadas pelo programa de triagem neonatal com diagnóstico de toxoplasmose congênita quando iniciam o tratamento ao um mês de vida e também crianças que estão em fase final do tratamento aos 12 meses de idade.

Ressalto que a pesquisa será realizada de acordo com o horário e a disponibilidade de salas do Ambulatório de Fonoaudiologia e não gerará custos extras para o Hospital das Clínicas-UFMG.



LAELIA CRISTINA CASEIRO VICENTE
COORDENADORA DO SERVIÇO DE FONOAUDIOLOGIA
HC/UFMG

Laélia Cristina C. Vicente
Coordenadora Serviço de Fonoaudiologia
Matrícula 168.298
CRP 52327

Armando Antônio de Fátima
Gerente do Serviço de Fonoaudiologia
Ins: 0195200000000411864

Av. Prof. Alfredo Balena, 190 - Santa Elégia - CEP: 30130.100 - Belo Horizonte / MG
tel: 34099580 - e-mail: fonohcufmg@gmail.com

ANEXO 5 – Parecer sobre o uso do Centro Tecnológico de Medicina Molecular

Belo Horizonte, 25 de junho de 2015.

Declaro para fins de comprovação perante o COEP que o projeto "Estudo do processamento sensorial auditivo na toxoplasmose congênita diagnosticada e tratada precocemente: estudo longitudinal" acontecerá no Centro Tecnológico de Medicina Molecular.

Atenciosamente,


Debora Marques de Miranda

ANEXO 6 – Termos de Consentimento Livre e Esclarecido

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO (PARA PAIS OU RESPONSÁVEIS)

Título do projeto de pesquisa: Estudo do processamento sensorial auditivo na toxoplasmose congênita diagnosticada e tratada precocemente: estudo longitudinal

Pesquisador Coordenador: Debora Marques de Miranda

Nome: _____ Data: _____

Convite para participar do estudo

Seu filho(a) está sendo convidado a participar de um projeto de pesquisa que estamos realizando para aumentar o conhecimento sobre os efeitos da toxoplasmose congênita na audição e no desenvolvimento da linguagem da criança. Seu filho(a) foi escolhido para participar da pesquisa porque tem toxoplasmose congênita e, neste caso, os testes para avaliar a audição do seu filho servirão para entendermos melhor o impacto dessa doença.

Proposta de Pesquisa

O objetivo principal da pesquisa é avaliar a audição, a linguagem e as respostas inflamatórias das crianças com toxoplasmose congênita. Para isso serão realizados testes auditivos e coleta sanguínea do seu filho com um mês, aos seis meses e após um ano de idade. Os testes são realizados durante a consulta da criança. Os resultados desses testes contribuirão para aumentar o conhecimento sobre os efeitos da toxoplasmose congênita na audição das crianças e auxiliar no planejamento da reabilitação, quando necessário. E quando seu filho(a) estiver com 24 meses ele retornará para a realização do teste de linguagem.

Seus direitos

A participação do seu filho(a) neste estudo é estritamente voluntária. A recusa em participar deste estudo não irá resultar em nenhuma penalidade ou perda de benefícios. Para se retirar imediatamente do estudo você poderá entrar em contato com as pesquisadoras Ana Lívia Libardi Bertachini (31-93329442), Débora Marques de Miranda (31-84116882), Luciana Macedo de Resende (31-91827792). Você será informado de qualquer achado novo obtido durante o desenvolvimento deste projeto que possa afetar a disponibilidade do seu filho(a) em participar do estudo.

Procedimento

A inclusão do seu filho(a) nesta pesquisa envolverá a realização de testes para avaliar a audição: 1) o teste de emissão otoacústica (teste da orelhinha) consiste na colocação de uma “borrachinha” na entrada da orelha do bebê, essa “borrachinha” capta o som emitido por um equipamento semelhante a um rádio. Esse exame dura cerca de 5 minutos. 2) a Imitanciometria consiste na colocação de uma “borrachinha” em uma orelha e o fone na outra. A criança ouve uns sons e sente uma momentânea pressão no ouvido. O exame é simples e rápido, durando cerca de 5 minutos. 3) a Pesquisa dos Potenciais Evocados Auditivos (PEAs), em especial o Potencial Evocado Auditivo de tronco encefálico (PEATE), consiste na colocação de pequenas plaquinhas chamadas

eletrodos (fios com extremidade de prata) na testa, nuca, topo da cabeça e couro cabeludo da criança. São colocados também fones de ouvidos, por onde são transmitidos sons que a criança deve escutar. As respostas são registradas em um computador. A criança deverá ficar deitada no colo do responsável ou em uma maca durante cerca de 30 minutos. O procedimento não causa dor ou desconforto. 4) a Espectroscopia óptica de difusão (NIRS) consiste na colocação de uma “touca” cheia de fios na cabeça do bebê, através desses fios são captadas as respostas do cérebro após o estímulo de som. Os testes poderão ser interrompidos se em algum momento você ou seu (a) filho (a) sentir necessidade. Para seu filho(a) ser incorporado a este estudo, você (pai/mãe ou responsável legal pela criança) deverá assinar o Termo de Consentimento. O Sr(a) tem o direito e a liberdade de retirar seu consentimento em qualquer fase do estudo, independente do motivo e sem prejuízo do atendimento que está recebendo. 5) a coleta sanguínea será realizada por profissionais qualificados, onde o bebê será colocado em decúbito dorsal e uma agulha será introduzida no membro inferior do bebê, esta agulha será conectada a uma seringa para se aspirar o sangue com muito pouca pressão. 6) a Avaliação da Linguagem por meio do Instrumento Baley, será realizado individualmente por meio de tarefas.

Riscos

A coleta sanguínea apresenta risco ao bebê, por ser um procedimento invasivo, no entanto, será realizada por profissionais devidamente capacitados e com experiência nesse tipo de coleta. Os riscos que seu filho(a) corre na avaliação auditiva são mínimos, como um desconforto durante o preparo e limpeza da pele para o exame e retirada da fita utilizada na fixação dos eletrodos; desconforto durante a colocação dos fones e da sonda, que contem a “borrachinha”, na orelha e/ou desconforto durante a colocação da touca que possui os optodos (fios que captam as respostas do cérebro). As avaliações serão realizadas na presença do familiar/acompanhante, da maneira que a criança se sentir mais confortável.

Benefícios

Seu filho (a) realizará uma bateria de exames minuciosos que avaliam a integridade e funcionamento das estruturas responsáveis pela audição e processamento do som que influenciam no desenvolvimento da linguagem. Caso sejam encontradas alterações nos resultados dos exames, serão oferecidas orientações e encaminhamentos para os tratamentos necessários.

Custos

Não haverá nenhum custo adicional pela participação do seu filho(a) neste estudo. Os exames realizados pelas crianças com toxoplasmose congênita fazem parte do atendimento recomendado nesses casos e cobertos pelo Sistema Único de Saúde.

Confidencialidade

As anotações sobre os resultados dos exames serão mantidos em segredo de acordo com a legislação atual. Em todas as anotações, seu filho(a) não será identificado e seu nome será conhecido apenas pelos pesquisadores. O nome da criança não será utilizado em nenhum relatório ou publicação neste estudo. Caso você concorde, as informações

obtidas a partir desta pesquisa poderão ser repassadas para o médico do seu filho (a) e isto poderá auxiliá-lo no tratamento.

Questões

Por favor, sinta-se à vontade para fazer qualquer pergunta sobre este estudo ou sobre os direitos do seu filho(a) como participante do estudo. Se outras dúvidas surgirem mais tarde, quanto à ética do estudo e pesquisadores envolvidos no estudo, as mesmas poderão ser dirimidas junto ao coordenador do Comitê de Ética em Pesquisa da UFMG. O número do telefone de contato é (31) 3409-4592. O COEP funciona no Campus da UFMG, na Unidade Administrativa II (prédio da Fundep), 2º andar, sala 2005.

TERMO DE CONSENTIMENTO PARA PARTICIPAR DO PROJETO DE PESQUISA

A proposta e procedimentos deste projeto de pesquisa, assim como o desconforto previsível, riscos e benefícios que podem ocorrer com meu filho(a), foram explicados para mim. Eu tive a oportunidade de esclarecer minhas dúvidas com o pesquisador responsável pelo estudo. Todas as minhas perguntas foram respondidas.

Eu, _____, RG n° _____, responsável legal por _____, RG n° _____ concordo com a participação do meu filho(a), como voluntário, no projeto de pesquisa acima descrito. Eu fui informado que a participação do meu filho(a) no estudo poderá ser interrompida a qualquer momento. Eu recebi uma via deste Termo de Consentimento. Caso eu concorde, as informações obtidas a partir desta pesquisa poderão ser repassadas para o médico de meu filho (a) ou criança que cuida e isto poderá auxiliá-lo no tratamento.

_____ Data:
Assinatura dos Pais e/ou Responsável

Você permite que o resultado dos exames do seu filho (a) ou da criança que cuida seja encaminhada para seu médico?

Sim: _____ Não: _____

Assinatura dos Pais e/ou Responsável _____

DECLARAÇÃO DO INVESTIGADOR

O Investigador Principal explicou para o indivíduo mencionado acima a natureza e propósito dos procedimentos descritos acima e possíveis riscos, desconfortos e benefícios que podem ocorrer. Eu perguntei ao indivíduo se qualquer pergunta lhe ocorreu em relação aos procedimentos empregados e respondi essas perguntas da melhor forma possível.

_____ Data:
Assinatura do Pesquisador Responsável

Comitê de Ética em Pesquisa da UFMG - Campus da UFMG, Unidade Administrativa II, 2º andar, sala 2005. Telefones de contato: (31) 3409-4592; 3409-4027.

**TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO
(PARA PAIS OU RESPONSÁVEIS)**

Título do projeto de pesquisa: Estudo do processamento sensorial auditivo na toxoplasmose congênita diagnosticada e tratada precocemente: estudo longitudinal

Pesquisador Coordenador: Debora Marques de Miranda

Nome: _____ **Data:** _____

Convite para participar do estudo

Seu filho(a) está sendo convidado a participar de um projeto de pesquisa que estamos realizando para aumentar o conhecimento sobre os efeitos da toxoplasmose congênita na audição e no desenvolvimento da linguagem da criança. Seu filho(a) foi escolhido para participar da pesquisa porque é uma criança saudável e, neste caso, os testes para avaliar a audição do seu filho servirão para compararmos com os resultados de outras crianças que apresentam a toxoplasmose congênita.

Proposta de Pesquisa

Seu objetivo principal é avaliar a audição, a linguagem e a resposta inflamatória das crianças com toxoplasmose congênita. Para isso serão realizados testes auditivos e coleta sanguínea do seu filho com um mês, aos seis meses e após um ano de idade. Os testes são realizados durante a consulta da criança. Os resultados desses testes contribuirão para aumentar o conhecimento sobre os efeitos da toxoplasmose congênita na audição das crianças e auxiliar no planejamento da reabilitação, quando necessário. E quando seu filho(a) estiver com 24 meses ele retornará para a realização do teste de linguagem.

Seus direitos

A participação de seu filho(a) neste estudo é estritamente voluntária. A recusa em participar deste estudo não irá resultar em nenhuma penalidade ou perda de benefícios. Para se retirar imediatamente do estudo você poderá entrar em contato com as pesquisadoras Ana Livia Libardi Bertachini (31-93329442), Débora Marques de Miranda (31-84116882), Luciana Macedo de Resende (31-91827792). Você será informado de qualquer achado novo obtido durante o desenvolvimento deste projeto que possa afetar a disponibilidade do seu filho(a) em participar do estudo.

Procedimento

A inclusão do seu filho(a) nesta pesquisa envolverá a realização de testes para avaliar a audição: 1) o teste de emissão otoacústica (teste da orelhinha) consiste na colocação de uma “borrachinha” na entrada da orelha do bebê, essa “borrachinha” capta o som emitido por um equipamento semelhante a um rádio. Esse exame dura cerca de 5 minutos. 2) a Imitanciométrica consiste na colocação de uma “borrachinha” em uma orelha e o fone na outra. A criança ouve uns sons e sente uma momentânea pressão no ouvido. O exame é simples e rápido, durando cerca de 5 minutos. 3) a Pesquisa dos Potenciais Evocados Auditivos (PEAs), Potencial Evocado Auditivo de tronco encefálico (PEATE), consiste na colocação de pequenas plaquinhas chamadas eletrodos

(fios com extremidade de prata) na testa, nuca, topo da cabeça e couro cabeludo da criança. São colocados também fones de ouvidos, por onde são transmitidos sons que a criança deve escutar. As respostas são registradas em um computador. A criança deverá ficar deitada no colo do responsável ou em uma maca durante cerca de 30 minutos. O procedimento não causa dor ou desconforto. 4) a Espectroscopia óptica de difusão (NIRS) consiste na colocação de uma “touca” cheia de fios na cabeça do bebê, através desses fios são captadas as respostas do cérebro após o estímulo de som. Os testes poderão ser interrompidos se em algum momento você ou seu (a) filho (a) sentir necessidade. Para seu filho(a) ser incorporado a este estudo, você (pai/mãe ou responsável legal pela criança) deverá assinar o Termo de Consentimento. O Sr(a) tem o direito e a liberdade de retirar seu consentimento em qualquer fase do estudo, independente do motivo e sem prejuízo do atendimento que está recebendo. 5) a coleta sanguínea será realizada por profissionais qualificados, onde o bebe será colocado em decúbito dorsal e uma agulha será introduzida no membro inferior do bebe, esta agulha será conectada a uma seringa para se aspirar o sangue com muito pouca pressão. 6) o instrumento Avaliação da Linguagem por meio do Instrumento Baley, será realizado individualmente por meio de tarefas.

Riscos

A coleta sanguínea apresenta risco ao bebê, por ser um procedimento invasivo, no entanto, será realizada por profissionais devidamente capacitados e com experiência nesse tipo de coleta. Os riscos que seu filho(a) corre na avaliação auditiva são mínimos, como um desconforto durante o preparo e limpeza da pele para o exame e retirada da fita utilizada na fixação dos eletrodos; desconforto durante a colocação dos fones e da sonda, que contem a “borrachinha”, na orelha e/ou desconforto durante a colocação da touca que possui os optodos (fios que captam as respostas do cérebro). As avaliações serão realizadas na presença do familiar/acompanhante, da maneira que a criança se sentir mais confortável.

Benefícios

Seu filho (a) realizará uma bateria de exames minuciosos que avaliam a integridade e funcionamento das estruturas responsáveis pela audição e processamento do som que influenciam no desenvolvimento da linguagem. Caso sejam encontradas alterações nos resultados dos exames, serão oferecidas orientações e encaminhamentos para os tratamentos necessários.

Custos

Não haverá nenhum custo adicional pela participação do seu filho(a) neste estudo. Os exames realizados pelas crianças com toxoplasmose congênita fazem parte do atendimento recomendado nesses casos e cobertos pelo Sistema Único de Saúde.

Confidencialidade

As anotações sobre os resultados dos exames serão mantidos em segredo de acordo com a legislação atual. Em todas as anotações, seu filho(a) não será identificado e seu nome será conhecido apenas pelos pesquisadores. O nome da criança não será utilizado em nenhum relatório ou publicação neste estudo. Caso você concorde, as informações obtidas a partir desta pesquisa poderão ser repassadas para o médico do seu filho (a) e isto poderá auxiliá-lo no tratamento.

Questões

Por favor, sinta-se à vontade para fazer qualquer pergunta sobre este estudo ou sobre os direitos do seu filho(a) como participante do estudo. Se outras dúvidas surgirem mais tarde, quanto à ética do estudo e pesquisadores envolvidos no estudo, as mesmas poderão ser dirimidas junto ao coordenador do Comitê de Ética em Pesquisa da UFMG. O número do telefone de contato é (31) 3409-4592. O COEP funciona no Campus da UFMG, na Unidade Administrativa II (prédio da Fundep), 2º andar, sala 2005.

TERMO DE CONSENTIMENTO PARA PARTICIPAR DO PROJETO DE PESQUISA

A proposta e procedimentos deste projeto de pesquisa, assim como o desconforto previsível, riscos e benefícios que podem ocorrer com meu filho(a), foram explicados para mim. Eu tive a oportunidade de esclarecer minhas dúvidas com o pesquisador responsável pelo estudo. Todas as minhas perguntas foram respondidas.

Eu, _____, RG n° _____, responsável legal por _____, RG n° _____,

_____ concordo com a participação do meu filho, como voluntário, no projeto de pesquisa acima descrito. Eu fui informado que a participação do meu filho(a) no estudo poderá ser interrompida a qualquer momento. Eu recebi uma via deste Termo de Consentimento. Caso eu concorde, as informações obtidas a partir desta pesquisa poderão ser repassadas para o médico de meu filho (a) ou criança que cuido e isto poderá auxiliá-lo no tratamento.

_____ Data:

Assinatura dos Pais e/ou Responsável

Você permite que o resultado dos exames do seu filho (a) ou da criança que cuida seja encaminhada para seu médico?

Sim: _____ Não: _____

Assinatura dos Pais e/ou

Responsável _____

DECLARAÇÃO DO INVESTIGADOR

O Investigador Principal explicou para o indivíduo mencionado acima a natureza e propósito dos procedimentos descritos acima e possíveis riscos, desconfortos e benefícios que podem ocorrer. Eu perguntei ao indivíduo se qualquer pergunta lhe ocorreu em relação aos procedimentos empregados e respondi essas perguntas da melhor forma possível.

_____ Data:

Assinatura do Pesquisador Responsável

Comitê de Ética em Pesquisa da UFMG - Campus da UFMG, Unidade Administrativa II, 2º andar, sala 2005. Telefones de contato: (31) 3409-4592; 3409-4027.

APÊNDICE 1 – Artigo de Estudo de Caso

Cortical hemodynamics from a baby of two months after vocal stimulation from his deaf mother: Case Report.

Authors: Ana Livia Libardi Bertachini¹, Luciana Macedo de Resende², Gabriela Cintra Januário¹, Gláucia Manzan Queiroz de Andrade³, Jonas Jardim de Paula³, Débora Marques de Miranda³

Ana Livia Libardi Bertachini: <https://orcid.org/0000-0001-9761-1315>. Speech-Language Pathologist. Researcher associated with NUPAD. PhD student in the Child and Adolescent Health Program at the Faculty of Medicine, Federal University of Minas Gerais – UFMG. Belo Horizonte, Minas Gerais, Brazil.

Luciana Macedo de Resende: <https://orcid.org/0000-0002-2004-2692>. Researcher associated with NUPAD. Adjunct Professor, Department of Speech, Language and Hearing Pathology, Faculty of Medicine, Federal University of Minas Gerais – UFMG. Belo Horizonte, Minas Gerais, Brazil.

Gabriela Cintra Januário: <https://orcid.org/0000-0003-0209-0735>. Speech-Language Pathologist. Researcher associated with NUPAD. PhD student in the Child and Adolescent Health Program at the Faculty of Medicine, Federal University of Minas Gerais – UFMG. Belo Horizonte, Minas Gerais, Brazil.

Gláucia Manzan Queiroz de Andrade: <https://orcid.org/0000-0003-3174-8663>. Researcher associated with NUPAD. Adjunct Professor, Department of Pediatrics Faculty of Medicine, Federal University of Minas Gerais – UFMG. Belo Horizonte, Minas Gerais, Brazil.

Jonas Jardim de Paula: <http://orcid.org/0000-0001-5530-2346>. Professor Faculdade de Ciências Médicas de Minas Gerais. Belo Horizonte, Minas Gerais, Brazil.

Débora Marques de Miranda: <https://orcid.org/0000-0002-7081-8401>. Associate Professor, Department of Pediatrics Faculty of Medicine, Federal University of Minas Gerais – UFMG. Belo Horizonte, Minas Gerais, Brazil.

Abstract

Hemodynamic responses from a child with congenital toxoplasmosis, elicited through maternal voice stimulation from a hearing impaired mother, are described and compared to six children diagnosed with congenital toxoplasmosis, but with normal hearing mothers. All mothers were asked to talk spontaneously with their babies, in a sequence of 10 seconds of conversation and 10 seconds of pause (silence). It was possible to identify that even in the presence of evident oral communication difficulty from the deaf mother with her baby, the activated hemodynamic areas are the expected ones and the same observed regions in the comparison group.

Keywords: hearing loss, auditory, deaf, NIRS

Introduction

Hearing is considered a fundamental part of the complex communication system of the human being. The development of the peripheral auditory system is complete within the fifth month of intrauterine life, both anatomically and physiologically. Therefore, it is possible and feasible to study hearing responses in the prenatal, neonatal and postnatal periods¹. The early years of life are the critical period for hearing and language development². Through the auditory feedback, language is acquired favoring the symbolic learning^{3,4}. Hearing comes later, since the child just store information indistinctly. Sounds come to have a meaning when the process of learning to listen is established, what is largely influenced by the environment^{3,5}. Networks involved in auditory recognition and language are distributed in different brain regions and related

to speech perception, being dependent on peripheral and central auditory integrity⁶⁻⁸. It is necessary to have normal hearing sensitivity to a proper auditory perception development, which means to receive and process sound information verbal or non verbal, without distortions of any kind.

Several behavioural studies have suggested that infants can recognise human voices irrespective of what they say⁹. In particular, an infant can discriminate his or her own mother's voice from a different voice^{10,11} because he or she has heard the maternal voice in utero. Maternal speech is primordial to language acquisition. Features like quiet speech, paused and gentle tone of maternal voice make the baby to have interest and to move their eyes to the person who is addressing them, actively seeking for eyes contact¹². Baby's reactions to sounds follow the curves of the prosody (intonation) produced by the mothers¹³.

Mother's voice and speech perception play fundamental roles in social interactions. Functional magnetic resonance imaging (fMRI) studies with adult subjects show that the superior temporal gyrus (STG) and the proximity of the superior temporal sulcus (STS) are important bilaterally in processing vocalizations, while the right hemisphere plays a dominant role^{14,15}. In contrast, the left-lateralized network of the STG and the left angular gyrus are responsible for language processing¹⁶.

Evidence shows that infants can recognize their mothers' voices shortly after birth^{10,17}. fMRI (2-month-old infants) and ERP (4-month-old infants) studies have demonstrated that infant brains respond differently to their own mothers' voices than to unfamiliar voices¹⁸⁻²⁰. Enhanced response to mother's voice in an early age suggests that a mother's voice might be relevant for language development in typical infants^{18,21}. Interestingly, characteristics of maternal speech change as children age, suggesting that

mothers adjust speech directed toward their children as a function of their language skills²².

Peer-reviewed literature is scarce regarding the course of auditory and language development from hearing children born of deaf parents. Most studies concentrate efforts on identifying communication patterns of deaf children from hearing parents²³.

We conducted a case study describing the hemodynamic responses, after hearing-impaired maternal vocal stimulation, from a two-month child with congenital toxoplasmosis in comparison to six children diagnosed with congenital toxoplasmosis, but with mothers without any auditory impairment.

Methods

Patients and study design

All children were assisted by professionals from the Nucleus of Actions and Research in Diagnostic Support (NUPAD) of the Neonatal Screening Program of Minas Gerais (PTN-MG) in the care group with positive or suspected serology for congenital toxoplasmosis. As inclusion criterion, accepted and signed the Informed Consent Term (TCLE) and measures of acoustic immittance within normality.

Infants were evaluated at two months of age at the Speech and Hearing Clinic of the UFMG Hospital das Clínicas and at the National Institute of Molecular Medicine Science and Technology (CT-MM). It should be noted that the child is the son of a congenitally deaf mother, with limited oral communication due to her hearing loss and the other children were born from normal hearing mothers.

Near-infrared spectroscopy

The NIRS instrument used in this study was a NIRx NIRScout Tandem 1616 (Glen Head, USA), with the continuous wave illumination method. The data were acquired at a sampling rate of 3.76 Hz.

It was used a combination of 30 sources and 28 detectors that formed 84 channels arranged on the scalp, bilaterally covering the frontal, parietal, temporal and occipital regions, following the guidance of the International 10-20 EEG System. The distance between the source and the receiver that formed each channel ranged from 1.5 to 2.5 cm, depending on their location.

The evaluation of cortical hemodynamic activity was considered functional (fNIRS), since it used auditory stimulation paradigms during the spectroscopy examination. The auditory stimulus consisted of spontaneous vocal stimuli presented to the child, from their mothers.

During spectroscopic examination, the first step consisted of stimulation with maternal voice. The mother was instructed to talk with the child as they normally do daily with their children, and six 10-second presentations of the mother's voice were administered spontaneously, interspersed with 10-second silence intervals. In total six blocks of the experiment were performed (Figura 1).

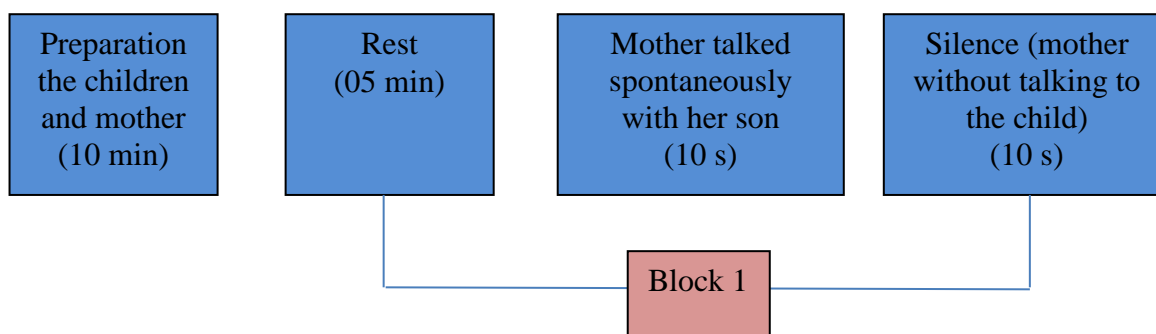


Figura 1: Condition in which the collection was performed. Six blocks of this condition were tested.

It should be noted that the six babies were tested on their mothers' lap. All the mothers were instructed to talk in the intensity of 60 dB. The hearing-impaired mother did not form sentences, but was able to perform the test by making the following vocal utterance: "The baby, the baby, the baby ... etc". We researchers communicated with the sister of the mother who was using sign language.

Analysis of cortical hemodynamic activity - fNIRS

Data on the evaluation of cortical hemodynamic activity in response to auditory stimulus were preprocessed in the nirsLAB-v2017 software (NIRX Medical Technologies, Glen Head, USA).

At this stage the intensities detected were filtered between 0.003 Hz and 0.5 Hz. These filters were used to eliminate interferences in the optical signal of physiological origin (breathing, heartbeat) and artifacts generated by excessive baby agitation and noise. At this stage, hemodynamic states (HbO and HbR concentrations) were also calculated using the modified Beer-Lambert Law.

In the next step, post-processing, software nirsLAB-v2017 (NIRX Medical Technologies, Glen Head, USA) was used. In this phase, the mean hemodynamic response in each channel was calculated by all conditions of the experiment, from 20 seconds before the start of the stimulus until 20 seconds after the initiation of the stimulation. Subsequently, the parametric statistic (z) and the optical index for activation were calculated for all channels.

The next step was to calculate the mean response of HbO and HbR in the optical region of interest for each subject, generating a mean time series of hemodynamic response per group, and after that analysis tables and activation graphs could be generated for each group.

Descriptive analysis of data and comparison

Statistical analysis was performed using the Statistical Package for Social Sciences for Personal Computer (SPSS 22.0). To analyze possible differences between our case and the pattern expected in typical children we used a modified t-test that allow a statistical comparison between a single case and a matched control sample²⁴. The technique allow the comparison of an observed measure (in this case, channels activated by region of interest) to the pattern of the control group, generating a p-value for the statistical comparison, effect sizes and confidence intervals.

Results and Discussion

When we performed the statistical analysis using the modified T test using the mean and standard deviation of the control individuals, it was possible to identify the P values and the size of the effect (Table 1).

Table 1: Test t p value and effect size of the control individuals ' data

	Descriptives		Comparison		Effect Size		
	Patient	ControlS M(SD)	T	P	Z	95% IC	
Total	13	5,86 (3.80)	1,74	0,14	1,88	0,47	3,24
Left Temporal	2	0,57 (0.73)	1,81	0,12	1,95	0,51	3,36
Rigth temporal	2	0,86 (1.12)	0,94	0,38	1,02	-0,02	1,99
Left Frontal	3	1,43 (1.05)	1,38	0,22	1,49	0,26	2,67
Rigth Frontal	3	0,86 (1.12)	7,77	0,13	1,91	0,49	3,28
Left Parietal	0	0,14 (0.35)	-0,37	0,72	-0,4	-1,22	0,45
Rigth Parietal	2	1,43 (1.59)	0,332	0,75	0,36	-0,49	1,17

P value = 0.05

In view of the obtained results it was possible to verify that the P values were not significant, but when we analyzed the size of the effect we noticed a greater prominence in the frontal region (right and left) and the left temporal region. These data corroborate the literature, which reports that when performing cerebral hemodynamic analysis with maternal voice stimulation, the left and frontal temporal regions stand out²⁵.

In the study ²⁵ carried out with 105 infants with ages ranging from 4 to 13 months and their mothers, it was possible to verify that the children present a greater activation in the temporal area of the child for speech with prosody when compared to adult prosody for both maternal voice and unknown voice. Greater activation in the frontal area of the child in response to prosody with stimulation from the mother's voice when compared to other sound stimuli. Already in our study we could perceive that when it comes to the stimulus performed with the maternal voice a greater activation was noticed in the frontotemporal and temporoparietal regions.

Some studies (Minagawa-Kawai et al., 2011; Gervain et al., 2012)^{26, 27} report greater activation in the temporal areas of the left hemisphere, showing an efficient lateralization to the left hemisphere, which encompasses large centers of language. This reinforcement of left dominance can be considered a neural precursor for the acquisition of language.

Conclusion

In this study it was possible to identify that even with a limited and impaired oral communication from the deaf mother with her baby, the activated hemodynamic areas are the same ones we found in the literature from hearing mothers and babies.

REFERENCES

1. Litchig I, Monteiro SRG, Couto MIV, de Haro FMB, de Campos MSC, Vaz FAC, Okay Y. Avaliação do comportamento auditivo e neuropsicomotor em lactentes de baixo peso ao nascimento. *Rev Ass Med Brasil* 2001; 47(1): 52-8.
2. Azevedo MF. Desenvolvimento auditivo de crianças normais e de alto risco. Plexus Editora 1995.
3. Zocoli AMF, Riechel FC, Zeigelboim BS, Marques JM. Audição: abordagem do pediatra acerca dessa temática. *Rev Bras Otorrinolaringol* 2006;72(5):617-23.
4. Marchiori LLM. Análise das Alterações Auditivas em Escolares com Queixa de Problemas de Aprendizagem. *Fono Atual* 2002;21:10-15
5. Russo ICP, Santos TMM. *Audiologia Infantil*. São Paulo: Cortez; 1994. 2. Marchiori LLM
6. Santos JN, Lemos SMA, Rates SPM, Lamounier JA. Habilidades auditivas e desenvolvimento de linguagem em crianças. *Pró-Fono Revista de Atualização Científica*. 2008 out-dez;20(4):255-60
7. Shirmer CR, Fontoura DR, Nunes ML. Distúrbios da aquisição da linguagem e da aprendizagem. *J. Pediatr.* 2004;80(2):S95-S103.
8. Moore DR. Auditory processing disorders: Acquisition and treatment. *Journal of Communication Disorders*. 2007;40(4):295-304.
9. Demany L, Mckensie B, Vurpillot E. Rhythm perception in early infancy. *Nature* 1977; 266:718–19.
10. DeCasper, A.J., Fifer, W.P., 1980. Of human bonding: newborns prefer their mother's voice. *Science* 208, 1174–1176.
11. DeRegnier R, Nelson CA, Thomas KM, et al. Neurophysiologic evaluation of auditory recognition memory in healthy newborn infants and infants of diabetic mothers. *J Pediatr* 2000;137:777–84.
12. Flores MR, Beltrami L, de Souza APR. O manhês e suas implicações para a constituição do sujeito na linguagem. *Distúrb Comun, São Paulo*, 2011, 23(2): 143-152.
13. Laznik MC, Maestro S, Muratori F, Parlato E. Interações sonoras entre bebês que se tornaram autistas e seus pais. *An Col Franco-Bras sobre a Clínica com Bebês*. Jan, 2005; Paris. [proceedings online] Disponível em: URL: <http://www.proceedings.scielo.br/scielo.php?script=sciarttext&pid=>

- MSC000000072005000100004&lng=en&nrm=abn>. Acesso em 02 de dezembro de 2017).
14. Belin, P., Grosbras, M.H., 2010. Before speech: cerebral voice processing in infants. *Neuron* 25, 733–735.
 15. Belin, P., Zatorre, R.J., Lafaille, P., Ahad, P., Pike, B., 2000. Voice-selective areas in human auditory cortex. *Nature* 403, 309–312.
 16. Dehaene-Lambertz, G., Dehaene, S., Hertz-Pannier, L., 2002. Functional neuroimaging of speech perception in infants. *Science* 298, 2013–2015.
 17. Mehler, J., Bertoncini, J., Barriere, M., 1978. Infant recognition of mother's voice. *Perception* 7, 491–497.
 18. Dehaene-Lambertz, G., Montavont, A., Jobert, A., Alliol, L., Dubois, J., Hertz-Pannier, L., Dehaene, S., 2010. Language or music or Mozart? Structural and environmental influences on infant's language networks. *Brain Lang.* 114, 53–65.
 19. Purhonen, M., Kilpeläinen-Lees, R., Valkonen-Korhonen, M., Karhu, J., Lehtonen, J., 2004. Cerebral processing of mother's voice compared to unfamiliar voice in 4-month-old infants. *Int. J. Psychophysiol.* 52, 257–266.
 20. Purhonen, M., Kilpeläinen-Lees, R., Valkonen-Korhonen, M., Karhu, J., Lehtonen, J., 2005. Four-month-old infants process own mother's voice faster than unfamiliar voices-electrical signs of sensitization in infant brain. *Cogn. Brain Res.* 24, 627–633.
 21. Liu, H.-M., Kuhl, P.K., Tsao, F.-M., 2003. An association between mothers' speech clarity and infants' speech discrimination skills. *Dev. Sci.* 6, F1–F10.
 22. Liu, H.-M., Tsao, F.-M., Kuhl, P.K., 2009. Age-related changes in acoustic modifications of mandarin maternal speech to preverbal infants and five-year-old children: a longitudinal study. *J. Child Lang.* 36, 909.
 23. Kathryn P., Meadow, Mark T. Greenberg, Carol Erting, and Heather Carmichael. Interactions of Deaf Mothers and Deaf Preschool Children: Comparisons with Three Other Groups of Deaf and Hearing Dyads. *American Annals of the Deaf*, Volume 126, Number 4, June 1981, pp. 454-468.
 24. Crawford, J. R., Garthwaite, P. H. Investigation of the single case in neuropsychology: Confidence limits on the abnormality of test scores and test score differences. *Neuropsychologia.* 40, (8), 1196-1208 (2002).

25. Naoi N, Minagawa-Kawai Y, Kobayashi A, Takeuchi K, Nakamura K, Yamamoto J, et al. Cerebral responses to infant-directed speech and the effect of talker familiarity. *NeuroImage*. 2012 Jan 16;59(2):1735-44.
26. Gervain J, Berent I, Werker JF. Binding at birth: the newborn brain detects identity relations and sequential position in speech. *J Cogn Neurosci*. 2012 Mar;24(3):564-74.
27. Minagawa-Kawai Y, van der Lely H, Ramus F, Sato Y, Mazuka R, Dupoux E. Optical brain imaging reveals general auditory and language-specific processing in early infant development. *Cereb Cortex*. 2011 Feb;21(2):254-61.