



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE CIÊNCIAS MÉDICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA TROPICAL

LUAN ARAUJO BEZERRA

**ANALISE EPIDEMIOLÓGICA E ASSOCIAÇÃO DOS NÍVEIS SÉRICOS DE
CITOCINAS EM PACIENTES COM ARTRITE REUMATOIDE POSITIVOS PARA O
ANTI-CHIKV IgG**

RECIFE
2023

LUAN ARAUJO BEZERRA

**ANALISE EPIDEMIOLÓGICA E ASSOCIAÇÃO DOS NÍVEIS SÉRICOS DE
CITOCINAS EM PACIENTES COM ARTRITE REUMATOIDE POSITIVOS PARA O
ANTI-CHIKV IgG**

Tese apresentada ao Programa de
Pós-graduação em Medicina Tropical
do Centro de Ciências Médicas da
Universidade Federal de Pernambuco,
para obtenção do título de Doutor em
Medicina Tropical.

Orientadora:PROFA. DRA. MARIA ROSÂNGELA CUNHA DUARTE COÊLHO

Recife

2023

Catálogo na fonte:
Bibliotecária: Elaine Freitas, CRB4:1790

B574a	Bezerra, Luan Araujo Análise epidemiológica e associação dos níveis séricos de citocinas em pacientes com artrite reumatoide positivos para o anti-chikv IgG / Luan Araujo Bezerra. – 2023. 149 p. ; il. Orientadora: Maria Rosângela Cunha Duarte Coêlho. Tese (doutorado) – Universidade Federal de Pernambuco. Centro de Ciências Médicas. Programa de Pós-graduação em Medicina Tropical. Recife, 2023. Inclui referências, apêndices e anexo. 1. Vírus chikungunya. 2. Febre chikungunya. 3. Artrite reumatoide autoimune. 4. Epidemiologia da CHIKF. 5. Citocinas e quimiocinas na CHIKF. I. Coêlho, Maria Rosângela Cunha Duarte(orientadora). II. Título. 616.9792 CDD (23.ed.) UFPE (CCS 2023 - 132)
-------	--



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE CIÊNCIAS MÉDICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA TROPICAL

LUAN ARAUJO BEZERRA

**ANALISE EPIDEMIOLÓGICA E ASSOCIAÇÃO DOS NÍVEIS SÉRICOS DE
CITOCINAS EM PACIENTES COM ARTRITE REUMATOIDE POSITIVOS PARA O
ANTI-CHIKV IgG**

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação em Medicina Tropical da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito parcial para a obtenção do título de Doutor em Medicina Tropical.

Aprovado(a) em: 28/02/2023.

BANCA EXAMINADORA

Prof^a. Dr^a. Maria Rosângela Cunha Duarte Coelho (Orientadora)
Universidade Federal de Pernambuco (UFPE)

Prof^a. Dr^a. Marli Tenório Cordeiro (Examinadora Externa)
Instituto Ageu Magalhães (IAM/FIOCRUZ)

Prof. José Valter Joaquim Silva Júnior (Examinador Externo)
Universidade Federal de Santa Maria (UFSM)

Prof^a. Dr^a. Líbia Cristina Rocha Vilela Moura (Examinadora Interna)
Universidade Federal de Pernambuco (UFPE)

Prof^a. Dr^a. Valdênia Maria Oliveira de Souza (Examinadora Interna)
Universidade Federal de Pernambuco (UFPE)

Dedico este trabalho a Deus, a meus pais e avó paterna.

AGRADECIMENTOS

Agradeço à Deus, por me dar forças e me guiar em todos os momentos.

Aos meus pais: Silvania e Rosalvo Bezerra pelo apoio e investimento em minha educação, principalmente minha mãe.

A minha avó paterna Josefa Fernandes Bezerra que hoje está com Deus descansando, mas enquanto aqui na terra, investiu e acreditou em mim através dos estudos.

A minha orientadora Profa. Dra. Maria Rosângela Coêlho pela credibilidade, confiança, investimento, paciência e ensinamentos que contribuíram para minha formação profissional nesta caminhada.

À Dra. Ângela Luzia Branco Pinto Duarte e a todos do ambulatório de Reumatologia do Hospital das Clínicas da UFPE pela confiança e disponibilidade no momento das coletas das amostras para realização da pesquisa.

À Juliana e Valter, pela colaboração nos experimentos. Aos colegas do setor de virologia do LIKA: Luana, Gabriel, Vitória, Yan e Gabriela pelo apoio na realização das coletas e sorologia.

À CAPES.

Ao CNPQ.

À todos os envolvidos.

“Sozinho não se chega a lugar algum”

(MAXWELL, 2007, p.58).

RESUMO

A infecção pelo vírus Chikungunya (CHIKV) pode desenvolver um tipo de artrite que compartilha vários mecanismos imunopatogênicos com a artrite reumatóide (AR), o que tem levado a discussões sobre a provável relação entre afebre Chikungunya (CHIKF) e a AR. Mas, até onde sabemos, a influência do CHIKV na AR ainda não foi demonstrada, assim como os fatores de risco relacionados a essa influência além dos imunopatogênicos sugeridos. Dessa forma, objetivamos realizar uma análise epidemiológica para verificar a existência de fatores de risco associados à CHIKF na AR, além de realizar uma análise imunológica por meio da comparação dos níveis séricos das citocinas IL-1 β , IL-6, IL-10, IL-17A, CCL2, CXCL8, CXCL9 e CXCL10, e também do fator reumatóide e proteína C reativa, em pacientes com positividade para o anti-CHIKV IgG com AR em relação a pacientes apenas com CHIKF e AR. Foi realizado um estudo comparativo entre três grupos: CHIKF (Grupo apenas com CHIKF), AR+CHIKF (Com AR e tiveram CHIKF) e AR (Apenas com AR). Cada paciente assinou um termo de consentimento livre e esclarecido para maiores de 18 anos (TCLE), submetido a uma entrevista e coleta sanguínea. A sorologia para o anti-CHIKV IgG foi realizada pela técnica ELISA no Setor de Virologia do Instituto Keizo-Asami (ILIKA). A quantificação das citocinas foi por citometria de fluxo no setor de imunoparasitologia do Instituto Ageu Magalhães da Fundação Oswaldo Cruz (IAM/FIOCRUZ). Os níveis de IL-1 β , IL-6, IL-10, IL-17A foram significativamente maiores no grupo AR-CHIKV em comparação com os outros grupos. Os níveis de CXCL8, CXCL9 e CXCL10 foram maiores no grupo CHIKF do que nos outros grupos. Os níveis de FR foram maiores no grupo AR do que nos outros grupos. Não foi observada diferença estatística significativa com CCL2 e PCR, assim como idade e sexo. Os fatores de risco associados na análise univariada foram: raça parda, ter tido a dengue como outra arbovirose relacionados apenas ao grupo CHIKF. Relacionados ao grupo AR+CHIKF foram dores no pescoço, nos ombros, nos cotovelos, na região dos pulsos e dedos, nos quadris, nos joelhos, intensidade das dores moderada, fator reumatóide, RDW, monócitos, basófilos e linfócitos. Após análise multivariada, apenas a raça, ter tido a dengue como outra arbovirose e dores nas regiões dos pulsos e dedos permaneceram associadas a positividade do anti-CHIKF IgG. Não foram encontradas associações dos fatores com o grupo AR. Nossos achados encontraram fatores de risco associados a positividade do anti-

CHIKV IgG em pacientes com AR, diferenciando os achados na literatura que relatam apenas fatores imunogenéticos. Encorajamos mais estudos para que possam contribuir para relação entre a CHIKF e AR e os fatores de risco associados a positividade do anti-CHIKV IgG.

Palavras-chave: vírus chikungunya; febre chikungunya; artrite reumatoide autoimune; epidemiologia da CHIKF; citocinas e quimiocinas na CHIKF.

ABSTRACT

Chikungunya virus (CHIKV) infection can develop a type of arthritis that shares several immunopathogenic mechanisms with rheumatoid arthritis (RA), which has led to discussions about the likely relationship between Chikungunya fever (CHIKF) and RA. But, as far as we know, the influence of CHIKV on RA has not yet been demonstrated, as well as the risk factors related to this influence beyond the suggested immunopathogens. Thus, we aimed to perform an epidemiological analysis to verify the existence of risk factors associated with CHIKF in RA, in addition to performing an immunological analysis by comparing the serum levels of the cytokines IL-1 β , IL-6, IL-10, IL-17A, CCL2, CXCL8, CXCL9 and CXCL10, as well as rheumatoid factor and C-reactive protein, in anti-CHIKV IgG-positive patients with RA versus patients with CHIKF and RA alone. A comparative study was carried out between three groups: CHIKF (Group with only CHIKF), AR+CHIKF (With RA and had CHIKF) and AR (Only with RA). Each patient signed a free and informed consent form for those over 18 years old (TCLE), submitted to an interview and blood collection. Serology for anti-CHIKV IgG was performed using the ELISA technique at the Virology Sector of the Keizo-Asami Institute (ILIKA). The quantification of cytokines was performed by flow cytometry in the immunoparasitology sector of Instituto AgeuMagalhães, Fundação Oswaldo Cruz (IAM/FIOCRUZ). Levels of IL-1 β , IL-6, IL-10, IL-17A were significantly higher in the AR-CHIKV group compared to the other groups. Levels of CXCL8, CXCL9 and CXCL10 were higher in the CHIKF group than in the other groups. FR levels were higher in the AR group than in the other groups. No statistically significant difference was observed with CCL2 and CRP, as well as age and gender. The associated risk factors in the univariate analysis were brown race, having had dengue as another arbovirus related only to the CHIKF group. Related to the AR+CHIKF group were pain in the neck, shoulders, elbows, wrists and fingers, hips, knees, moderate pain intensity, rheumatoid factor, RDW, monocytes, basophilic and lymphocytes. After multivariate analysis, only race, having had dengue as another arbovirus, and pain in the wrist and finger regions remained associated with anti-CHIKF IgG positivity. No associations were found between the factors and the RA group. Our findings found risk factors associated with anti-CHIKV IgG positivity in patients with RA, differentiating the findings in the literature that report only immunogenetic factors. We encourage further studies that

may contribute to the relationship between CHIKF and RA and the risk factors associated with anti-CHIKV IgG positivity.

Keywords:chikungunya virus; chikungunya fever; autoimmune rheumatoid arthritis; epidemiology of CHIKF; cytokines and chemokines at CHIKF.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Mapa mundial mostrando países e territórios com relatos da CHIKF (Dados dos Centros de Controle de Doenças: https://www.cdc.gov/chikungunya/geo/index.html	Pag. 20
Figura 2 - Ciclos de transmissão do vírus da febre Chikungunya.....	Pag 28
Figura 3 - Representação esquemática da disseminação sistêmica do vírus Chikungunya.....	Pag 32
Figura 4 - Figura comparativa de uma articulação normal, uma com artrite alfaviral e outra com artrite reumatoide.....	Pag 42

LISTA DE TABELAS

Tabela 01 - Países em que foram relatadas infecções em humanos pelo CHIKV.....	Pag 22
Tabela 02 - Características clínicas do CHIKV: complicações.....	Pag 35

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

CHIKV	Vírus Chikungunya
CHIKF	Febre Chikungunya
IL-1 β	Interleucina 1 beta
IL-6	Interleucina 6
IL-10	Interleucina 10
IL-17 ^a	Interleucina 17 A
AR	Artrite reumatóide autoimune
NSP1,2,3,4	Proteínas não estruturais envolvidas no processo de replicação do CHIKV
ORF	Do Inglês <i>Open Read Frame</i>
E1, E2	Glicoproteínas de superfície
E3, 6K	Peptídeos menores
WA	Genótipo África Ocidental (do inglês <i>Western Africa</i>)
ECSA	Genótipo África Orienta/Sul/Central (do inglês <i>ECSA, East/South/Central Africa</i>).
IO	Genótipo Oceano Índico (do inglês
RNA _m	Ácido Ribonucléico Mensageiro
qPCR	Reação em cadeia de polimerase em tempo real
RT-PCR	Reação em cadeia de polimerase transcriptase reversa
AINE	Anti-inflamatórios não esteroidais
Anti-CHIKV (IgM)	Anticorpo para o vírus Chikungunya IgM
Anti-CHIKV (IgG)	Anticorpo para o vírus Chikungunya IgG
CXCL-2	Quimiocina CXCL-2
CXCL-8	Quimiocina CXCL-8
CXCL-9	Quimiocina CXCL-9
CXCL-10	Quimiocina CXCL-10
RNA _c -	Fita de RNA genômico
RNA ₊	Fita de RNA genômico positiva
RNA _m 26S	RNA mensageiro genômico
RE	Retículo endoplasmático

VCM	Volume corpuscular médio
CHCM	Concentração da Hemoglobina Corpuscular Média
HCM	Hemoglobina Corpuscular Média
RDW	Amplitude de Distribuição dos Glóbulos Vermelhos, <i>do Inglês Red Cell Distribution Width.</i>

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	17
2	REVISÃO DE LITERATURA.....	19
2.1	Histórico e epidemiologia da CHIKF.....	19
2.2	Características Gerais do CHIKV.....	26
2.3	Transmissão do CHIKV.....	28
2.4	Ciclo replicativo do CHIKV.....	30
2.5	Patogênese e manifestações clínicas da CHIKF.....	31
2.6	Diagnóstico da CHIKF.....	37
2.7	Tratamento e prevenção daCHIKF.....	39
2.8	Artrite reumatóide e Febre Chikungunya; alterações imunológicas e reumatológicas.....	40
3	OBJETIVOS.....	47
3.1	Objetivos Gerais.....	47
3.2	Objetivos específicos.....	47
4	METODOLOGIA.....	48
4.1	Desenho, população e local de estudo.....	48
4.2	Critérios de inclusão.....	48
4.3	Critérios de exclusão.....	48
4.4	Coleta de dados e amostras.....	48
4.5	Teste ELISA para a detecção do anti-CHIKV (IgG).....	49
4.6	Dosagem das citocinas e quimiocinas.....	49
4.7	Análise dos dados.....	49

4.8	Considerações éticas.....	50
5	RESULTADOS.....	51
6	CONCLUSÃO DA TESE.....	74
7	CONSIDERAÇÕES FINAIS DA TESE.....	75
	REFERÊNCIAS.....	76
	APÊNDICE A - TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO PARA MAIORES DE 18 ANOS.....	103
	APÊNDICE B - QUESTIONÁRIO.....	106
	APÊNDICE C - ARTIGO 1 EM INGLÊS.....	108
	APÊNDICE D - ARTIGO 2 EM INGLÊS.....	128
	ANEXO A - PARECER SUBSTANCIADO DO COMITÊ DE ÉTICA.....	146

1 INTRODUÇÃO

A infecção pelo vírus chikungunya (CHIKV) pode causar danos nas articulações, desenvolver inflamações persistentes, além de promover alterações reumatológicas, laboratoriais e impedir os acometidos de realizarem atividades cotidianas, afetando sua qualidade de vida (RODRIGUEZ-MORALES et al., 2016; MARTI-CARVAJAL et al., 2017; PATHAK, MOHAN, RAVINDRAN, 2019; ANJOS et al., 2020). Além disso, respostas imunes e inflamatórias à infecção pelo CHIKV podem contribuir para sua patogênese (VAIRO et al., 2019). No entanto, em indivíduos com artrite reumatóide (AR) quando acometidos pela febre chikungunya (CHIKF), não há informações claras a respeito do sinergismo entre as doenças, além dos fatores de risco (BURT et al., 2014; CHEN et al., 2015; AMARAL, BILSBORROW, SCHOEN, 2020).

Alguns estudos relatam que a AR e a CHIKF podem apresentar semelhanças em sua patogênese (BURT et al., 2014; CHEN et al., 2015; AMARAL, BILSBORROW, SCHOEN, 2020). Na fase crônica da CHIKF, foi relatada a indução da osteoclastogênese por meio de níveis elevados de IL-1 β e IL-6 (NG et al., 2009; LONG et al., 2015; CASTRO et al., 2016; DEEBA et al., 2016). Por outro lado, na AR, os níveis elevados dessas citocinas foram associados a dores e erosão articular (EASTGATE et al., 1988; EKLUND et al., 2007). Porém, em estudo mais recente, não foram encontradas associações dessas citocinas com agravos articulares em pacientes acometidos pela AR (DISSANAYAKE et al., 2021).

Na CHIKF, a IL-10 tem sido relatada com um papel anti-inflamatório (KELVIN et al., 2011; CHAATHANYA et al., 2011). Por outro lado, na artrite reumatóide autoimune, estudo mais recente relatou que níveis elevados da IL-10 estavam associados com o inchaço articular (DISSANAYAKE et al., 2021). Relacionado a IL-17A na CHIKF, foi descrito que ela pode desempenhar um papel importante na sua patogênese (LIU et al., 2022). Porém, na AR os altos níveis séricos da IL-17A foram relacionados a sua severidade (LUBBERTS, 2015; CAVALCANTI et al., 2019).

Em relação a CXCL9 e CXCL10, estudos relatam seu envolvimento com o controle da carga viral, especialmente na fase aguda da doença CHIKF, e na AR relacionada a patogênese e dores articulares (KUAN et al., 2010; CHAATHANYA et al., 2011; BRASIL, 2017). Enquanto a CCL2 e CXCL8 são cogitadas como marcadoras de gravidade da CHIKF, por outro lado, na AR, tem sido relatadas com

papel importante na fisiopatologia e severidade das dores articulares (ZANG et al., 2015; MINER et al., 2015; PALOMINO, MARTI, 2015; RAGHU et al., 2016; CHANG et al., 2018). A abordagem dos estudos com as citocinas varia com a população e a fase da doença analisada, havendo assim uma importância em mais informações, a fim de entender o mecanismo de regulação da infecção pelo CHIKV em pacientes com AR (CHIRATHAWORN, CHANSAENROJ, POOVORAWAN, 2020).

Relacionado aos fatores de risco da CHIKV em indivíduos com AR, estudos sugerem possível ação imunológica de citocinas no desenvolvimento de implicações clínicas (BURT et al., 2014; CHEN et al., 2015, AMARAL, BILSBORROW, SCHOEN, 2020). No entanto, por serem doenças com características semelhantes, são descritos para CHIKV e/ou para AR, fatores de aquisição e/ou risco como: sexo, idade, etnia, grau de instrução, variações climáticas e precariedade no saneamento básico (KUAN et al., 2016; BRASIL, 2017; DIAS et al., 2018; KOHLER et al., 2018; WHITEMANT et al., 2018; CAVALCANTI et al., 2019; ANJOS et al., 2020; QUEIROZ et al. 2020; BRAGA et al., 2021; REZENDE, 2021).

Além disso, estudos relatam algumas alterações laboratoriais como fatores relevantes para a patogênese da CHIKV e/ou AR como níveis séricos de fator reumatóide (FR), proteína C reativa (PCR) e RDW (*Red Cell Distribution Width*) (RODRIGUEZ-CARRIO et al., 2015; YUNCHUN et al., 2016; MORSLEY et al., 2017; HE et al., 2018; AMARAL, BILSBORROW, SCHOEN, 2020; GENARO et al., 2020). No entanto, ainda não se tem informações sobre os fatores de risco para a CHIKV em pacientes com AR pré-existente, além de fatores imunológicos sugeridos por alguns estudos.

Tendo em vista a hipótese de um sinergismo imunopatogênico entre a infecção pelo CHIKV e AR, sugerida por BURT et al., (2014), com possível exacerbação ou aumento da susceptibilidade da AR subjacente e outras doenças articulares, além da falta de informações sobre fatores de risco da infecção pelo CHIKV na AR, objetivamos nesse estudo realizar uma análise epidemiológica e associação dos níveis séricos das citocinas com a positividade para o anti-CHIKV (IgG) em pacientes com e sem AR.

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 Histórico e epidemiologia do CHIKV

ACHIKF é uma doença ocasionada pelo CHIKV transmitido pelo mosquito artrópode *Aedes Aegypt* e *Albopictus*. A palavra chikungunya na língua do Makonde, grupo étnico do norte de Moçambique, significa aqueles que se dobram e foi descrita pela primeira vez em 1952, fazendo referência as pessoas infectadas pelo CHIKV que possuíam uma postura encurvada com dor severa nas articulações (HO et al., 2011; DEEBA et al., 2016; FELICITY et al., 2017).

Os três primeiros casos relatados em 1952 na Tanzânia foram inicialmente relacionados à dengue, mas em 1953, após o isolamento viral por meio do soro dos pacientes, assim como dos mosquitos *Aedes Aegypti* e *Cullex Spp*, foi percebido que se tratava de outro vírus causando a doença e não o da dengue (DEEBA et al., 2016; FELICITY et al., 2017 VAIRO et al., 2019; SANTOS et al., 2021).

Até os anos 2000, surtos do CHIKV ocorriam esporadicamente, com relatos de infecção humana adquirida naturalmente em Angola (FILIPE, PINTO, 1973; FELICITY et al., 2017) Benin (EISENHUT, SCHWARZ, HEGENSCHIED, 1999; FELICITY et al., 2017) Burundi (RODHAIN et al., 1987; FELICITY et al., 2017), Camarões (KUNIHOLM et al., 2006; PEYREFITTE et al., 2007; FELICITY et al., 2017), República Centro-Africana (GULHERME et al., 1996; FELICITY et al., 2017) República Democrática da Congo (PASTORINO et al., 2004; FELICITY et al., 2017), Gabão (PEYREFITTE et al., 2008; FELICITY et al., 2017), Guiné (JENTES et al., 2006; FELICITY et al., 2017), Quênia (SERGON et al., 2008; FELICITY et al., 2017), Libéria (KASCHULA, VAN DELLEN, DE VOS, 1978; FELICITY et al., 2017) Madagascar (PISTONE et al., 2009; FELICITY et al., 2017), Malawi (VAN DEN BOSCH, LLOYD, 2000; FELICITY et al., 2017), Nigéria (MOORE et al., 1975; FELICITY et al., 2017), Uganda (WEINBREN, HADDOW, WILLIAMS, 1958; FELICITY et al., 2017) Senegal (Pistone et al., 2006; FELICITY et al., 2017), Serra Leoa (WOODRUFF, BOWEN, PLATT, 1978; FELICITY et al., 2017) África Austral (KASCHULA, VAN DELLEN, DE VOS, 1978; WOODRUFF, BOWEN, PLATT, 1978, JOUBERT et al., 1985; FELICITY et al., 2017) Sudão (GOULD et al., 2005; FELICITY et al., 2017) e Tanzânia (ROBBINSON, 1955; FELICITY et al., 2017). Após a

surto ocorreu nos anos de 1980 e 1990, principalmente nos países do sudeste Asiático, ou seja, Filipinas, Tailândia, Myanmar e Indonésia. O terceiro período ocorreu de 2000 à 2010, principalmente no sul da Ásia(NG et al., 2009; TAUBITZ et al., 2007; DE ANDRADE et al., 2010; THIBOUTOT et al., 2010; FOCUS, 2008; HO et al., 2011; VAIRO et al, 2019).

Em 2006, houve um grande surto no Quênia, que foi um divisor de águas na questão relacionada a disseminação do vírus para fora do continente africano as regiões do Oceano Índico, Índia e parte do sudoeste asiático. Posteriormente, o CHIKV se espalhou além de suas localizações tropicais originais na África e no subcontinente indiano, tornando-se um problema emergente sério em regiões temperadas da Europa e das Américas com pequenos surtos autóctones ocorrendo como consequência do transbordamento de áreas tropicais endêmicas na Europa continental: Itália em 2007 e na França em 2010 (GRANDADAM et al, 2011; REZZA et al., 2007; DELISLE et al., 2015; CALBA et al., 2017; VAIRO et al., 2019). Em 2017, um grande surto na Itália concentrou-se em torno de três focos principais (Anzio, Roma, Guardavalle Marina) em 2 regiões diferentes, Lazio(Anzio e Roma) e Calábria (Guardavalle Marina), no centro e sul da Itália (VAIRO et al., 2018).A análise filogenética mostrou que a cepa responsável pelo surto em Lazio era a ECSA e em Calábria a IO (BORDI et al., 2018).

As preocupações com a dispersão e estabelecimento do vírus nas américas e em outros países cresceram principalmente a partir de 2011, quando um surto, com mais de 11.000 casos ocorreu na República Democrática do Congo. Em 2013 ocorreu a disseminação dos casos nas Américas em decorrência de uma epidemia com quase 2,6 milhões de casos autóctones do vírus em mais de 40 países (DIAS et al., 2018). Até o momento, casos de CHIKV foram registrados em mais de 100 países, como pode ser observado na tabela 1.

Tabela 1- Países em que foram relatadas infecções em humanos pelo CHIKV

Continente	Países	
Africano	• Angola • Beni • Burundi • Camarões • República Centro-Africana • Comores • Costa do Marfim • República Democrática do Congo • Djibuti • Guiné Equatorial • Gabão • Guiné • Quênia • Madagascar • Malauí	• Maurício • Maiote • Moçambique • Nigéria • República do Congo • Reunião • Senegal • Seychelles • Serra Leoa • África do Sul • Somália • Sudão • Tanzânia • Uganda • Zimbábue
Asiático	• Bangladesh • Butão • Camboja • China • Índia • Indonésia • Laos • Malásia • Maldivas • Mianmar (Birmânia)	• Nepal • Paquistão • Filipinas • Arábia Saudita • Singapura • Sri Lanka • Tailândia • Timor-Leste • Vietnã • Iêmen
Europa	• França • Itália • Espanha	

Américas	• Anguila • Antígua e Barbuda • Argentina • Aruba • Bahamas • Barbados • Belize • Bolívia • Brasil • Ilhas Virgens Britânicas • Ilhas Cayman • Colômbia • Costa Rica • Cuba • Curaçao • República Dominicana • Equador • El Salvador • Guiana Francesa • Granada • Guadalupe • Guatemala • Guiana	• Haiti • Honduras Jamaica • Martinica • México • Montserrat • Nicarágua • Panamá • Paraguai • Peru • Porto Rico • São Bartolomeu • São Cristóvão e Nevis • Santa Lucia • São Martinho • São Vicente e o Granadinas • Sint Maarten • Suriname • Trindade e Tobago • Ilhas Turks e Caicos • Venezuela • Estados Unidos • Ilhas Virgens Americanas
Oceania/Ilhas do Pacífico	• Samoa Americana • Ilhas Cook • Estados Federais da Micronésia • Fiji • Polinésia Francesa • Kiribati	• Ilhas Marshal • Nova Caledônia • Papua Nova Guiné • Samoa • Toquelau • Tonga

Fonte: Adaptado de Vairo et al. (2019).

No Brasil, no ano de 2014 foram confirmados casos autóctones da CHIKF simultaneamente em duas regiões: Norte, no Oiapoque/Amazonas, com dois casos registrados sendo o genótipo asiático identificado; e Nordeste em duas cidades (Feira de Santana e Rachão do Jacuípoe – Bahia), com 41 casos registrados tendo o genótipo ECSA identificado (BRASIL, 2015; DIAS et al., 2018). Além disso, foram registrados casos no Amapá com o genótipo asiático circulante. Ainda, até o final do ano, foram registrados 3657 casos autóctones suspeitos no Amapá, Bahia, Roraima, Mato Grosso do Sul e Distrito Federal, sem óbitos registrados (BRASIL, 2015).

Em 2015, a doença se tornou um sério problema de saúde pública no Brasil, sendo registrados 38.499 casos prováveis, com uma incidência de 18,8 casos/100.000 hab, acometendo 704 municípios dos 27 estados da Federação, com 14 óbitos registrados (BRASIL, 2015).

Em 2016, ocorreu a maior epidemia no país, com 277.882 casos prováveis registrados, uma incidência de 134,8 casos / 100.000 hab, acometendo 2.829 municípios dos 27 estados da Federação, onde a região Nordeste apresentou o primeiro lugar em número de casos com 86,3%, seguida das regiões Sudeste com 9,1%, Norte com 3,2% e Sul e Centro-Oeste com 0,7%. Ainda neste ano, foram registrados 216 óbitos por Chikungunya (BRASIL, 2017).

Em 2017, o número de casos começou a diminuir com registro de 188.593 casos prováveis e a incidência passou para 90,1 casos / 100.000 hab. A região Nordeste ainda apresentou o topo do ranking do número de casos com 76,5%, com 192 óbitos registrados. Em 2018, foram registrados 87.687 casos prováveis com a região Sudeste ocupando o primeiro lugar no número de casos com 60,4%, seguida das regiões: Centro-Oeste: 15,8%, Nordeste 12,9% e Sul com 0,3%, com 39 óbitos registrados no país (BRASIL, 2018).

Em 2019, o número de casos começou a aumentar com 132.205 casos prováveis registrados onde as regiões Nordeste e Sudeste tiveram as maiores taxas de incidência 104,6 e 59,4 casos/100.000 habitantes, com os estados do Rio de Janeiro e Rio Grande do Norte ocupando juntos 75,6% dos casos. Foram confirmados 92 óbitos pela doença. Em 2020 o número de casos voltou a cair, com registro de 80.914 casos prováveis. Além disso, foram confirmados 39 óbitos, e as regiões Nordeste e Sudeste tiveram as maiores taxas de incidência de 102,2 e 13,1 casos/100.000 habitantes (SANTOS et al., 2021).

Em relação a 2020, o ano de 2021 teve um aumento de 32,6% dos casos, com 95.852 registrados. A região Nordeste continuou em primeiro lugar em taxa de incidência com 115,2 casos/100.000 habitantes, a região Sudeste em segundo lugar com 29,3 casos/100.000 habitantes e por fim, a região Centro-Oeste com 7,6 casos/100.000 habitantes. Ainda neste ano, foram confirmados 14 óbitos, sendo dois deles em Pernambuco (SANTOS et al., 2021).

Já em 2022, houve um aumento de 78,9% no número de casos em relação a 2021, com 174.517 casos prováveis registrados, a região nordeste apresentou uma incidência de 257,4 casos/100.000 habitantes, tendo o estado do Ceará com maior

número de casos. Foram registrados 94 óbitos neste ano, sendo somente 39 no Ceará(MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2022).

Em relação as características sociodemográficas relacionadas à aquisição da CHIKF, estudos descrevem-nas para trazer mais clareza aos dados obtidos da população estudada, como por exemplo, a idade, com relatos acima dos 40 anos(JOSSERAN et al., 2006; TANDALE et al., 2009; VU, JUNGKIND, LABEAUD, 2017; DIAS et al., 2018; KOHLER et al., 2018, BRAGA et al., 2021). A explicação para este dado pode estar relacionada à imunidade fragilizada e maior susceptibilidade a doenças em relação à população mais jovem. Além disso, a idade está associada às formas mais graves da CHIKF em idosos e lactantes (TANDALE et al., 2006; ECONOMOPOULOU et al., 2009; VAIRO et al., 2019).

Relacionado ao sexo, tem sido relatado que o sexo feminino é o mais acometido (DIAS et al.; 2018; KOLHER et al., 2018), podendo ser explicado pelo fato de as mulheres passarem mais tempo em suas residências e estarem mais voltadas ao trabalho doméstico em áreas propícias à infecção pelo CHIKV, em relação ao sexo masculino(VASCONCELOS et. al, 1993; BRAGA et al., 2021), além também de as mulheres possuírem uma maior prevalência de doenças reumáticas em relação aos homens (DIAS et al., 2018; AMARAL, BILSBORROW, SCHOEN, 2020).

A etnia tem sido pouco relatada em estudos com CHIKF, no entanto alguns abordam em seus achados a raça parda como destaque, no entanto, não se tem um significado conclusivo em relação a esses achados, mas deduz-se que seja devido a maioria da população acometida possuir esta característica (CAVALCANTI et al., 2019; ANJOS et al., 2020; BRAGA et al., 2021).

O grau de instrução é algo que pode estar relacionado ao número de casos da CHIKF, pois alguns estudos abordam que possuir baixo grau de instrução, podem deixar os indivíduos mais susceptíveis a aquisição do CHIKV, apresentando limitações na compreensão dos métodos preventivos contra o vírus, além de habitarem em lugares com vulnerabilidade socioeconômica associados à casos de incidência da CHIKF (AYU et al., 2010; HIGUERA-MEDIETA et al., 2016; KUAN et al., 2016; GROSSI-SOYSTER et al., 2017; WHITEMANT al., 2018; BRAGA et al., 2021).

As características comportamentais são de importância em estudos epidemiológicos da CHIKF, pois após desenvolver a CHIKF, os indivíduos

apresentam limitações que interferem em seus atos comportamentais, por exemplo, alguns indivíduos afastam-se do trabalho, deixam de realizar atividades cotidianas em casa, devido ao acometimento articular com impacto significativo na qualidade de vida desses acometidos, levando a incapacidade física e laboral (SISSOKO et al., 2009; SOUMAHORO et al., 2010; AYU et al., 2010).

O fato de o indivíduo já ter se infectado por outro tipo de arbovirose tem sido abordado na literatura como algo relacionado aos níveis de infestações, diversidade das espécies *Aedes spp.*, condições geográficas e climáticas locais, cepa do CHIKV circulante na região e pela interação do vetor quando coinfectado com outras arboviroses como zika e dengue (ANJOS et al., 2020).

Características clínicas e laboratoriais também são de suma importância para o estudo da CHIKF, uma vez que a partir de achados como intensidade da dor, as alterações reumatológicas especificadas e os índices laboratoriais, podem auxiliar no diagnóstico e tratamento da CHIKF, pois a dor é considerada o quinto sinal vital sendo necessário avaliar outros parâmetros como: valores de pressão arterial, frequência cardíaca, frequência respiratória e temperatura (BRAZIL, 2017). Já as alterações reumatológicas, como exemplo a artralgia grave, pode persistir por mais de duas semanas ou meses após a infecção inicial, comprometendo a qualidade de vida dos pacientes acometidos (HONÓRIO et al., 2015; CASTRO et al., 2016; GOUPIL, MORES, 2016) e assim os exames laboratoriais auxiliarem nesse processo de evolução do paciente com acompanhamento clínico.

2.2 Características gerais do CHIKV

O CHIKV pertence ao gênero *Alphavirus* a família *Togaviridae* (ICTV, 2022), possui envelope viral e material genético do tipo RNA de fita simples não segmentado com polaridade positiva e duas regiões de leitura, ORF 5' e ORF 3', onde a ORF 5' é traduzida gerando quatro proteínas não estruturais (NSP1, NSP2, NSP3 e NSP4) responsáveis pela replicação do vírus no citoplasma. As proteínas não estruturais são formadas a partir de uma poliproteína precursora denominada p1234 que é traduzida do RNA genômico. A partir da quebra desta proteína são geradas as proteínas p123 e NSP4, onde a NSP4 possui atividade de uma RNA polimerase – RNA dependente (RpRd). Estas proteínas (p123 e NSP4) juntamente com os cofatores das células, geram moléculas de RNA genômico negativas.

(JELKE et al., 2010; TSETSARKIN et al., 2011; HORCADA et al., 2015; SANTOS et al., 2021).

A quebra da p123 geram as proteínas p23 e NSP1 (uma proteína envolvida do capeamento do RNAm mensageiro viral através de sua atividade enzimática metiltransferase e guanililtransferase e na síntese do RNA negativo complementar ao RNA viral) dando origem a um complexo da polimerase que irá produzir fitas de RNA genômico positiva e negativa, onde por fim, após a fragmentação da p23 em NSP2 (energia auxiliar no processo de capeamento do RNA viral e provê as enzimas helicase e protease em suas atividades) e NSP3 (uma fosfoproteína que serve como cofator da NSP4 na interação com diversas proteínas celulares, realizando o recrutamento das mesmas para o complexo de replicação) será produzido um complexo da polimerase gerando fitas de RNA genômico positivas. (SOLIGNAT Et al. 2009; DEEBAS et al., 2015; SANTOS et al., 2015; ; LOHACHANAKUL et al., 2015)

A ORF 3' é traduzida do RNA subgenômico 26S, produzindo as principais proteínas estruturais do vírus que são a proteína C do cápsidio (uma proteína responsável por se ligar ao RNA genômico, interagindo com a região citoplasmática da proteína E2, formando o nucleocapsídeo) e as glicoproteínas do envelope viral E1(funcionando como um peptídeo de fusão facilitando a entrada do vírus na célula) e E2 (permite que o vírus se ligue aos receptores celulares e inicie a entrada na célula através de endocitose) e dois pequenos peptídeos denominados de E3 (é principal antígeno neutralizante do vírus) e 6K (auxilia no processo de brotamento do vírus) (JELKE et al., 2010; TSETSARKIN et al., 2011;CAGLIOTI et al., 2013; DEEBA et al., 2015; LOHACHANAKUL et al., 2015).

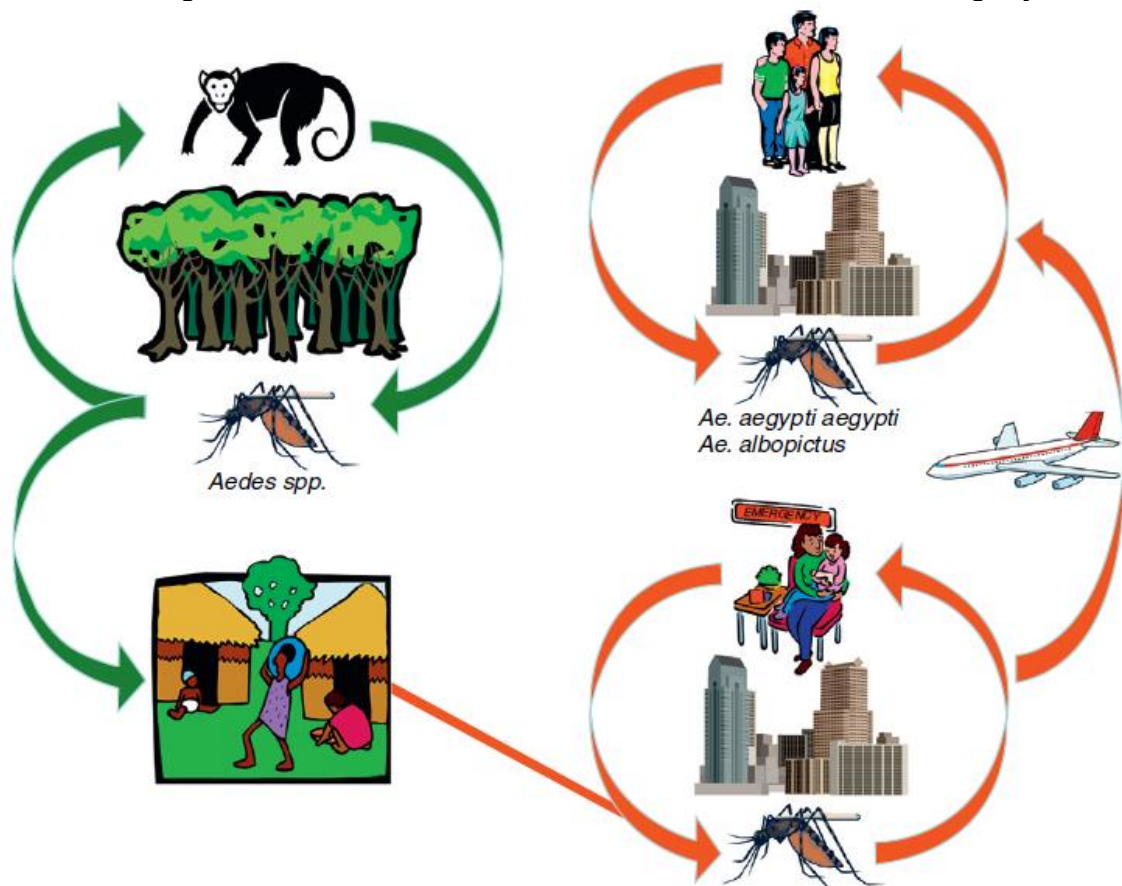
Por fim, com base em suas características, o vírus possui quatro genótipos: o West Africa (WA) da África Ocidental, o ECSA da África Oriental, Central e Sul, genótipo Ásia e o Oceano Índico (IO). O CHIKV pode ter sido originado na África Ocidental, antes de disseminar-se para outras regiões da África, e a partir desse ocorrido se espalhou para a Ásia e para o Oceano Índico. O genótipo ECSA e ÁSIA surgiram há 100 – 840 anos e entre 50 e 310 anos, respectivamente. Algumas hipóteses relatam que o vírus tenha surgido na África pelo fato do genótipo WA ser o grupo genético mais divergente e por ter sido observado um ciclo silvestre mais complexo por um período de tempo maior do que em outras regiões e o número de hospedeiros vertebrados e invertebrados foi identificado na África, criando o

ambiente propício para a diversidade genética observada, e também devido os genótipos ECSA e Ásia descenderem do mesmo ancestral WA (parafiléticos) (VAN BORTEL et al., 2014; LOHACHANAKUL et al., 2015; SANTOS et al., 2021).

2.3 Transmissão do CHIKV

A transmissão do CHIKV ocorre através da picada dos mosquitos *Aedes aegypti* (onde a transmissão por este é mais comumente em área urbana) e *Aedes albopictus* (que por sua vez, ocasiona a transmissão do vírus em área rural), que gestejam infectados durante a realização do hematofagismo. Além da picada do mosquito infectado, pode ocorrer a transmissão a neonatos por via vertical em cerca de 50% dos casos (SEBASTIAN; LODHA; KABRA, 2009; NGOAGOUNI et al., 2017), além da transmissão intraparto (SIMON, SAVINI, PAROLA, 2008; SEBASTIAN; LODHA; KABRA, 2009; GERARDIN et al., 2008).

Figura 1 - Ciclos de transmissão do vírus da febre Chikungunya



Fonte: TSETSARKIN et al., 2011.

Existe uma preocupação crescente de que o CHIKV possa ser transmitido por meio de transfusões, devido a um grande índice da carga viral durante os surtos e uma proporção significativa em infecções assintomáticas (VAIRO et al., 2019). Casos assintomáticos se mostraram como alto potencial de disseminação do CHIKV associado à transfusão, porque os níveis virais capazes de induzir a CHIKF foram encontrados no sangue desses casos durante a epidemia de 2009 em Songkhlang Tailândia (APPASSAKIJ et al., 2013).

Da mesma forma que em outras infecções por arbovírus, existem vários fatores que determinam o impacto do CHIKV na medicina transfusional, tais como: A prevalência da viremia entre doadores; Proporção de componentes derivados de doações virêmicas que transmitem infecção para receptores; O impacto clínico em receptores de transfusão infectados; A disponibilidade de medidas para reduzir a transmissão transfusional quando necessário, e por fim, o custo e a interrupção incorridos por essas medidas. Dessa forma, vários modelos de estudos foram aplicados para estimar o risco de transmissão do CHIKV associado à transfusão (VAIRO et al., 2019).

Na ilha Reunião (BROUARD et al.; 2008) e Tailândia (APPASSAKIJ et al., 2013), foi realizado um modelo de estudo onde os resultados indicaram um risco significativo de curto prazo de transmissão do CHIKV associada à transfusão durante grandes surtos, considerando que o modelo italiano sugere um risco pequeno, mas considerável, que pode exceder padrões de segurança aceitos durante surtos locais menores comuns em áreas temperadas (LIUMBRUNO et al., 2008).

Poucos casos de infecção pelo CHIKV em receptores de transplante de órgãos sólidos (TOS) foram relatados (KEE, YANG, TAMBYAH, 2010; DALLA GASPERINA et al., 2015; GIRÃO et al., 2017). Em uma série de casos realizada no Brasil, 13 receptores de TOS (9 renais, 4 hepáticos) infectados pelo CHIKV, tiveram apresentação clínica semelhante a hospedeiros imunocompetentes, incluindo sintomas articulares crônicos em 46%. No entanto, não houve complicações ou óbitos, e esses pacientes transplantados não apresentaram nenhum dano aparente ao enxerto. Além disso, o vírus pode ser isolado de enxertos de córnea de pacientes sintomáticos e doadores assintomáticos, embora casos transmitidos por transplante de córnea não tenham sido relatados (COUDERC et al., 2012). Receptores de TOS

que viajam ou vivem em áreas endêmicas pelo CHIKV estão em alto risco de adquirir a doença (VAIRO et al., 2019).

A transmissão materno-fetal foi relatada, onde a contaminação intraparto sem infecção placentária foi descrita para o CHIKV (GERARDIN et al., 2008; COUDERC et al., 2008). O vírus é transmitido ao feto quando há rupturas placentárias, que permitem a transferência de sangue materno para a circulação fetal (GERARDIN et al., 2008). Uma meta-análise estimou o risco de transmissão da mãe para filho nas coortes analisadas em 15,5%, com maior risco entre as infecções no período intraparto (12 dias após o parto) (CONTOPOULOS-IOANNIDIS et al., 2018). Durante esse período, as mães infectadas apresentam uma taxa de transmissão vertical pelo CHIKV de 48,7% (GERARDIN et al., 2008). Não há relatos de transmissão do CHIKV por meio do leite materno para bebês (VAIRO et al., 2019).

Já em uma revisão sistemática recente, a taxa de transmissão vertical foi de 50% no surto da Ilha da Reunião; o parto prematuro foi relatado em 19(45,2%) dos 227 estudos; A taxa de sofrimento fetal foi de 19,6% dos bebês infectados e a perda fetal ocorreu em 2% dos casos. Aproximadamente 68,7% dos recém-nascidos foram diagnosticados com encefalopatia ou encefalite após a infecção pelo CHIKV adquirida perinatalmente. A maioria dos neonatos infectados nasceu saudável, desenvolvendo a síndrome clínica da sepse pelo CHIKV na primeira semana de vida, alertando os neonatologistas para as manifestações tardias da infecção neonatal pelo vírus, relevantes para o manejo e redução da morbidade (FERREIRA et al., 2021).

Em relação a transmissão sexual, nenhuma evidência entre humanos foi relatada, embora o CHIKV tenha sido detectado no sêmen de um indivíduo infectado 30 dias após o início dos sintomas (BANDEIRA et al., 2016; VAIRO et al., 2019).

2.3 Ciclo replicativo do CHIKV

O CHIKV adsorve à superfície da célula infectada através da glicoproteína do envelope E2 e penetra na célula por endocitose em pH ácido. Neste mesmo pH, a glicoproteína E1 promove a fusão do envelope viral a membrana do endossoma liberando o núcleo capsídeo no citoplasma. Em seguida o genoma viral é liberado no citoplasma e começa o processo de tradução das proteínas não estruturais a partir

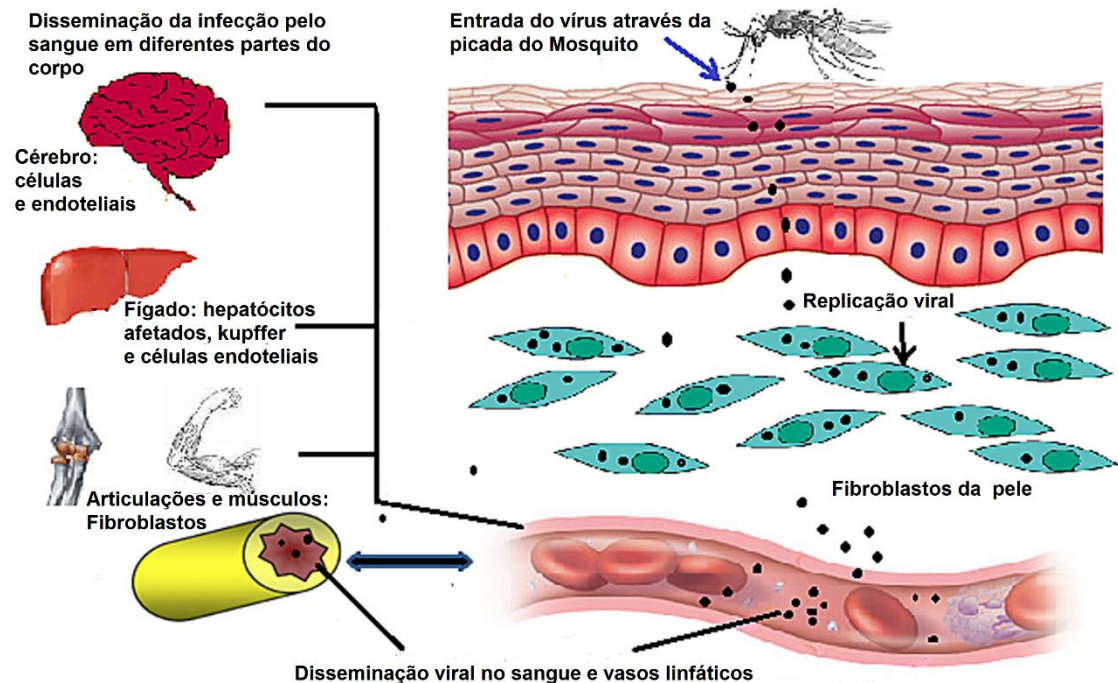
do RNA genômico (CHARREL; DE LAMBALLERIE; RAOULT, 2007; SANYAOLU et al., 2016; SANTOS et al., 2021).

A poliproteína precursora p1234 é inicialmente traduzida sofrendo diversas etapas de processamento, onde serão geradas as proteínas não estruturais que serão responsáveis pela produção de uma fita complementar de RNA negativo (RNAc-), que servirá posteriormente como molde para o complexo da polimerase viral produzir novas fitas de RNA genômico positivas (RNA+). O RNAc- também servirá de molde para a transcrição de um RNA mensageiro subgenômico a partir de um promotor interno (RNAm 26S). Esse RNA mensageiro 26S, será traduzido em uma poliproteína onde após o processamento dará origem as proteínas estruturais do vírion ou vibrião. A proteína C, inicialmente se separa do precursor (RNAm 26S), formando os capsídeos virais. Após, a poliproteína pE2-6K-E1 será processada no retículo endoplasmático (RE) e complexo de golgi, e as proteínas processadas serão transportadas para a membrana citoplasmática onde serão expressas na forma de heterodímeros E1-E2. Durante esse processo de transporte, a proteína pE2 será quebrada em E2 e E3 e esta última servirá como peptídeo-sinal para a inserção de E2 na membrana plasmática. A montagem da partícula ocorrerá na face interna da membrana citoplasmática, e a partícula adquire o envelope por brotamento pela membrana citoplasmática (DEBBA et al., 2016; SANTOS et al., 2021).

2.5 Patogênese e manifestações clínicas da CHIKF

O CHIKV primeiro se replica nos fibroblastos da pele após inoculação na mesma através da picada do mosquito. Apenas os fibroblastos da pele mostraram ser suscetíveis para infecção pelo CHIKV entre vários tipos de células (TALARMIN et al., 2007; ROBIN et al., 2009). Uma vez replicado nos fibroblastos da pele, dissemina-se a outros órgãos e tecidos como fígado, cérebro, tecidos musculares, articulações e linfonodos através do sangue (Figura 3). Ao alcançar os músculos, o CHIKV se replica nas células satélites musculares e nos fibroblastos celulares, não em fibras musculares (OZDEN et al., 2007), também replica-se em fibroblastos articulares e nos tecidos sinoviais (HOARAU et al., 2010). Além disso, o RNA viral e as suas proteínas foram identificadas nos tecidos sinoviais durante artralgia severa e persistente (PAROLA et al., 2006; MANIMUNDA et al., 2007; OZDEN et al., 2007; HOARAU et al., 2010; DEEBA et al., 2016).

Figura 3 - Representação esquemática da disseminação sistêmica do CHIKV.



Fonte: Deeba et al. (2016).

O CHIKV pertence ao subgrupo artrogênico dos alphavirus por causar poliartrite e erupções cutâneas. A infecção pelo vírus tem um período silencioso de incubação que dura de 2 a 7 dias em média, podendo variar de 1 a 12 dias. Esse período é seguido por um período súbito de sintomas incluindo febre, dor de cabeça, náuseas, mialgia de moderada intensidade e erupções cutâneas. O sintoma clínico característico da doença é a poliartralgia que é observada em 87 a 98% dos casos, podendo persistir desde alguns meses, a anos. As dor é predominantemente poliarticular, bilateral, simétrica, ocorrendo principalmente nas articulações periféricas (falanges, tornozelos e punhos) e algumas das grandes articulações (cotovelos e joelhos), onde o edema das articulação varia de 25% a 42% dos casos (PIALOUX et al., 2007; SCHILTE et al., 2013; VAIRO et al., 2019; SANTOS et al., 2021). Além destes, também foram relatadas reações inflamatórias de início agudo primário como meningoencefalite (primariamente em neonatos) e manifestações oculares como neurite retrobulbar, uveíte anterior e lesões dendríticas foram citadas

como reações inflamatórias de início agudo primário (LALITHA et al., 2007; MITTAL et al. 2007).

As manifestações cutâneas aparecem entre 4 e 8 dias após o início da doença, e consistem de exantema macular ou maculopapular predominantemente no tórax e na face. As lesões cutâneas são transitórias e na maioria das vezes ocorrem entre 2 e 5 dias após o início da doença. Durante a fase aguda, podem surgir hipermelanose, hiperpigmentação, fotossensibilidade, dermatite esfoliativa, vesículas, bolhas, lesões vasculares, exacerbação de dermatoses preexistentes como psoríases e ulceração de mucosa, além de sintomas digestivos como diarreia, vômito, náusea ou dor abdominal (SANTOS et al., 2021).

Na fase subaguda, a febre normalmente desaparece, mas a artralgia pode persistir ou agravar-se, incluindo poliartrite distal, exacerbação da dor articular nas regiões previamente acometidas na primeira fase e tenossinovite hipertrófica subaguda em mãos, mais frequentemente nas falanges, punhos e tornozelos. Ainda, pode ocorrer a Síndrome do túnel do carpo como consequência da tenossinovite hipertrófica, onde esta é muito frequente tanto nesta fase aguda como na crônica da doença, e o comprometimento articular costuma ser acompanhado por edema de intensidade variável. Também, nesta fase, pode haver o surgimento de prurido generalizado e exantema maculopapular, além do surgimento de lesões purpúricas, vesiculares e bolhosas. Há indivíduos que podem desenvolver doença vascular periférica, fadiga e sintomas depressivos. Após três meses desde o início da doença e os sintomas persistirem, iniciará a fase crônica. (BRASIL, 2015; DEEBA et al., 2016; SANTELLI; CRUZ; LIVIA CARLA VINHAL FRUTUOSO, 2017; VAIRO et al., 2019).

A fase crônica é caracterizada pela persistência dos sintomas, principalmente pela presença de dor articular, musculoesquelética e neuropática. Alguns fatores de risco são apontados como principais durante esta fase como idade acima de 45 anos, com significância maior no sexo feminino, desordem articular preexistente e maior intensidade das lesões articulares na fase aguda. A respeito dos sintomas comumente encontrados nessa fase, se diz respeito à persistência ou ressurgimento das dores nas articulações atingidas na fase aguda onde a dor pode ser com ou sem edema, limitação de movimento, deformidade e ausência de eritema (BRASIL, 2015; SANTELLI; CRUZ; LIVIA CARLA VINHAL FRUTUOSO, 2017).

Com frequência razoável, manifestações decorrentes da síndrome do túnel do carpo são vistas, dentre elas temos a dormência e formigamento das áreas inervadas pelo nervo mediano. Manifestações graves e atípicas podem acontecer durante a infecção pelo CHIKV, onde além das dores articulares, podem surgir casos graves e o acometimento de óbitos (SANTELLI; CRUZ; LIVIA CARLA VINHAL FRUTUOSO, 2017).

As manifestações neurológicas após a infecção pelo CHIKV, foram descritas pela primeira vez em 1964 durante um surto em Madras, na Índia (TANDALE; VAIRO et al., 2019). A partir deste período, têm sido frequentemente relatadas em vários surtos, comum número crescente de casos com complicações neurológicas após a reemergência do CHIKV no Oceano Índico em 2005. O vírus tem sido frequentemente isolado do líquido cefalorraquidiano (LCR) (MEHTA et al., 2018). As células-alvo do CHIKV no cérebro humano permanecem desconhecidas. A infecção in vitro de células humanas demonstrou a suscetibilidade de células do neuroblastoma (DHANWANI et al., 2014), células microgliais (ABERE et al., 2012) e células gliais, como astrócitos (ABRAHAM et al., 2013) apresentando sinais de apoptose. No entanto, ainda não está claro se a patogênese do sistema nervoso está diretamente relacionada com a infecção dos neurônios e células gliais ou está indiretamente conectada desencadeando os efeitos imunomediados (VAIRO et al., 2019).

Em recém-nascidos infectados pelo CHIKV, os sintomas geralmente se desenvolvem nos de 3 a 7 dias de vida com febre, exantema e edema periférico. A patologia geralmente revela uma bicitopenia, aumento do tempo de protrombina e nível de aspartato aminotransferase. A apresentação em lactentes é subsequentemente complicada por convulsões, síndrome hemorrágica, distúrbios hemodinâmicos e disfunção miocárdica (GERARDIN et al., 2008; GERARDIN et al., 2014). Os sintomas neonatais variam de apresentação leve (43%) a infecção grave com encefalite (53%) (GERARDIN et al., 2008) que requer cuidados intensivos. A CHIKV em neonatais também pode estar associada a febre, má alimentação, dor, edema distal, várias manifestações cutâneas, convulsões, meningoencefalite e anormalidades ecocardiográficas no recém-nascido (SIMON, SAVINI, PAROLA, 2008; SEBASTIAN; LODHA; KABRA, 2009; TORRES et al., 2016). Complicações neurológicas podem ter efeitos graves no desenvolvimento neurológico pós-natal, como menor quociente de desenvolvimento na idade de 2 anos e atraso mental

global de neurodesenvolvimento moderado a grave (SEBASTIAN; LODHA; KABRA, 2009; GERARDIN et al., 2014; VAIRO et al., 2019).

Nas crianças a manifestação se assemelha à observada em adultos com diferenças importantes, onde as manifestações clínicas comuns incluem início abrupto de febre alta, erupções cutâneas, manifestações hemorrágicas menores, artralgia/artrite, linfadenopatia, injeção conjuntival, inchaço das pálpebras e faringite. As características clínicas raras incluem manifestações neurológicas, com convulsões, nível de consciência alterado, cegueira por neurite retrobulbar e paralisia flácida aguda (SEBASTIAN; LODHA; KABRA, 2009; MENEZES, BRASIL, 2017).

Complicações cardiovasculares, renais, respiratórias, hepáticas, gastrointestinais e nos sistemas adrenais estão associados à infecção pelo CHIKV e referidas como características atípicas (Tabela 2) (VAIRO et al., 2019). Conforme relatado durante o surto da Ilha da Reunião em 2005, a proporção de casos atípicos foi de 0,3%. Os casos atípicos foram definidos como pacientes com apresentação clínica de febre, artralgia e outros sinais atípicos. A idade média dos casos foi 70 anos. Dos 610 casos atípicos, 546 (89%) tinham condições médicas subjacentes, 479 (78%) faziam uso de medicamentos antes da internação (TANDALE et al., 2006; VAIRO et al., 2019).

Tabela 2 - Características clínicas do CHIKV: complicações

Órgão/Sistema	Complicações
Sistema Nervoso	Frequentes
	• Encefalopatia e meningite
	• Mielopatia e mielite
	• Encefalomielopatia
	• Mieloneuropatia
	• Encefalomieloneuropatia
	• A síndrome de Guillain-Barré
	• Encefalomielite disseminada aguda
	• hipotonia neonatal
	• neurite óptica
	Menos frequentes

	• convulsões • Perda de audição neurosensorial • Derrame • cerebelite • Paralisia do terceiro nervo • Encefalopatia • Mudanças comportamentais • Síndrome do túnel carpal • Oftalmoplegia bilateral
Sistema Cardiovascular	• Insuficiência cardíaca • Arritmias • Miocardite/pericardite • Instabilidade da pressão arterial • Infarto agudo do miocárdio
Ocular	• Conjuntivite, episclerite, uveíte anterior não granulomatosa, • uveíte anterior granulomatosa • Ceratite, retinite com vitrite, retinite bilateral • Coroidite multifocal, neurite óptica, neurite retrobulbar • Descolamento exsudativo da retina, pan-uveíte
Envolvendo outros órgãos	• Insuficiência pré-renal • Exacerbação da insuficiência renal crônica • Pneumonia e insuficiência respiratória • Insuficiência hepática, hepatite subaguda • dermatose bolhosa • Pancreatite • Síndrome de secreção inapropriada de hormônio antidiurético • Hipoadrenalismo

Fonte: Vairo et al., (2019).

Em dois estudos investigando manifestações do CHIKV em pacientes requerendo cuidados intensivos, um distúrbio neurológico foi o problema primário em 61% (CROSBY et al., 2016) e 79%. (LEMANT et al., 2008). Assim como outro estudo realizado durante o surto na Índia de 2006, 18 (4,4%) de 405 casos suspeitos de CHIKV atendidos no hospital de recrutamento durante 3 meses desenvolveram complicações neurológicas. Um estudo epidemiológico do surto de 2005 a 2006 na Ilha da Reunião encontrou aproximadamente 0,3% de todas as infecções por CHIKV resultaram em casos atípicos, (ECONOMOPOULOU et al., 2009) dos quais 24,1% dos adultos apresentaram neurologia anormal. Assim, aproximadamente 0,1% (1 caso por 1.000) de todas as infecções por CHIKV desenvolveu doença neurológica.

Além disso, foi observado que complicações graves do CHIKV geralmente surgem em pacientes com comorbidades. Estudos da Ilha da Reunião e da Índia mostram que as doenças subjacentes desempenham um papel nos distúrbios neurológicos e outras complicações, mas não são um requisito indispensável. A idade foi informada como fator de risco significativo para manifestações graves em idosos (>65 anos) (TANDALE et al., 2009), (ECONOMOPOULOU et al., 2009) e em lactentes (GERADIN et al., 2016). Além disso, uma revisão sistemática (MEHTA et al., 2018) descreveu a encefalopatia e a encefalite, mielopatia e mielite, síndrome de Guillain-Barré, encefalomielite aguda disseminada, hipotonia neonatal e doença neuro-ocular como manifestações atípicas. Ainda, as alterações comportamentais, convulsão com e sem febre, acidente vascular cerebral, cerebelite, meningismo, paralisia do terceiro nervo, encefalopatia e oftalmoplegia, foram descritas como manifestações de menor frequência.

2.6 Diagnóstico da CHIKF

Durante a fase aguda da chikungunya, as alterações laboratoriais não possuem uma especificidade, pois há uma observação bastante frequente do acometimento de leucopenia com linfopenia menor que 1000 cel/mm³, elevação da proteína C reativa (PCR) e velocidade de hemocedimentação, podendo persistir estas duas últimas alterações por semanas, além também de trombocitopenia

inferior a 100.000 cel/mm³ podendo acontecer, mas em casos raros. Ainda, podem ser detectadas outras alterações como elevação discreta das enzimas hepáticas, da creatinina e da creatinofosfoquinase (CPK) (SANTELLI; CRUZ; LIVIA CARLA VINHAL FRUTUOSO, 2017).

Na fase subaguda onde há prescrição de corticoides anti-inflamatórios não-esteroides (AINE), são solicitados os seguintes exames: hemograma, creatinina, ureia, aspartato aminotransferase (AST), Alanina aminotransferase (ALT) e glicemia de jejum. E na fase crônica, é de suma importância avaliar a situação do paciente antes de introduzir o metotrexato e da hidroxicoloroquina, onde são solicitados os exames anti-HIV, anti-HCV, anti-CMV, HBsAg, Raio X de tórax, toxoplasmose, entre outros (BRASIL, 2015; SANTELLI; CRUZ; LIVIA CARLA VINHAL FRUTUOSO, 2017).

Vários testes laboratoriais estão disponíveis para diagnosticar a CHIKF usando soro ou plasma, ácido nucleico viral ou imunoglobulina específica do vírus (Ig) IgM e IgG, e anticorpos neutralizantes. Dada a alta carga viral durante a viremia, o RNA viral do CHIKV pode ser detectado durante os primeiros 5 a 8 dias da doença usando testes comerciais com alta sensibilidade e especificidade. A escolha entre os tipos de testes é ditado no momento da amostragem em relação ao início dos sintomas e o volume das amostras disponíveis (VAIRO et al., 2019).

Para a análise sorológica, é realizada a pesquisa de anticorpos específicos anti-CHIKV (IgM) e anti-CHIKV (IgG), através da técnica imunoenzimática (ELISA), onde os níveis de anti-CHIKV (IgM) são elevados no sangue de 5 a 7 após o início dos sintomas e podem ser detectados 3 a 4 meses, mas em pacientes com artralgia de longa duração podem ser detectados por 1 ano. O anti-CHIKV (IgG) é detectável após 2 semanas de infecção e permanece por muitos anos (MATHEW et al., 2017; SANTELLI; CRUZ; LIVIA CARLA VINHAL FRUTUOSO, 2017, VAIRO et al., 2019).

Como diagnóstico laboratorial específico do CHIKV, temos a realização da cultura e isolamento viral das células sanguíneas de pacientes infectados, que é a técnica padrão-ouro, e a realização da detecção do RNA viral, onde para detecção do mesmo são utilizadas as técnicas de PCR em tempo real (qPCR) e a reação em cadeia de polimerase transcriptase reversa (RT-PCR), com período de viremia para detecção do RNA sendo do primeiro ao quinto dia após o surgimento dos sintomas, mas estas técnicas nos permitem detectar o RNA viral até o oitavo dia após o

aparecimento dos sintomas (MATHEW et al., 2017; SANTELLI; CRUZ; LIVIACARLA VINHAL FRUTUOSO, 2017, VAIRO et al., 2019).

2.7 Tratamento e prevenção da CHIKF

Não há tratamento antiviral eficaz e, portanto, o tratamento da CHIKF é de suporte e sintomático. Deve ser adaptado ao contexto clínico e grupos de risco visando controle de febre e dor, tratamento de desidratação, suporte de órgãos e prevenção de complicações iatrogênicas e comprometimento funcional. Os procedimentos de controle de infecção devem ser instituído para reduzir o risco de infecção iatrogênica para cuidados de saúde e profissionais de laboratórios (BRASIL, 2017; VAIRO et al., 2019).

A analgesia baseada na terapia com acetaminofeno tem sido utilizada. O uso de antiinflamatórios não esteróides (AINEs) e salicilatos não é recomendado nos 14 dias após início da doença devido ao risco de complicações hemorrágicas relacionadas à dengue, a menos que este diagnóstico seja descartado, e síndrome de Reye induzida por aspirina. O uso de analgésicos (opioides fracos) são necessários se o acetaminofeno não for eficaz: tramadol sozinho ou em combinação com paracetamol. O tratamento da fase pós-aguda deve ser baseado principalmente em analgésicos, drogas neuropáticas e AINEs (VAIRO et al., 2019).

Nenhuma classe de AINE demonstrou superioridade de eficácia nos sintomas pós-CHIKF. Uma terapia anti-inflamatória local (tópica ou infiltrativa) deve ser prescrita em caso de tenossinovite, bursite, síndrome do túnel, capsulite ou sinovite inadequadamente controlada por tratamento oral, para limitar o excesso terapêutico. O risco de toxicidade da droga ocasionando overdose devido a automedicação ou interação medicamentosa é alto para paracetamol bem como para outros analgésicos, antiinflamatórios, tratamentos de longo prazo e medicamentos tradicionais usados para automedicação (SIMON et al., 2015; VAIRO et al., 2019).

O uso de corticosteróides não é recomendado. Os esteroides também podem causar graves rebote de artrite e tenossinovite. Os corticosteroides sistêmicos devem ser usados apenas para apresentações poliarticulares inflamatórias, principalmente quando associadas a tenossinovite, sinovite ativa ou em caso de resistência ou contraindicação aos AINEs (DEEBA et al., 2016; VAIRO et al., 2019).

No entanto, muitas das drogas têm sido utilizadas extrapolando-se a experiência com estes fármacos em doenças reumáticas crônicas (BEN-ZVI et al., 2012; ARROYO-ÁVILA et al., 2015; SIMON et al., 2015). Dentre estes medicamentos, temos o metotrexato e a hidrocloroquina, sendo esta mais indicada por possuir efeitos colaterais menos tóxicos do que o metotrexato (SANTELLI; CRUZ; FRUTUOSO, 2017). Dentre os principais efeitos colaterais relatados do metotrexato temos efeitos gastrointestinais, mielotoxicidade, hepatotoxicidade, dentre outros. Enquanto os efeitos colaterais da hidroxicloroquina são distúrbios hematológicos, alopecia, distúrbios visuais, dentre outros. As pessoas com miopatias, cardiomiopatias, insuficiência hepática, deficiência de G6PD, porfiria e psoríase apresentam maior risco de desenvolverem os efeitos adversos (BEN-ZVI et al., 2012; SANTELLI; CRUZ; LIVIA CARLA VINHAL FRUTUOSO, 2017).

Como medidas preventivas, ainda não temos vacinas aprovadas e liberadas para serem administradas, no entanto que reforçar a realização do controle da infecção, através de ações em combate ao mosquito transmissor com o objetivo de reduzir a transmissão viral urbana evitando picadas do mesmo. Já as medidas profiláticas constituem o uso de roupas com mangas cumpridas, aplicação de repelente de mosquitos sobre as partes expostas do corpo, uso de mosquiteiros tratados com inseticidas e redes de arame nas portas e janelas, além também da sensibilização regional extensiva e de programas de controle em combate ao mosquito estimulando uma mobilização para o não armazenamento de águas paradas que incluem vasos de flores e recipientes de água, observar nas áreas de construção se há alguma forma de armazenamento nesses locais, conchas de côco, pneus abandonados, plásticos e latas metálicas (MATHEW et al., 2017; VAIRO et al., 2019).

2.8 Artrite reumatóide e Febre Chikungunya: alterações imunológicas e reumatológicas

A artrite reumatóide é uma doença autoimune, progressiva e crônica, com relatos na história desde 4.500 anos antes de Cristo, registrados através de achados arqueológicos, literários e artísticos. Nos indivíduos acometidos, afeta a membrana sinovial, causando inflamação, corrosão na cartilagem e no osso, levando ao quadro

de dor e vermelhidão, e em alguns casos, a deformação articular. Por poder ocasionar deformidades, a artrite reumatóide é tida como uma doença incapacitante, além de promover limitações para realizações de afazeres domésticos e atividades laborais (MCCAIN, 2009; DA SILVA, 2016).

Relacionado a sua etiologia, ainda não se tem informações totalmente claras, por ser uma doença de patologia multifatorial. No entanto, diversos fatores estão envolvidos no seu processo fisiopatológico e na sua susceptibilidade, como estímulos antigênicos infecciosos, fatores genéticos, alterações imunológicas e fatores ambientais (DA SILVA, 2016).

Relacionado aos fatores imunológicos, o processo inflamatório na articulação ocorre por meio de uma ligação de um antígeno com algum linfócito no líquido sinovial, promovendo a produção de citocinas e quimiocinas para o local inflamado. Os linfócitos TCD4 estão presente em grande parte da membrana sinovial, dessa forma, ao serem ativados, produzirão citocinas que irão ativar macrófagos e assim manter a resposta inflamatória ativada (SILVEIRA et al., 2007; ROBERTS et al., 2015; DA SILVA, 2016).

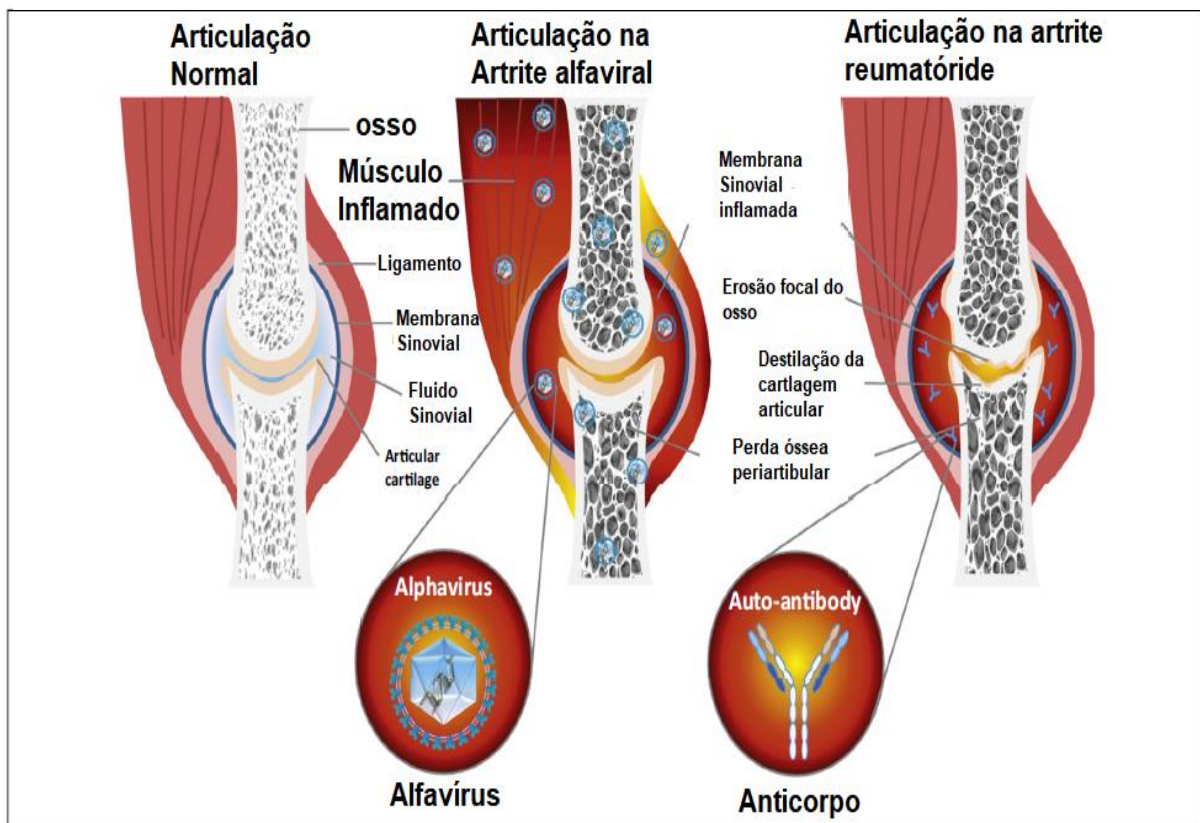
Durante esse processo, haverá formação de imunocomplexos que irão induzir ativação das proteínas do sistema complemento e de processos de fagocitose, resultando na inflamação articular e manifestações extra-articulares. Ainda, haverá a formação de anticorpos, dentre eles o fator reumatóide que é tem a função de ligar a porção FC de outras imunoglobulinas, estando presente em cerca de 90% dos pacientes com AR, sendo utilizado com critério para diagnóstico da doença. Além disso, também é encontrado em pessoas saudáveis, idosos, indivíduos com outras patologias autoimunes, e infecciosas como a febre chikungunya (DA SILVA, 2016).

Na CHIKF, as citocinas são importantes mediadores imunológicos que conduzem as respostas imunes, pois elas podem ter um impacto importante na intensidade das manifestações iniciais e/ou nas manifestações clínicas tardias, podendo estar associadas com outros fatores como a carga viral do CHIKV, a condição clínica do indivíduo antes da infecção, idade, alterações reumatológicas entre outros (NG et al., 2009; VAN DEN BOSSCHE et al., 2014; VENUGOPALAN et al., 2014; LONG et al., 2015; DEEBA et al., 2015).

A CHIKF e AR são doenças que podem apresentar semelhanças em sua patogênese (AMARAL, BILSBORROW, SCHOEN, 2020), onde na infecção pelo CHIKV, o mesmo infecta células do músculo

esquelético, macrófagos, sinoviócitos e osteoblastos que formam os ossos, levando à produção de citocinas pró-inflamatórias e quimiocinas que promovem a perda óssea. Na artrite reumatóide, o revestimento das articulações sinoviais e das articulações diartônicas é o principal alvo de inflamação local, com proliferação das células do revestimento sinovial e infiltração deste tecido por células inflamatórias. As citocinas e quimiocinas produzidas por células dentro do tecido sinovial inflamado promove a destruição da cartilagem articular e do osso, onde essa perda é vista nas articulações da artrite reumatóide autoimune como perda óssea periarticular adjacente à articulação e como focal erosão óssea nas margens da cartilagem e dos ossos, além também de ser evidente a perda sistêmica do osso longe da articulação afetada (Figura 4) (CHEN et al., 2015).

Figura 4 - Figura comparativa de uma articulação normal, uma com artrite alfaviral e outra com artrite reumatóide.



Fonte: CHEN et al., (2015).

A influência do CHIKV na AR ainda não foi demonstrada, no entanto, alguns estudos sugerem um papel da infecção pelo CHIKV no desenvolvendo da AR,

como a persistência na indução dos fibroblastos sinoviais e osteoblastos, onde após a indução, os fibroblastos produzem IL-6 e MCP-1. Os monócitos e macrófagos serão recrutados para o local da infecção. O vírus se replicará nos macrófagos, que por sua vez secretarão as citocinas pró-inflamatórias IL-1 β , TNF- α e IL-17A. Estas citocinas induzirão a osteoclastogênese, perda óssea e erosões em indivíduos cronicamente infectados (NG et al., 2009; RYMAN; KLIMSTRA, 2014).

A interleucina 1 beta (IL-1 β) é um mediador de resposta inflamatória aguda e no soro de pacientes na fase aguda da CHIKF tem sido descrita, onde nos estudos de NG et al., (2009) e Ferreira et al. (2021) foram encontradas associações dos níveis da IL-1 β com a gravidade da CHIKF. Por outro lado, em indivíduos na fase crônica, níveis elevados da IL-1 β podem induzir perda óssea e erosão além da osteoclastogênese. Ainda, pode desempenhar um papel fundamental na mediação da inflamação e destruição das articulações na AR (JAHID et al., 2018; FERREIRA et al., 2021).

A interleucina 6 (IL-6) é uma citocina pró-inflamatória produzida durante as respostas imunes inatas e adaptativas por linfócitos T e B, macrófagos, monócitos e fibroblastos (MARTINA; KORAKA; OSTERHAUS, 2009), onde na CHIKF, a IL-6 foi relacionada com a cronificação (CHOW et al., 2011; CHAAITANYA et al., 2011; CHOPRA, VENUGOPALAN, 2011; CHOPRA et al., 2012; VEGUNOPALAN, GHIROPADE, CHOPRA, 2014; SEPÚLVEDA-DELGADO et al., 2017; FERREIRA et al., 2021).

Estudo realizado com pacientes infectados pelo CHIKV, encontrou uma associação do nível elevado da IL-6 com a persistência da artralgia na fase crônica da doença (CHOW et al., 2011). Outro estudo que acompanhou pacientes na fase crônica foi de Chaaitanya et al. que também encontraram níveis elevados da IL-6 em pacientes crônicos muito maiores do que os da fase aguda do paciente, indicando sua forte associação com artrite em pacientes infectados pelo CHIKV (CHAAITANYA et al., 2011). Chopra et al. encontraram um aumento de oito vezes dos valores de IL-6 nos pacientes com CHIKF em comparação com o grupo de controle saudável, permanecendo elevada durante o período de acompanhamento do estudo de dois anos; onde os autores sugeriram que os níveis aumentados podem estar relacionados à persistência viral (CHOPRA et al., 2012).

No entanto, Chopra e Venugopalan avaliaram pacientes com sintomas persistentes após um ano de CHIKF e observaram um aumento da IL-6, um achado

que, segundo os autores, pode sugerir um processo inflamatório imune (CHOPRA, VENUGOPALAN, 2015). Por outro lado, Sepulveda-Delgado et al. (2017) observaram pacientes desde o momento do diagnóstico com altos níveis da IL-6 registrados, mas Hoarau et al., não encontraram diferenças, na fase aguda, entre os pacientes que progrediram ou não para a fase crônica da CHIKF (HOARAU et al., 2010), mostrando assim que os estudos trazem controvérsias entre seus achados.

A Interleucina 10 (IL-10) é uma citocina anti-inflamatória inibidora de macrófagos e células dendríticas ativadas, estando envolvida no controle das reações da imunidade inata e adaptativa, onde em estudos utilizando soro de indivíduos infectados pelo CHIKF, foram relatados níveis elevados dessa citocina durante a fase aguda da CHIKV (SCHAIBLE et al., 2010; KELVIN et al., 2011; CHAATHANYA et al., 2011) associando a persistência de sintomas musculoesqueléticos prolongados. Por outro lado, estudo realizado por Banerjee et al. e Mukhopadhyay, mostrou que a IL-10 foi significativamente reduzida no grupo analisado com artralgia persistente, relacionando esses níveis reduzidos à presença de pequenos números de células T reguladoras em um paciente com poliartralgia secundária ao CHIKV e que, por sua vez, são células produtoras desta citocina (BANERJEE et al., MUKHOPADHYAY, 2018). No entanto, no estudo mais recente relatou níveis elevados da IL-10 estavam associados com o inchaço articular (DISSANAYAKE et al., 2021).

A interleucina 17A (IL-17A) humana é expressa através das células Th17 e estimula a secreção da interleucina 6 (IL-6) e interleucina 8 (IL-8) pelo fibroblastos humanos (MARTI, 2013). Estudos em camundongos e em humanos infectados pelo CHIKV com alterações reumatológicas, tem relatado a expressão da IL-17A em níveis altos, dessa forma no estudo de Dagley et al. (2014) foi inoculado o vírus da CHIKV em um camundongo, e após o desenvolvimento da doença, foram dosados os níveis séricos de algumas citocinas, dentre elas a IL-17A, onde a sua expressão foi significativamente elevada.

A sinalização de IL-17A desempenha um papel importante nas artrites causadas por alfavírus (LIU et al., 2022), onde em estudos com humanos, a IL-17A foi detectada no plasma de pacientes infectados com CHIKV (CHOW et al., 2011; NG et al., 2009), no qual um papel indispensável foi identificado para a imunidade adaptativa na modulação da CHIKF, onde foi observado o aumento da ativação das

células T durante a infecção aguda pelo CHIKV (HOARAU et al 2010; WAUQUIER et al., 2011).

Além disso, a regulação positiva da IL-17A detectada em pacientes com CHIKF e a redução ou amenização da doença observada em camundongos com deficiência de IL-17A, sugerem uma correlação entre as vias de sinalização de IL-17A e a inflamação artrítica induzida pelo CHIKV, mostrando assim um papel importante na patogênese da doença (LIU et al., 2022). Por outro lado, na AR os altos níveis séricos da IL-17A foram relacionados a sua severidade (LUBBERTS, 2015; CAVALCANTI et al., 2019).

Relacionado as quimiocinas, a IP-10/CXCL10 é uma quimiocina que inicialmente foi descrita como sendo induzida pelo interferon (IFN)- γ , sendo capaz de ser produzida por diversos tipos de células, incluindo os monócitos (CIESIELSKI CJ. et al., 2002; VAZIRINEJAD R. et al., 2014). Ela é responsável pelo recrutamento de vários leucócitos para o local afetado, além de perpetuar a resposta inflamatória local (HASSANSHAHI et al., 2008; DE FILIPPO et al., 2013) induzindo efeitos angiostáticos (GOTSCH et al., 2007). Na CHIKF, a IP-10/CXCL10 encontra-se elevada durante a fase aguda da doença, ligando-se ao CXCR3, e ativando resposta Th1, favorecendo o *clearance* viral (NG et al., 2009) e tendendo a aumentar seus níveis a depender da maior carga viral (REDDY et al., 2014). Participando da regulação da migração de monócitos/macrófagos, células T de memória e NK, podendo contribuir para a ativação imune persistente na CHIKF, levando à cronicidade (KELVIN et al., 2011).

A MIG/CXCL-9 é uma quimiocina inflamatória importante no recrutamento de células T ativadas para os locais de infecção, mediante resposta Th-1 e Th-2 (HARDISON et al., 2006), e, assim como a IP-10, possui efeitos angiostáticos em células endoteliais microvasculares humanas (CRAWFORD et al., 2010). Na CHIKF, o MIG encontra-se elevado durante fase aguda, favorecendo a eliminação do vírus (NG et al., 2009). Contudo, já foi descrita em casos de artralgia persistente, permanecendo ainda elevada dois meses após sintomas agudos (REDDY et al., 2014). Bem como IP-10, participa da regulação da migração de monócitos/macrófagos, células T de memória e NK, podendo contribuir para a ativação imune persistente na CHIKF (KELVIN et al., 2011).

A IL-8/CXCL8 é uma quimiocina inflamatória que tem como principal função o recrutamento de neutrófilos ao sítio inflamatório, e tem como principais receptores

CXRC1 e CXRC2 (BAGGIOLINI, CLARK-LEWIS, 1992; PALOMINO, MARTI, 2015). Suas funções também envolvem induzir à reorganização do citoesqueleto, alterações nos níveis de Ca^{2+} intracelular, ativação de integrinas, exocitose de proteínas granulares e *respiratory burst*. Há algumas doenças inflamatórias crônicas, como psoríase, artrite reumatoide, doenças pulmonares, em que há super-expressão da IL-8 (CAMP et al., 1991; MARTICH et al., 1991; PALOMINO, MARTI, 2015). Na CHIKV crônica os níveis de IL-8 foram elevados em pacientes com artrite crônica, além disso, elevado níveis de IL-8 no soro e no líquido sinovial de pacientes com artrite reumatóide foi relatado em vários estudos (CHAAITHANYA et al., 2011).

Outra quimiocina importante na imunopatogenese da CHIKF é a MCP-1/CCL2, que estimula a quimiotaxia de monócitos e macrófagos, e vários eventos celulares associados à quimiotaxia, incluindo o fluxo de Ca^{+} e a expressão de integrinas (RAZ, MAHABALESHWAR, 2009; PALOMINO, MARTI, 2015). Tem função de agir como indutor da expressão de citocina em monócitos, e em altas concentrações, desperta *respiratory burst*, que gera espécies reativas de oxigênio (JIANG et al., 1992). Sua expressão foi aumentada em algumas doenças, como na aterosclerose e nos sinoviócitos em artrite reumatoide (ZHANG et al. 2015; RAGHU et al., 2016), pois monócitos e macrófagos desempenham um papel importante na fisiopatologia da artrite (TANABE et al., 2018). Na CHIKF, a MCP-1 se apresenta elevada, estando correlacionado com o aumento da carga viral durante fase aguda, e seus níveis permanecem elevados em casos de artralgia persistente, elevando-se ainda mais nos casos graves, sendo cogitado como biomarcador de gravidade (REDDY et al., 2014; NINLA-AESONG, MITARNUN, NOIPHA, 2019).

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivos gerais

Verificar a existencia de fatores de risco (sociodemográficos, comportamentais, clínicos e laboratoriais) referentes à positividade do anti-CHIKF (IgG) em indivíduos com AR pré-existente em relação a indivíduos apenas com CHIKF e AR acompanhados no ambulatório de reumatologia do Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE) no período de dezembro de 2018 à fevereiro de 2020.

Verificar a existência de associação dos níveis séricos das citocinas IL-1 β , IL-6, IL-10, IL-17A, CCL2, CXCL8, CXCL9 e CXCL10 em pacientes com AR e com positividade para o anti-CHIKV IgG, em comparação com pacientes apenas com AR e CHIKF.

3.2 Objetivos específicos

- Analisar os fatores sociodemográficos, comportamentais, clínicos e laboratoriais com a positividade do anti-CHIKV (IgG) em pacientes com AR com positividade para o anti-CHIKF (IgG) em relação a pacientes apenas com CHIKF e AR;
- Verificar associação dos níveis das citocinas IL-1 β , IL-6, IL-10, IL-17A, CCL2, CXCL8, CXCL9 e CXCL10 em pacientes com AR com positividade para o anti-CHIKF IgG em relação a pacientes apenas com CHIKF e AR;
- Verificar associação dos níveis das citocinas IL-1 β , IL-6, IL-10, IL-17A, CCL2, CXCL8, CXCL9 e CXCL10 com os dados laboratoriais (PCR, FR e contagem de leucócitos) em pacientes com AR com positividade para o anti-CHIKF IgG em relação a pacientes apenas com CHIKF e AR;

4 METODOLOGIA

4.1 Desenho, população e local do estudo

Tratou-se de um estudo transversal analítico de comparação entre três grupos distintos, com 160 pacientes acompanhados no Ambulatório de Reumatologia do Hospital das Clínicas (HC) da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE) no período de dezembro de 2018 à fevereiro de 2020. O primeiro grupo se tratou de pacientes na fase crônica da febre chikungunya com alterações reumatológicas (grupo CHIKV), o segundo grupo possuindo pacientes com artrite reumatóide autoimune pré-existente com positividade para o anti-CHIKV (IgG) (grupo AR+CHIKV) e o terceiro grupo apenas com pacientes com artrite reumatóide autoimune (grupo AR)

4.2 Critérios de inclusão

Foram incluídos na pesquisa indivíduos maiores de 18 anos, com diagnóstico clínico da CHIKF, que estivesse na fase crônica, e pacientes com o diagnóstico clínico da artrite reumatóide autoimune.

4.3 Critérios de exclusão

Indivíduos que possuíam outras doenças autoimunes diferentes da artrite reumatoide autoimune, e que tinham alguma alteração reumatológica anterior ao diagnóstico da infecção pelo CHIKV.

4.4 Coleta de dados e amostras

Cada participante da pesquisa assinou, em duas vias de igual teor, o termo de consentimento livre e esclarecido para maiores de 18 anos (TCLE) (Apêndice A), que lhe assegurou o cumprimento das normas da resolução 196 do Conselho Nacional de Saúde. Em seguida, foi realizada a coleta de 5 mL de sangue, em tubo seco, e as amostras encaminhadas ao Setor de Virologia do LIKA para processamento e armazenamento -20°C até a realização dos testes imunológicos

(ELISA). Os dados sociodemográficos e comportamentais foram obtidos durante a entrevista com o participante para o preenchimento do formulário da pesquisa (apêndice B), e os dados clínicos e laboratoriais através dos prontuários dos participantes. Cada participante com CHIKF informou ter adquirido a doença entre 2015 e 2017. Todos os pacientes com CHIKF e AR estavam sob tratamento para as respectivas doenças.

4.5 Teste ELISA para a detecção do anti-CHIKV (IgG)

A detecção do anti-CHIKV (IgG) foi realizada utilizando kits comerciais (EUROIMMUN[®]), seguindo as instruções do fabricante e os resultados expressos em reagentes e não reagentes.

4.6 Dosagem das citocinas e quimiocinas

A avaliação das concentrações séricas das citocinas e quimiocinas IL-1 β , IL-6, IL10 e IL-17, CCL2, CXCL8, CXCL9 e CXCL10 foi realizada por citometria de fluxo, utilizando o método Cytometric Bead Array (CBA) (BD Bioscience, San Diego, Califórnia, EUA). O ensaio CBA utilizou beads de captura revestidas com anticorpo específico para determinada citocina possuindo fluorescência e tamanhos conhecidos. Para cada dosagem das citocinas foram utilizados 25 μ L de soro (não diluído) com limite de detecção de 2 a 2.500 pg/mL. A leitura do teste foi realizada no citômetro BD FACSCalibur[™] em colaboração com o Setor de Imunopatologia do Instituto Ageu Magalhães (IAM/Fiocruz).

4.7 Análise dos dados

Para verificar a normalidade amostral das concentrações de quimiocinas e as variáveis laboratoriais foi utilizado o teste de D'Agostino. Em seguida, foram realizados os testes de Kruskal-Wallis e Mann-Whitney para comparação entre os grupos. A associação entre as variáveis categóricas foi realizada utilizando o teste *qui quadrado* e o teste exato de Fisher. Para todos os testes foi considerado como significativo o valor de $p < 0,05$ com valores de *Odds Ratio* e intervalo de Confiança

de 95%. As análises estatísticas foram realizadas no programa GraphPad Prism 9 v.9.01.

4.8 Considerações éticas

O projeto foi submetido e aprovado pelo comitê de ética e pesquisa da Universidade Federal de Pernambuco (CEP/UFPE) com número de CAAE 17712619.5.0000.5208.

5 RESULTADOS

5.1 ARTIGO 1

SUBMETIDO A REVISTA BRAZILIAN JOURNAL OF MICROBIOLOGY

SINERGISMO ENTRE INFECÇÃO PELO VÍRUS CHIKUNGUNYA E ARTRITE REUMATOIDE NOS NÍVEIS DE CITOCINAS: IMPLICAÇÕES CLÍNICAS?

Resumo

A artrite crônica pós-chikungunya compartilha vários mecanismos imunopatogênicos com a artrite reumatoide (AR), o que tem levado a discussões sobre a provável relação entre as duas doenças. De fato, alguns estudos sugeriram um papel da infecção pelo vírus chikungunya (CHIKV) no desenvolvimento da AR. No entanto, até onde sabemos, a influência do CHIKV na AR prévia ainda não foi demonstrada. Aqui, analisamos o potencial sinergismo entre infecção por CHIKV e AR nos níveis de citocinas e quimiocinas. Para isso, comparamos os níveis de IL-1 β , IL-6, IL-10, IL-17A, CCL2, CXCL8, CXCL9 e CXCL10, além de fator reumatoide (FR) e proteína C reativa (PCR), em pacientes com alterações reumatológicas pós-CHIKV (denominado grupo CHIKV), pacientes apenas com AR (grupo AR) e pacientes com AR que foram posteriormente infectados pelo CHIKV (RA-CHIKV). O histórico de infecção pelo CHIKV foi confirmado por sorologia (IgG, ELISA). As citocinas/quimiocinas foram quantificadas por citometria de fluxo. Os dados de FR, PCR, idade e sexo foram obtidos dos prontuários. Os níveis de IL-1 β , IL-6, IL-10 e IL-17A foram significativamente maiores no AR-CHIKV em comparação com os outros grupos. Os níveis de CXCL8 foram maiores no grupo CHIKV do que na AR. CXCL9 foi maior no CHIKV do que no grupo RA-CHIKV. CXCL10 foi maior no CHIKV do que nos outros grupos. Os níveis de FR foram maiores na AR do que no grupo CHIKV, e no RA-CHIKV do que no CHIKV. Não foi observada diferença significativa em CCL2 e PCR, assim como em idade e sexo. Por fim, nossos achados sugerem uma interação entre infecção por CHIKV e AR, que deve ser analisada quanto ao seu possível impacto clínico.

Palavras-chave: poliartralgia; CHIKV; artrite reumatóide; IL-1 β ; IL-6; IL-10; IL-17A.

INTRODUÇÃO

O CHIKV, gênero *Alphavirus*, família *Togaviridae*, é um arbovírus transmitido principalmente por fêmeas infectadas de *Aedes aegypti* e *Ae. albopictus* (SILVA JUNIOR et al., 2018; ICTV, 2021). As infecções pelo CHIKV são frequentemente sintomáticas, com 3-28% dos indivíduos assintomáticos. Em pacientes sintomáticos, a febre chikungunya (CHIKF) é caracterizada principalmente por febre alta súbita ($> 39^{\circ}\text{C}$) e dor nas articulações, embora outros sinais e sintomas possam ser observados, como cefaléia, mialgia, náuseas, vômitos e exantema maculopapular (STAPLES, SUSAN, ANN, 2020). Complicações raras também foram associadas à infecção por CHIKV, como miocardite, uveíte, retinite, doença renal aguda, mielite, meningoencefalite e síndrome de Guillain-Barré (MAHENDRADAS, AVADHANI, SHETTY, 2013; CROSBY et al., 2016; MEHTA et al., 2018; STAPLES, SUSAN, ANN, 2020).

Estima-se que até 88% dos pacientes CHIKV-positivos podem ter artralgia que persiste por um mês após o início dos sintomas (CALABRESE, 2008). Além disso, aproximadamente 14% dos casos agudos de chikungunya evoluem para artrite crônica, que tem sido frequentemente relatada em pacientes idosos (> 60 anos), indivíduos com alta carga viral na fase aguda (até 1010 vírus por mililitro de sangue) e naqueles com uma resposta imune robusta (HOARAU et al., 2010; RODRÍGUEZ-MORALES et al., 2016). Causas potenciais de artrite crônica induzida por CHIKV também incluem persistência de antígeno viral, indução de doença autoimune e exacerbação de doença articular pré-existente (GOUPIL et al., 2016).

Curiosamente, a artrite crônica pós CHIKF tem semelhanças clínicas com a artrite reumatoide (AR), mimetizando-a: por exemplo, ambas as doenças podem levar a derrames articulares, erosões ósseas, edema de medula óssea, espessamento sinovial, tendinite, tenossinovite e são mais comuns em idade e pacientes do sexo feminino (AMARAL, BILSBORROW, SCHOEN, 2020). Além dos aspectos clínicos, a artrite crônica induzida por CHIKV e a AR compartilham algumas vias patogênicas, como um desequilíbrio na resposta imune exemplificado por níveis elevados de IL-1 β , TNF, CCL2 e IL-6 (KOCH et al., 1992; HARIGAI et al., 1993; CHOW et al., 2011; MCINNES, SCHETT, 2011; NINLA-AESONG,

MITARNUNNOIPHA, 2019; FERREIRA et al., 2021)12-17]. A semelhança entre artrite crônica pós-CHIKV e AR também foi demonstrada em modelo animal (NAKAYA et al., 2012). Uma provável consequência da sobreposição patogênica entre artrite crônica induzida por CHIKV e AR seria a relação de causa e efeito entre elas. De fato, alguns autores sugeriram uma provável influência da infecção por CHIKV no desenvolvimento da AR (FOURIE, MORRISON, 1979; BOUQUILLARD, COMBE, 2009). Por outro lado, até onde sabemos, a influência da infecção pelo CHIKV na AR prévia ainda não foi demonstrada.

Considerando o contexto acima, levantamos a hipótese de um sinergismo imunopatogênico entre infecção por CHIKV na AR. Essa possibilidade está de acordo com a levantada por Burt et al. (2014), que sugerem que a infecção por CHIKV pode levar à exacerbação (ou aumento da suscetibilidade) da AR subjacente e outras doenças articulares. Portanto, para contribuir com os estudos sobre a relação entre CHIKV e AR, comparamos os níveis de citocinas e quimiocinas em pacientes com artrite crônica pós-CHIKV, pacientes com AR e pacientes com AR prévia que foram posteriormente infectados por CHIKV. Especificamente, analisamos IL-1 β , IL-6, IL-10, IL-17A, CCL2, CXCL8, CXCL9 e CXCL10, que foram previamente associados à gravidade e/ou duração dos sintomas relacionados à infecção por CHIKV e AR (KOCH et al., 1992; HARIGAI et al., 1993; MCINNES, SCHETT, 2011; FERREIRA et al., 2021; KATSIKIS et al., 1994; LEE et al., 2012; DOMENICANTONIO, 2014; MAGYARI et al., 2014; HERNÁNDEZ-BELLO et al., 2017; LEE et al., 2017; PANDYA et al., 2017; NINLA-AESONG, MITARNUNNOIPHA, 2019; PAPARO, 2019; LIN et al., 2020; JACOB-NASCIMENTO et al., 2021; NRAS, 2022). Além disso, também comparamos os níveis de fator reumatóide (FR) e proteína C reativa (PCR) entre os grupos. Por fim, acreditamos que os achados aqui descritos contribuem para o entendimento da provável interação entre CHIKV e AR.

MATERIAIS E MÉTODOS

Desenho do estudo e população

Foi realizado um estudo transversal analítico sobre a concentração sérica de citocinas e quimiocinas em pacientes com artrite crônica induzida por CHIKV e/ou AR acompanhados no Ambulatório de Reumatologia do Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Pernambuco (Universidade Federal de Pernambuco, UFPE), Recife, Brasil, de dezembro de 2018 a fevereiro de 2020. Os pacientes foram agrupados de acordo com o diagnóstico de AR e história de infecção por CHIKV: pacientes com poliartralgia pós-CHIKV (denominado grupo CHIKV); pacientes com AR, com sorologia negativa para CHIKV (grupo AR); e pacientes com AR prévia que posteriormente foram infectados pelo CHIKV (sorologia positiva) (grupo AR-CHIKV). É importante ressaltar que pacientes com sorologia positiva foram previamente diagnosticados para infecção por CHIKV (fase aguda) entre 2015 e 2017.

Os dados sociodemográficos (idade e sexo) e laboratoriais (FR e PCR) foram obtidos dos prontuários. O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Centro de Ciências da Saúde da UFPE (protocolo 17712619.5.0000.5208).

Sorologia CHIKV e dosagem de citocinas e quimiocinas

A sorologia para CHIKV (IgG) foi realizada no Setor de Virologia do Instituto Keizo Asami (iLIKA) (UFPE) utilizando um kit comercial (EUROIMMUN®), de acordo com as instruções do fabricante. A dosagem da concentração sérica de IL-1 β , IL-6, IL-10, IL-17A, CCL2, CXCL8, CXCL9 e CXCL10 foi realizada no Laboratório de Imunopatologia do Instituto Aggeu Magalhães (Instituto Aggeu Magalhães, IAM; Fundação Oswaldo Cruz, Fiocruz), por citometria de fluxo, utilizando o método Cytometric Bead Array (CBA) (BD Bioscience, San Diego, Califórnia, EUA), de acordo com as instruções do fabricante.

Análise estatística

As análises de sexo e idade foram realizadas por meio do teste qui-quadrado (χ^2) e análise de variância (ANOVA), respectivamente. Os níveis de citocinas, quimiocinas, FR e PCR foram analisados pelo teste de normalidade D'Agostino-Pearson, seguido dos testes de Kruskal-Wallis e Mann-Whitney. Todas as análises foram realizadas no GraphPad Prism v. 9.4.1, considerando um intervalo de confiança de 95% e $p < 0,05$.

RESULTADOS

Analizamos 44, 30 e 27 pacientes nos grupos CHIKV, AR e AR-CHIKV, respectivamente. As médias de idade foram $56 \pm 11,98$ (grupo CHIKV), $59 \pm 13,65$ (grupo AR) e $54 \pm 8,98$ (grupo AR-CHIKV). Em todos os grupos, a maioria dos pacientes analisados era do sexo feminino: 39 (88,64%), 27 (90%) e 23 (85,19%) para CHIKV, AR e RA-CHIKV, respectivamente. Não foram observadas diferenças significativas de idade e sexo (Tabela 1).

Tabela 1 - Dados sociodemográficos e laboratoriais dos pacientes analisados.

Os níveis de IL-1 β foram significativamente maiores no grupo AR-CHIKV em comparação com CHIKV ($p = 0,0004$) e AR ($p = 0,0067$). A IL-6 também apresentou níveis mais elevados no AR-CHIKV em comparação aos grupos CHIKV e AR: $p < 0,0001$ e $p = 0,0413$, respectivamente. Além disso, a IL-6 foi maior no grupo AR do que no CHIKV ($p = 0,0237$) (Figura 1). IL-10 e IL-17A também foram significativamente maiores no AR-CHIKV do que nos outros grupos: IL-10, RA-

Data	Group		
	CHIKV (n = 44)	RA (n = 30)	RA-CHIKV (n = 27)
Social			
Age (mean)	56 ± 11.98	59 ± 13.65	54 ± 8.98
Sex			
Male	5 (11.36%)	3 (10%)	4 (14.81%)
Female	39 (88.64%)	27 (90%)	23 (85.19%)
Laboratory (median)^{##}			
C-reactive protein	0.17 mg/dL (0 - 2.3)	0.2 mg/dL (0 - 4)	0.3 mg/dL (0 - 2.2)
Rheumatoid factor	0.1 UI/mL [*] (0 - 39.70)	24.1 UI/mL [*] (0 - 721.9)	69.5 UI/mL [#] (0 - 307.8)

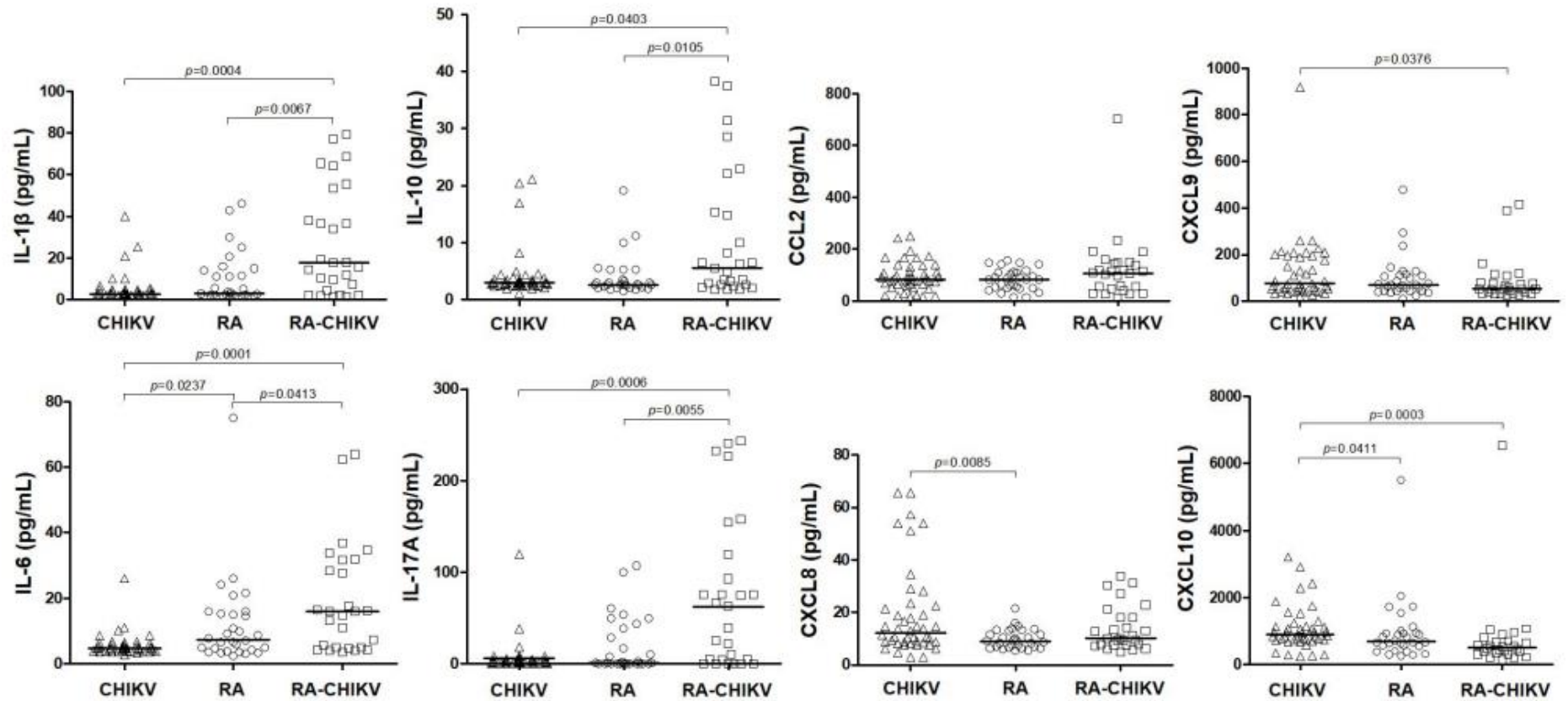
Pacientes com sorologia positiva (IgG) para vírus chikungunya (grupo CHIKV); pacientes com artrite reumatóide, mas sorologia negativa para o vírus chikungunya (grupo AR); pacientes com artrite reumatóide prévia que se infectaram pelo vírus chikungunya (grupo RA-CHIKV). * $p = 0,0192$; # $p < 0,001$. ## p obtido pelo teste de Mann-Whitney

CHIKV vs. CHIKV ($p = 0,0403$) e AR-CHIKV vs. RA ($p = 0,0105$); IL-17A, RA-CHIKV vs. CHIKV ($p = 0,0006$) e RA-CHIKV vs. RA ($p = 0,0055$) (Figura 1).

Os níveis de CXCL8 foram maiores no grupo CHIKV do que na AR ($p = 0,0085$). CXCL9 foi maior no CHIKV do que no grupo AR-CHIKV ($p = 0,0376$) (Figura 1). Os níveis de CXCL10 foram maiores no grupo CHIKV em comparação com RA-CHIKV ($p = 0,0003$) e AR ($p = 0,0411$). Nenhuma diferença significativa foi observada nos níveis de CCL2 (Figura 1).

Com relação aos dados laboratoriais, os níveis de FR foram maiores no grupo AR do que no CHIKV ($p < 0,0001$), assim como no grupo AR-CHIKV em comparação ao CHIKV ($p = 0,01$) (Tabela 1). Não houve diferença significativa nos níveis de PCR (Tabela 1).

Figura 1 Dosagem sérica de citocinas e quimiocinas analisadas no estudo com pacientes dos grupos CHIKV, AR+CHIKV e AR.



DISCUSSÃO

Em nosso estudo, a média de idade dos grupos CHIKV, AR e RA-CHIKV foi de 54-59 anos, o que é próximo ao frequentemente relacionado à artrite pós-CHIKV (> 60 anos) e AR (40-60 anos) (HOARAU et al., 2010; RODRÍGUEZ-MORALES et al., 2016; NRAS, 32). A maioria dos nossos pacientes era do sexo feminino (85,19-90%), o que também está de acordo com relatos anteriores (AMARAL, BILSBORROW, SCHOEN, 2020). Interessante, a razão de sexo aqui observada (feminino/masculino) é consideravelmente superior à do Recife (IBGE, 2010), reforçando a afirmação de que esse achado está relacionado a aspectos clínicos, não sendo determinado pelas características sociais da nossa região de estudo.

Em relação ao perfil imunológico, observamos os maiores níveis de IL-1 β , IL-6 e IL-17A no grupo AR-CHIKV. Esse achado sugere uma sinergia entre CHIKV e AR, uma hipótese apoiada pela combinação de relatos anteriores. IL-1 β , IL-6 e IL-17A, por exemplo, têm sido relacionados à gravidade e/ou cronicidade da artrite pós-CHIKV (NAKAYA et al., 2012). Além disso, essas citocinas também têm sido associadas à AR, ativando leucócitos e osteoclastos (IL-1 β e IL-6) e contribuindo para a ativação de fibroblastos sinoviais, condrócitos e osteoclastos (IL-17A) (MCIGNNES, SCHEET, 2011).

O grupo AR-CHIKV também apresentou aumento significativo de IL-10 (citocina anti-inflamatória) em relação ao CHIKV e AR. À primeira vista, esse achado parece contradizer o perfil pró-inflamatório mencionado acima, no entanto, outros estudos descreveram o aumento de IL-10 em doenças subjacentes pró-inflamatórias, como AR e tempestade de citocinas (KATSIKIS et al., 1994; HERNÁNDEZ-BELLO et al., 2017; DHAR et al., 2021; LU et al., 2020). No geral, é possível que o aumento da IL-10 esteja relacionado a uma tentativa (malsucedida) de restaurar a homeostase.

A relação entre a quimiocina CXCL10 e artrite inflamatória, especialmente AR, foi bem estabelecida, e alguns estudos também demonstraram uma associação entre CXCL10 e artrite pós-CHIKV (LEE et al., 2012; DOMENICANTONIO, 2014; LEE et al., 2017; PANDYA et al., 2017; LIN et al., 2020). Em nosso estudo, no entanto, os níveis de CXCL10 foram significativamente maiores no CHIKV do que

nos outros grupos. Da mesma forma, os níveis de CXCL9, que foram associados à AR (PAPARO, 2019) e à cronificação da chikungunya (FERREIRA et al., 2021), foram significativamente maiores no grupo CHIKV em comparação com o grupo RA-CHIKV. O aumento sérico dessas quimiocinas no grupo CHIKV em comparação com AR e/ou AR-CHIKV levanta uma questão interessante que merece ser aprofundada em estudos futuros sobre a relação entre infecção por CHIKV e AR.

Em relação à quimiocina CXCL8, também observamos os níveis mais elevados no grupo CHIKV. A relação entre CXCL8 e CHIKV precisa ser vista com cautela, pois alguns estudos têm mostrado achados aparentemente conflitantes sobre sua influência na infecção pelo CHIKV. Lohachanakul et al. (2012), por exemplo, relataram que a baixa concentração de CXCL8 pode estar associada à gravidade da infecção por CHIKV. Por outro lado, Ninla-aesong et al. (2019) relataram que o CXCL8 tendeu a ser maior em pacientes com dor intensa do que naqueles com dor não intensa. Além disso, Jacob-Nascimento et al. (2021) descreveram que os níveis de CXCL8 na chikungunya aguda podem ser um fator de risco para artralgia crônica. Por outro lado, estudos sobre a relação entre CXCL8 e AR têm sido mais consistentes e essa citocina tem sido relacionada à patogênese da doença (MAGYARI et al., 2014). Assim, é possível que a relação aparentemente conflituosa entre CXCL8 e CHIKV esteja por trás dos níveis mais elevados dessa citocina no grupo CHIKV.

Curiosamente, não observamos uma diferença significativa nos níveis de CCL2 entre os grupos. Embora essas quimiocinas tenham sido associadas à gravidade e/ou cronicidade da chikungunya (FERREIRA et al., 2021) e da AR (KOCH et al., 1992; HARIGAI et al., 1993), nossos achados indicam que não há diferença significativa entre diferentes condições (grupo AR ou CHIKV) ou quando estão juntas (RA-CHIKV). Esses achados estão de acordo com o descrito por Harigari et al. (1993): embora os autores tenham observado a produção de CCL2 na sinóvia de pacientes com AR e outras doenças articulares inflamatórias, a diferença entre os grupos não foi significativa (HARIGAI et al., 1993). Acreditamos que situação semelhante foi observada com a PCR, que também tem sido associada à artralgia por CHIKV (SCHILT et al., 2013) e AR (POP, CHOY, 2021), mas em nosso estudo mostrou níveis semelhantes ao comparar CHIKV, AR e AR-CHIKV.

Os níveis de fator reumatóide foram significativamente diferentes entre os grupos, que podem ser organizados em ordem crescente: CHIKV, RA-CHIKV e RA. No geral, esses resultados estão de acordo com relatórios anteriores. Embora a FR tenha sido historicamente implicada na patogênese da AR (INGEGNOLI et al., 2003), poucos casos de infecção por CHIKV são FR positivos (RODRÍGUEZ-MORALES et al., 2016). Acreditamos que a questão mais interessante aqui seja a redução dos FR no grupo AR-CHIKV quando comparado aos pacientes com AR. É possível que a infecção por CHIKV antagonize de alguma forma a produção de RF, talvez direcionando a resposta imune a antígenos relacionados ao CHIKV.

CONCLUSÃO

Observamos que os níveis de IL-1 β , IL-6, IL-10 e IL-17A foram significativamente maiores no grupo AR-CHIK em comparação com CHIKV ou AR, o que provavelmente está relacionado ao sinergismo entre infecção por CHIKV e AR. Considerando a associação dessas citocinas com a gravidade da chikungunya e/ou da AR, é possível que esse perfil imunológico também esteja relacionado à evolução da doença, provavelmente resultando em piora dos sinais e sintomas. Portanto, encorajamos estudos futuros para investigar as possíveis consequências clínicas da infecção por CHIKV em pacientes com AR prévia.

5.2 Artigo 2

SUBMETIDO A REVISTA: ZOONOSES AND PUBLIC HEALTH

ANÁLISE DE FATORES AGRAVANTES EM PACIENTES COM POSITIVIDADE PARA O ANTI-CHIKV (IgG) COM E SEM ARTRITE PRÉ-EXISTENTE

Resumo

A febre chikungunya(CHIKF) é uma doença que afeta a qualidade de vida dos acometidos, podendo interferir nas ações comportamentais e causar dor persistente por longo período em pacientes na fase crônica. No entanto, em indivíduos com Artrite reumatoide autoimune pré-existente (AR) com positividade para o anti-CHIKV (IgG), estudos sugerem que fatores imunopatogênicos, como a ação de citocinas e quimiocinas nos sítios de inflamação articular, possam estar relacionados com o agravamento da CHIKF na AR. Porém, informações sobre fatores de agravamento da CHIKV na população com AR pré-existente são escassos. Assim, o objetivo dessa pesquisa foi descrever e analisar os fatores de agravamento relacionados a infecção pelo CHIKV na AR comparados a indivíduos apenas com CHIKV e AR. Participaram do estudo 160 pacientes acompanhados no ambulatório de reumatologia da Universidade Federal de Pernambuco no período de 2018 a 2020, divididos em três grupos: CHIKV, AR+CHIKF e AR. Dados sociodemográficos e comportamentais foram obtidos por meio de questionário aplicado durante entrevista. Dados clínicos e laboratoriais foram obtidos através dos prontuários dos pacientes. Todos os pacientes foram testados para anti-CHIKV (IgG) seguindo as recomendações do fabricante. Após a descrição dos fatores sociodemográficos, comportamentais, laboratoriais e clínicos foi encontrada associação nos seguintes grupos: CHIKF: etnia ($p < 0,00011$), afastamento das atividades ($p < 0,0001$) e teve outras arboviroses ($p: 0,0012$) e no grupo AR+CHIKF com os fatores artralgia ($p: 0,0001$), cervicalgia ($p < 0,0001$), ombro ($p < 0,0001$), cotovelo ($p < 0,0001$), punho e dedos ($p < 0,0001$), quadril ($p < 0,0001$), dor no joelho ($p: 0,0349$), intensidade da dor ($p < 0,0001$), fator reumatoide ($p < 0,0001$), RDW ($p < 0,0001$), basófilos ($p: 0,0104$),

linfócitos (p : 0,0351) e monócitos (p : 0,0286). Não encontramos associação de nenhum dos fatores no grupo AR. Em conclusão, fatores clínicos (exacerbação da dor articular) e laboratoriais (aumento do fator reumatoide e dos glóbulos brancos) foram associados à positividade para anti-CHIKV (IgG) em pacientes com artrite reumatoide autoimune preexistente, mostrando ainda que estes pacientes são mais susceptíveis ao agravamento das alterações reumatológicas, comparados aos pacientes com CHIKF e AR. Sugerimos a realização de mais estudos para contribuição do conhecimento dos fatores de agravamento da CHIKF em pacientes com AR.

Palavras-chave: Febre Chikungunya; Epidemiologia da Febre Chikungunya; Fatores de risco para CHIKF, artrite reumatoide autoimune.

INTRODUÇÃO

A infecção pelo vírus Chikungunya (CHIKV) pode desenvolver dores articulares persistentes e interferir na qualidade de vida dos acometidos (VAIRO et al., 2019). No entanto, em indivíduos com artrite reumatóide pré-existente (AR) com positividade para o anti-CHIKV (IgG), não se tem informações claras a respeito de fatores da gravidade da CHIKF na AR, havendo apenas sugestões da possibilidade de ações imunopatogênicas se relacionarem ao agravo articular (BURT et al., 2014; DEEBA et al., 2016; RODRIGUEZ-MORALES et al., 2016; MARTI-CARVAJAL ET AL., 2017; PATHAK, MOHAN, RAVINDRAN, 2019; ANJOS et al., 2020; AMARAL, BILSBORROW, SCHOEN, 2020).

A resposta inflamatória durante a infecção pelo CHIKV é semelhante à da AR, com padrões semelhantes de infiltração de leucócitos, produção de citocinas e ativação do sistema complemento (BURT et al., 2012; SCOTT et al., 2010; NAKAYA et al., 2012; BURT et al. al., 2010; al., 2014). Várias citocinas são compartilhadas com o fator de necrose tumoral, interleucina 1, interleucina 6 e interleucina 17, sendo alvos terapêuticos estabelecidos durante a AR, mostrando-se importantes na patogênese da CHIKF (BURT et al., 2014; CHEN et al., 2014). Dessa forma, Burt et al. (2014) sugere que a infecção pelo CHIKV pode levar a exacerbação ou ao

aumento da susceptibilidade da AR subjacente e outras doenças articulares, corroborando com outros estudos que sugeriram essa exacerbação em patologias articulares pré-existentes após infecção por alfa vírus (MYLONAS et al., 2002; SISSKO et al., 2009; CHEN et al., 2014).

Apenas fatores imunopatogênicos são sugeridos em pacientes com AR após a infecção pelo CHIKV (AMARAL, BILSBORROW, SCHOEN, 2020). No entanto, em pacientes apenas com CHIKF ou AR, estudos têm relatado como fatores para a aquisição e agravamento da CHIKF, o aumento da idade, sexo, etnia, nível de escolaridade, atividades diárias, variações climáticas, alterações laboratoriais (VASCONCELOS et al., 1993; JOSSERAN et al., 2006; TANDALE et al., 2009; AAGAARD-HANSEN, et al., 2010; AYU et al., 2010; SOUMAHORO et al., 2010; HONÓRIO et al., 2015; CASTRO et al., 2016; GOUPIL, MORES, 2016; HIGUERA-MEDIETA et al., 2016; LIMA-CAMARA, 2016; KUAN et al., 2016; BRASIL, 2017; GROSSI-SOYSTER et al., 2017; VU, JUNGKIND, LABEAUD, 2017; DIAS et al. ., 2018 ; KOHLER et al., 2018; WHITEMANT et al., 2018; CAVALCANTI et al., 2019; ANJOS et al., 2020; QUEIROZ et al., 2020; BRAGA et al., 2021; REZENDE, 2021). Necessitando assim de mais informações a respeito de fatores de agravamento relacionados a influência da CHIKV na AR.

Devido à escassez de informações a respeito de fatores de agravamento da CHIKF em pacientes com AR, nós realizamos esta pesquisa com o objetivo de descrever e analisar os fatores de agravamento sociodemográficos, comportamentais, clínicos e laboratoriais em pacientes com AR pré-existente com positividade para o anti-CHIKV (IgG) em relação aos pacientes apenas com CHIKF e AR.

MATERIAIS E MÉTODOS

Desenho, população e local de estudo

Foi realizado um estudo analítico de comparação entre três grupos de pacientes: o primeiro com pacientes na fase crônica da CHIKF sem artrite reumatoide, mas com alterações reumatológicas persistentes após a infecção (grupo

CHIKV), o segundo formado por pacientes com artrite reumatoide autoimune e que CHIKF adquirida (grupo AR+CHIKF), e o terceiro composto por pacientes apenas com artrite reumatoide autoimune (grupo AR), todos acompanhados no Ambulatório de Reumatologia do Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE) de dezembro de 2019 a fevereiro de 2020.

Critérios de inclusão

Foram incluídos no estudo pacientes maiores de 18 anos, com presença de anti-CHIKV (IgG) positivo, conforme protocolo do Ministério da Saúde, e diagnóstico de artrite reumatoide autoimune realizado por critérios clínicos.

Critérios de exclusão

Pacientes que apresentavam outras doenças autoimunes além da artrite reumatoide autoimune e que apresentavam alguma alteração reumatológica antes do diagnóstico de CHIKF.

Coleta de dados e amostras

Cada participante da pesquisa assinou, em duas vias de igual teor, o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) para maiores de 18 anos. Em seguida, foram coletados 5 mL de sangue em tubo seco, e as amostras foram encaminhadas ao Setor de Virologia do LIKA/UFPE para processamento e armazenamento a -20°C até a realização dos testes imunológicos. Os dados sociodemográficos e comportamentais foram obtidos durante a entrevista com o paciente para preenchimento do formulário de pesquisa. Dados clínicos e laboratoriais foram obtidos dos prontuários dos participantes. Todos os pacientes relataram ter adquirido a doença entre 2014 e 2017 e estavam em tratamento. Todos os pacientes foram retestados para anti-CHIKF (IgG).

Sorologia para o anti-CHIKV (IgG)

A presença de anti-CHIKV (IgG) foi investigada com kits ELISA comerciais (EUROIMMUN®, da Perkin Elmer Company), seguindo rigorosamente as recomendações do fabricante.

Análise estatística

A associação entre variáveis categóricas foi realizada por meio dos testes *qui-quadrado* e exato de *Fisher*. As comparações de distribuição entre duas variáveis contínuas foram realizadas pelo método não paramétrico de *Mann Whitney* e para mais de duas amostras de variáveis contínuas foi aplicado o método de *Kruskal Wallis*. Todos os resultados com valor de $p < 0,05$ foram indicativos de significância estatística e intervalos de confiança de 95%. Para essas análises, foram utilizados os programas estatísticos Epi info versão 7 e GraphPadPrism versão 9.

Considerações éticas

O projeto foi submetido e aprovado pelo Comitê de Ética e Pesquisa da Universidade Federal de Pernambuco (CEP/UFPE) com CAAE nº 17712619.5.0000.5208.

RESULTADO/DISCUSSÃO

O estudo incluiu 160 pacientes (40 do grupo CHIKF, 30 do grupo AR+CHIKF e 40 do grupo AR) com idade média de 54 anos para os três grupos de estudo (CHIKF: 54,9 $\pm$ 11,6; AR + CHIKF: 54,7 $\pm$ 9,7; AR: 54,5 $\pm$ 13,7), sendo a maioria do sexo feminino, etnia parda, com ensino fundamental, residente na zona urbana. Entretanto, após a realização dos testes estatísticos, as variáveis sexo, escolaridade, área habitada, dor nos pés e tornozelos, rigidez após repouso matinal, duração da rigidez matinal, uso de prednisona, uso de leflunomida e uso de metotrexato não se mostraram estatisticamente associados para nenhum dos três grupos.

A Tabela 1 apresenta as características sociodemográficas, comportamentais e clínicas dos pacientes nos três grupos estudados: CHIKF, AR+CHIKF e AR.

Tabela 1. Características sócio-demográficas, comportamentais e clínicas dos pacientes dos três grupos: CHIKF, AR+CHIKF e AR acompanhados no Ambulatório de Reumatologia do Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Pernambuco no período de 2019 a 2020.

Características	Grupo CHIKVF (n=90)	Grupo AR+CHIKF (n=30)	Grupo AR (n=40)	*Valor de p
Média de Idade (anos)	54.9 ± 11.6	54.7 ± 9.7	54.5 ± 13.7	0.0909 ⁺
Sexo				
Masculino	8 (8.79%)	4 (13.33%)	4 (10.0%)	0.6201
Feminino	82 (91.21%)	26 (86.27%)	36 (90.0%)	
Raça				
Branca	35 (38.46%)	11 (36.67%)	9 (22.5%)	< 0.00011 [#]
Parda	42 (47.25%)	1 (3.33%)	4 (10%)	
Negra	13 (14.29%)	18 (60.0%)	27 (67.5%)	
Grau de Instrução				
Fundamental	40 (43.96%)	14 (46.67%)	17 (42.5%)	0.1902
Ensino Médio	47 (52.75%)	14 (46.67%)	17 (42.5%)	
Ensino Superior	3 (3.30%)	2 (6.67%)	6 (15%)	
Zona habitada				
Urbana	83 (92.31%)	28 (93.33%)	38 (95%)	0.8530
Rural	7 (7.69%)	2 (6.67%)	2 (5%)	
Afastamento de atividades				
Laboral (trabalho)	68 (75.82%)	13 (43.33%)	1 (2.5%)	< 0.0001
Doméstica	20 (21.98%)	12 (40.0%)	1 (2.5%)	
Não teve a rotina afetada	2 (2.20%)	5 (16.67%)	38 (95%)	
teve alguma arboviroses				
Dengue	38 (42.86%)	12 (40%)	31 (77.5%)	0.0012
Zika	6 (6.59%)	0 (0%)	1 (2.5%)	
Nenhuma	46 (50.55%)	18 (60%)	8 (20%)	
Teve artralgia				
Sim	50 (56.04%)	22 (73.33%)	37 (92.5%)	0.0001
Não	40 (43.96%)	8 (26.37%)	3 (7.5%)	
Teve dor no Pescoço				
Sim	3 (3.30%)	30 (100%)	10 (25%)	< 0.0001
Não	87 (96.7%)	0 (0%)	30 (75%)	
Teve dor nos ombros				
Sim	12 (13.19%)	5 (16.67%)	23 (57.5%)	< 0.0001
Não	78 (86.81%)	25 (83.33%)	17 (42.50%)	
Teve dor nos cotovelos				
Sim	5 (5.49%)	30 (100%)	11 (27.5%)	< 0.0001
Não	85 (94.51%)	0 (0%)	29 (72.5%)	
Teve dor nas regiões dos pulsos e dedos				
Sim	87 (96.7%)	27 (90%)	26 (65%)	< 0.0001

Não	3 (3.30%)	3 (10%)	14 (35%)	
Teve dor nos quadris				< 0.0001
Sim	4 (4.4%)	5 (16.67%)	18 (45%)	
Não	86 (95.6%)	25 (83.33%)	22 (55%)	
Teve dor nos joelhos				0.0349
Sim	38 (41.76%)	8 (26.67%)	23 (57.5%)	
Não	52 (58.24%)	22 (73.33%)	17 (42.5%)	
Dor nos pés e Tornozelos				0.2324
Sim	58 (63.74%)	24 (80%)	25 (62.5%)	
Não	32 (36.26%)	6 (20%)	15 (37.5%)	
Intensidade das dores*				< 0.0001
Leve	30 (32.97%)	13 (43.33%)	1 (2.5%)	
Moderada	43 (48.35%)	13 (43.33%)	37 (92.5%)	
Forte	17 (18.68%)	4 (13.33%)	2 (5%)	
Rigidez pós repouso matinal				0.1876
Sim	58 (64.84%)	17 (56.67%)	19 (47.5%)	
Não	32 (35.16%)	13 (43.33%)	21 (52.5%)	
Duração da Rigidez				0.1529
< 30 minutos	30 (33.3%)	4 (13.33%)	7 (17.5%)	
30 a 60 minutos	7 (7.78%)	3 (10.0%)	1 (2.5%)	
60 minutos	21 (24.44%)	10 (33.33%)	11 (27.5%)	
Não apresenta	32 (35.16%)	13 (43.33%)	21 (52.5%)	
Faz uso de Predinisona				0.0645
Sim	25 (27.47%)	8 (26.67%)	19 (47.5%)	
Não	65 (72.53%)	22 (73.33%)	21 (52.5%)	
Faz uso de metotrexato				0.0753
Sim	37 (40.66%)	8 (26.67%)	21 (53.85%)	
Não	53 (59.34%)	22 (73.33%)	18 (46.15%)	
Faz uso de leflunomida				0.6188
Sim	36 (40%)	9 (30.0%)	15 (37.5%)	
Não	54 (60%)	21 (70.0%)	25 (62.5%)	
Faz uso de hidroxicloroquina				0.6774
Sim	11 (12.09%)	4 (13.33%)	3 (7.5%)	
Não	79 (87.81%)	26 (86.67%)	37 (92.5%)	

*Valor de P;#Teste chi Chi-square; *teste Kruskal wallis.** Grupo CHIKV: Paciente com CHIKF na fase crônica sem artrite reumatoide com alterações reumatológicas provenientes da infecção pelo CHIKF.

*** Grupo AR+CHIKF: Pacientes com artrite reumatoide autoimune que desenvolveram a CHIKF. ****

Grupo AR: Pacientes com Artrite autoimune que não tiveram CHIKF.

No mundo, a soro prevalência do anti-CHIKV (IgG) varia de acordo com a área geográfica devido a vários fatores, como a força da epidemia e as variações sazonais do clima que diferem por região (SERGON et al., 2008; AYU et al., 2010; GROSSI-SOYSTER et al; 2017). Nós encontramos em nosso estudo, uma

soroprevalência do anti-CHIKF (IgG) de 18,75% (30/160) em pacientes com AR pré-existente (grupo AR+CHIKF). Não há estudos direcionados a essa população, mas em indivíduos com CHIKF, encontramos uma prevalência de 56,25% (90/160) se aproximando aos achados de Braga et al. (2021) de 70,7% no Ceará, e de 57% na Bahia por Dias et al. (2018). Essas prevalências podem ser explicadas pelas situações de cada região onde ocorrem, como saúde precária, baixo nível educacional e diferenças sazonais no clima (ANJOS et al., 2020).

Em nossa pesquisa, não encontramos associação entre o fator sexo em nenhum dos grupos analisados, no entanto, identificamos uma frequência de soroprevalência de anti-CHIKV (IgG) no sexo feminino de 75% (120/160). aproximando-se dos achados de Kolher et al. (2018) que também encontraram maior soroprevalência de anti-CHIKV (IgG) no sexo feminino de 83,9% no Rio de Janeiro. Esses achados podem ser explicados pelo fato de as mulheres passarem mais tempo em casa ou em locais de circulação predominante de mosquitos (VASCONCELOS et. al., 1993; BRAGA et al., 2021). Além disso, as mulheres são duas vezes mais propensas a adquirir AR em comparação com os homens. portanto, se houver infecção por CHIKF em mulheres com AR. pode haver uma exacerbação da infecção por CHIKV devido a semelhanças entre CHIKF e AR (BURT et al., 2014).

Em relação à idade, encontramos uma média de 54 anos, corroborando os dados de Braga et al. (2021) e Kohler et al. (2018) que variou de 31 a 60 anos e de 50 a 69 anos, respectivamente. Embora não tenha sido estatisticamente significativa em nossos grupos estudados, vale ressaltar que indivíduos com mais de 50 anos podem ter imunidade mais fraca e maior possibilidade de adquirir doenças do que a população mais jovem, além de ser um fator de agravamento relatados para indivíduos com CHIKF ou AR (AMARAL, BILSRROW, SCHOEN, 2020).

A etnia parda foi estatisticamente significativa com valor de $p < 0,00011$, estando associada ao grupo CHIKV. Nossos dados corroboram com os de Cavalcanti et al. (2019), Anjos et al., (2020) e Braga et al., (2021) que realizaram estudo com CHIKF e detectaram maior frequência em indivíduos que se autodeclararam de etnia parda. Também esse achado pode ser explicado pelo fato de a maioria da população brasileira se autodeclarar parda, segundo o IBGE (2019).

Em vista disso, como CHIKF pode ser detectado em diferentes regiões e, conseqüentemente em pessoas de diferentes etnias, ressaltamos assim ainda mais nosso achado.

Em relação ao grau de instrução, não encontramos associação com nenhum dos três grupos estudados. No entanto, a maioria dos indivíduos possuía ensino fundamental, corroborando com os estudos de Ayu et al. (2010) e Braga et al. (2021) que também relataram em seus estudos a presença de indivíduos com o mesmo nível de escolaridade. No entanto, segundo Higuera-Mediet et al., (2016) e Whitemant al., (2018), ter baixos níveis de estudo tornam os indivíduos mais suscetíveis a adquirir a infecção pelo CHIKV, uma vez que podem apresentar limitações para compreender e agir com base nas informações sobre as medidas preventivas da CHIKF. Além de residir em locais com acúmulo de água e vulnerabilidade socioeconômica associada ao aumento da incidência da CHIKF, conforme relatado nos estudos de Kuan et al. (2016). Grossi-Soyster et al., (2017) e Braga et al., (2021).

Quanto às variáveis comportamentais, o afastamento do trabalho foi estatisticamente significativo ($p < 0,0001$) nos indivíduos pertencentes ao grupo CHIKV, o que pode ser explicado pelo fato de que após a infecção pelo CHIKV, haver um acometimento articular, promovendo um impacto significativo na qualidade de vida do indivíduo, levando à incapacidade física e laboral (SOUMAHORO et al., 2009). Por outro lado, estudos relataram que donas de casa (AYU et al., 2010) e pessoas desempregadas (SISSKO et al., 2008) têm maior positividade para o anti-CHIKV (IgG), o que pode ser explicado pelo fato desses indivíduos passarem mais tempo em ambientes fechados ou em ambientes com alta exposição a vetores de arbovírus (MARTINS et al., 2010).

A variável arboviroses (dengue) foi estatisticamente significativa ($p < 0,0012$) no grupo CHIKF, corroborando com o estudo de Anjos et al. (2020) que encontraram uma prevalência de 41,14% (83/209) de anti-CHIKV (IgG) em indivíduos que relataram já ter tido infecção por outro arbovírus. Esses achados podem estar relacionados aos níveis de infestação, diversidade das espécies *Aedes spp.*, condições geográficas e climáticas locais, cepa do CHIKV circulante na região e pela

interação do vetor quando coinfetado com outras arboviroses como dengue e Zika (MARTINS et al., 2010; HIGUERA-MEDIETA et al., 2016; ANJOS et al., 2020).

A variável intensidade da dor foi estatisticamente significativano grupo AR+CHIKV, nos pacientes que apresentavam dor moderada ($p < 0,0001$). De acordo com o Ministério da Saúde do Brasil, a dor na CHIKF é considerada o quinto sinal vital havendo a necessidade de registrar a intensidade da dor, seja a nível ambulatorial ou hospitalar (BRASIL. 2017). Portanto, podemos ressaltar que o fato dos pacientes que tinham AR pré-existente e se infectaram pelo CHIKV, pode contribuir com um aumento na intensidade da dor nas articulações, além disso, Burt et al. (2014) relataram em seu estudo que a infecção por CHIKV em pacientes com artrite pré-existente pode exacerbar a doença.

Relacionado aos fatores clínicos em nosso estudo, encontramos associação entre a persistência e a gravidade da dor articular com a positividade do anti-CHIKF (IgG) em indivíduos com AR pré-existente, onde os pacientes do grupo AR+CHIKV apresentaram associação significativa com a persistência da dor no pescoço, ombros, cotovelos, região dos pulsos e dedos, quadris ($p < 0,0001$) e joelhos ($p: < 0,0349$), em comparação com pacientes do grupo AR. Essa associação pode ser explicada pelo fato de que, na fase crônica da CHIKF, a artralgia grave persiste por mais de duas semanas ou meses após a infecção inicial, comprometendo a qualidade de vida dos pacientes acometidos (HONÓRIO et al., 2015; CASTRO et al., 2016; GOUPIL. MORES. 2016). Vale ressaltar que existem várias causas de artralgia crônica. como: predisposição genética, persistência viral, dano tecidual articular causado pelo CHIKV, indução de doença autoimune, ação de fatores imunopatogênicos como citocinas e quimiocinas(BURT et al., 2014; GOUPIL, MORE, 2016; MCCARTHY, MORISSON, 2016; AMARAL, BILSRROW, SCHOEN, 2020). Embora existam apenas sugestões de ações imunológicas como fatores de agravamento relacionados à gravidade da CHIKF em pacientes com AR pré-existente.

Em nossa análise laboratorial (Tabela 2), o grupo AR+CHIKF apresentou associação significativa entre a positividade para anti-CHIKV (IgG) e as contagens de RDW ($p: < 0,0001$), monócitos ($p: 0,0286$), basófilos ($p: 0,0104$), linfócitos ($p: 0,0351$) e fator reumatoide ($p: < 0,0001$), o que pode ser explicado pelo fato de a AR

ser uma doença articular grave e com aquisição da CHIKF, haver um aumento na gravidade da dor e do inchaço, por ações de citocinas e quimiocinas, além do aparecimento de fator reumatoide por destruição articular, favorecendo assim o recrutamento de leucócitos no local da inflamação e aumento do RDW (RODRIGUEZ-CARRIO et al., 2015; YUNCHUN et al., 2016; HE et al., 2018).

Tabela 2. Mediana dos dados laboratoriais dos indivíduos pertencentes aos Grupos: CHIKF, AR+CHIKF e AR acompanhados no ambulatório de Reumatologia do Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Pernambuco no período de 2019 a 2020.

Variável	*Grupo CHIKF (n=90)	**Grupo AR+CHIKF (n=30)	***Grupo AR (n=40)	****P value
Mediana Proteína C Reativa (PCR)	0,1 (0 - 2,66)	0,09 (0 - 4)	0,1 (0 - 4)	0,4900
Fator Reumatóide	0,1 (0 - 39,7)	23,5 (0 - 721)	41,5 (0 - 307,8)	<0.0001
Hemácias	4,56 (3,05 - 5,96)	4,58 (3,72-5,05)	4,46 (3,44 - 5,96)	0,3296
Hemoglobina	13,5 (4,53 - 16,6)	13,45 (9,06 - 15,8)	13,2 (9,9 - 15,6)	0,2683
Hematócrito	40,7 (13,9 -48,2)	40,5 (31,6 - 48)	40,4 (30,7 - 48,6)	0,9415
VCM	88,30 (39,2 - 100)	89,05 (65,2 - 96,7)	91,25 (70,4 - 107,5)	0,5181
HCM	30,1 (22,6 - 91,3)	29,75 (18,2 - 32,9)	30,3 (22,9 - 35,7)	0,4658
CHCM	33,5 (10,7 - 36,2)	32,96 (28,7 - 35,1)	33 (31,3 - 35,1)	0,0577
RDW	12,3 (10,7 - 33,7)	13 (11 - 16,4)	13,2 (11,4 - 23,9)	< 0.0001
Leucócitos	6,81 (3,12 - 13)	7,37 (2,52 - 13,9)	6,14 (3,12 - 63,4)	0,2743
Neutrófilos	52,40 (6,78 - 90)	54,25 (35,10 - 84,20)	52,40 (3,23 - 77,7)	0,1525
Eosinófilos	2,12 (0,01 - 56,5)	2,63 (0,07 - 9,73)	2,2 (0,1 - 11,5)	0,9821
Basófilos	0,99 (0 - 29,2)	0,83 (0,1 - 2,05)	0,54 (0 - 2,05)	0,0104
Linfócitos	32,10 (1,09 - 53,70)	29,5 (11,9 - 53,70)	30,3 (10,2 - 46,9)	0,0351
Monócitos	7,98 (1 - 16,4)	7,95 (4,33 - 17,1)	9,19 (4,11 - 13,9)	0,0286
Plaquetas	221000 (133000-377000)	238000(108000-466000)	242000(115000-508000)	0,0660

*Grupo CHIKV: Paciente com CHIKF na fase crônica sem artrite reumatoide com alterações reumatológicas provenientes da infecção pelo CHIKV. ** Grupo AR+CHIKF: Pacientes com artrite reumatoide autoimune que desenvolveram a CHIKF. *** Grupo AR: Pacientes com Artrite autoimune que não tiveram CHIKF. ****valor de p.

Outro fato que pode ser explicado pela associação encontrada com o índice do RDW, é que a inflamação articular ocasiona interferência na eritropoiese, mediada pelas citocinas inflamatórias, onde a IL-6, que é uma citocina envolvida no processo inflamatório articular tanto na CHIKF quanto na AR, é positivamente relacionada ao RDW, pois quanto maior a concentração plasmática, maior a inflamação e consequentemente maior impacto na eritropoiese (HORTA-BAAS, ROMERO-FIGUEROA, 2019).

Em nosso estudo, não encontramos significância estatística em nenhum dos grupos analisados com a PCR, corroborando com os dados descritos por Genaro et al. (2020) que avaliaram 106 pacientes na fase crônica da CHIKF e não encontraram significância estatística em relação a Proteína CReativa (PCR). No entanto, vale ressaltar que aPCR na fase aguda daCHIKF foi descrita no estudo de Anfasaet al (2017) com níveis elevados a durante a epidemia ocorrida entre 2014 e 2015 em Curaçao,na Islândia. Ainda, Genaro et al., (2020) relataram que o aumento da PCR durante a fase aguda, predispõe o paciente a cronicidade por ser um marcador de inflamação.

Na fase aguda da CHIKF, através do hemograma. podem ser observadas alterações nos leucócitos no sangue dos pacientes acometidos (ROQUES et al., 2018). No entanto, nosso estudo realizado na fase crônica encontrou significância com os níveis de linfócitos ($p=0,0351$). basófilos ($p=0,0104$) e monócitos ($p=0,0286$), o que pode ser explicado pelo fato de haver inflamação articular nos tecidos dos pacientes de todos os grupos estudados.

CONCLUSÃO

Como conclusão, vimos que os fatores clínicos por meio da exarcebação da dor articular, e laboratoriais através do aumento do fator reumatoide e dos glóbulos brancos, foram associados à positividade para anti-CHIKV (IgG) em pacientes com artrite reumatoide autoimune preexistente, sugerindo ainda que estes pacientes são mais susceptíveis ao agravamento das alterações reumatológicas, comparados aos pacientes apenas com CHIKF e AR. Sugerimos a realização de mais estudos para

contribuição do conhecimento dos fatores de agravamento da CHIKF em pacientes com AR pré-existente.

6 CONCLUSÕES DA TESE

Relacionado aos dados epidemiológicos, concluímos que o fator sociodemográfico etnia parda e os fatores comportamentais afastamento do trabalho e ter tido a dengue antes da infecção pelo CHIKF, mostraram-se associados a predisposição da infecção pelo CHIKV apenas em indivíduos com a CHIKF. Além disso, os fatores clínicos (por meio da exarcebação da dor articular) e laboratoriais (por meio do aumento dos níveis do fator reumatóide e glóbulos brancos, foram associados a positividade do anti-CHIKF (IgG) em pacientes com artrite reumatóide pré-existente em relação aos pacientes apenas com CHIKF e AR. Ainda, concluímos que pacientes com positividade para o anti-CHIKV (IgG) com artrite pré-existente possuem maior susceptibilidade ao agravamento das alterações reumatológicas, comparados apenas aos pacientes com CHIKF e AR.

Em relação aos achados imunológicos, concluímos que os níveis de IL-1 β , IL-6, IL-10 e IL-17A foram significativamente maiores no grupo de pacientes com artrite pré-existente com positividade para o anti-CHIKV (IgG) em relação aos que possuíam apenas CHIKF e AR. Os níveis de CXCL8 foram maiores no grupo de pacientes apenas com CHIKF do que no grupo apenas com AR. CXCL9 foram maiores no grupo apenas com CHIKF em relação aos pacientes com positividade para o anti-CHIKV (IgG) com AR. Os níveis de CXCL10 foram maiores do que os outros grupos de pacientes. Os níveis do fator reumatóide foram maiores em pacientes apenas com artrite do que no grupo apenas com a CHIKF, e no grupo com positividade para o anti-CHIKV (IgG) com AR em relação ao grupo apenas com CHIKF. Não foi observada diferença significativa nos níveis de CCL2 e PCR.

7 CONSIDERAÇÕES FINAIS DA TESE

Considerando que a CHIKF é uma doença que afeta a qualidade de vida dos pacientes acometidos, interferindo na rotina de trabalho e na realização dos afazeres domésticos, se faz necessário reforçar as informações básicas quanto a sua prevenção, uma vez que nossa pesquisa mostrou diversos fatores associados ao agravamento da doença em indivíduos, que possuíam artrite reumatóide e tiveram positividade para o anti-CHIKV (IgG). No entanto, há necessidade de mais estudos relacionados ao sinergismo entre a CHIKF e a artrite reumatóide, além de dos fatores de agravamento relacionados a infecção pelo CHIKV na AR.

REFERÊNCIAS

Anjos RO, Mugabe VA, Moreira PSS, Carvalho CX, Portilho MM, Khouri R, Sacramento GA, Nery NRR JR, Reis MG, Kitron UD, Ko AI, Costa F, Ribeiro GS (2020) Transmission of Chikungunya Virus in an Urban Slum, Brazil. **Emerg Infect Dis.** Jul;26(7):1364-1373. doi: 10.3201/eid2607.190846. PMID: 32568045; PMCID: PMC7323528.

Anfasa F, Provacia L, Geurtsvankessel C, Wever R, Gerstenbluth I, Osterhaus AD, Martina BE (2017) Hiperferritinemia is a potential marker of chronic chikungunya: a retrospective study on the Island of Curaçao during the 2014–2015 outbreak. **J Clin Virol** 86: 31–38.

Amaral JK; Bilsborrow JB, Schoen RT (2020) Chronic chikungunya arthritis and rheumatoid arthritis: what they have in common. **J Med.** March; 133(3): e91–e97. doi: 10.1016/j.amjmed.2019.10.005.

Ayu, SM, LAI LR, CHAN YF, HATIM A, HAIRI NN, AYOB A, SAM IC (2010) Seroprevalence survey of chikungunya virus in Bagan Panchor, Malaysia. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, 83(6), 1245-1248. <https://doi.org/10.4269/ajtmh.2010.10-0279>

Abere B, Wikan N, Ubol S, et al. (2012) Proteomic analysis of chikungunya virus infected microglial cells. **PLoS One**;7:e34800.

Abraham R, Mudaliar P, Padmanabhan A, et al. (2013) Induction of cytopathogenicity in human glioblastoma cells by chikungunya virus. **PLoS One**;8:e75854.

Appassakij H, Khuntikij P, Kemapunmanus M, et al (2013) Viremic profiles in asymptomatic and symptomatic chikungunya fever: a blood transfusion threat? **Transfusion**;53:2567–74.

Banerjee N, Mukhopadhyay S. Oxidative damage markers and inflammatory cytokines are altered in patients suffering with post-chikungunya persisting polyarthralgia. **Free Radic Res**. 2018;52:887–895.

Baggiolini M, Clark-lewisl (1992) Interleukin-8, a chemotactic and inflammatory cytokine. **FEBS Lett**. Jul 27;307(1):97-101. DOI:10.1016/0014- 5793(92)80909-z.

Bandeira AC, Campos GS, Rocha VF, et al. (2016) Prolonged shedding of Chikungunya virus in semen and urine: a new perspective for diagnosis and implications for transmission. **ID Cases**;6:100–3.

Brouard C, Bernillon P, Quatresous I, et al. Estimated risk of Chikungunya viremic blood donation during an epidemic on Reunion Island in the Indian Ocean, 2005 to 2007. **Transfusion**2008;48:1333–41.

Braga DAO, Barreto FKA, Paiva CN, Ramalho ILC, Cavalcanti LPG, Alencar CH (2021) Seroepidemiological survey on chikungunya in endemic zones for arboviruses in Brazil, 2019. *Zoonoses Public Health*. Dec;68(8):955-964. doi: 10.1111/zph.12888. **Epub** Sep 1. PMID: 34472209.

Brasil, Ministério da Saúde, **Departamento de Vigilância das Doenças Transmissíveis. Chikungunya: manejo clínico** – Brasília: 2017. 65 p.: il. Acesso em: ISBN 978-85-334-2494-4.

Brasil, Ministério da Saúde, **Departamento de Vigilância das Doenças Transmissíveis. Chikungunya: manejo clínico** – Brasília: 2018.

Bordi L, Carletti F, Lalle E, et al. (2018) Molecular characterization of autochthonous Chikungunya cluster in Latium region, Italy. **Emerg Infect Dis** 24(1). <https://doi.org/10.3201/eid2401.171605>.

Bouquillard E, Combe B (2009) Rheumatoid arthritis after Chikungunya fever: a prospective follow-up study of 21 cases. **Ann Rheum Dis** 68:1505-6. [https://doi: 10.1136/ard.2008.097626](https://doi.org/10.1136/ard.2008.097626).

Borgherini G, Poubeau P, Paganin F (2009) Chikungunya epidemic in Réunion Island. **Epidemiol Infect** Apr;137(4):542-3; author reply 543. doi: 10.1017/S0950268809002209. PMID: 19239727.

Burt F, Chen W, Mahalingam S (2014) Chikungunya virus and arthritic disease. **LANCET INFECT DIS** 9:789-90. [https://doi: 10.1016/S1473-3099\(14\)70869-2](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(14)70869-2).

Caglioti, C. et al. (2013) Chikungunya virus infection: an overview. *New microbiologica*. v. 36, p. 211-227,

Chaaithanya IK. et al. (2011) Role of proinflammatory cytokines and chemokines in chronic arthropathy in chikv infection. **Viral immunology**. . v. 24, n. 4, p. 265–271.

Chang AY, Martins KAO, Encinales L, (2018) Chikungunya Arthritis Mechanisms in the Americas: A Cross-Sectional Analysis of Chikungunya Arthritis Patients Twenty-Two Months After Infection Demonstrating No Detectable Viral Persistence in Synovial Fluid. **Arthritis Rheumatol**. Apr;70(4):585-593. DOI: 10.1002/art.40383.

Chirathaworn C, Chansaenroj J, Poovorawan Y (2020) Cytokines and Chemokines in Chikungunya Virus Infection: Protection or Induction of Pathology. **Pathogens** May 27;9(6):415. DOI: 10.3390/pathogens9060415.

Charrel RN, DeLamballerie X, Raoult D (2007) Chikungunya Outbreaks the Globalization of Vectorborne Diseases. **New England Journal of Medicine**, v. 356, n. 8, p. 769–771.

Crosby L, Perreau C, Madeux B, et al. (2016) Severe manifestations of chikungunya virus in critically ill patients during the 2013-2014 Caribbean outbreak. **Int J Infect Dis**;48:78–80.

Couderc T, Gangneux N, Chre´tien F, et al. (2012) Chikungunya virus infection of corneal grafts. **J Infect Dis**;206:851–9.

Couderc T, Chre´tien F, Schilte C, et al. (2008) A mouse model for Chikungunya: young age and inefficient type-I interferon signaling are risk factors for severe disease. **PLoSPathog**;4:e29.

Contopoulos-Ioannidis D, Newman-Lindsay S, Chow C, et al. (2018) Mother-to-child transmission of Chikungunya virus: a systematic review and meta-analysis. **PLoS Negl Trop Dis**;12:e0006510.

Chen W, Foo SS, Sims NA, Herrero LJ, Walsh NC, Mahalingam S. (2015) Arthritogenic alphaviruses: new insights into arthritis and bone pathology. **Trends Microbiol.** Jan;23(1):35-43. doi: 10.1016/j.tim.2014.09.005. Epub 2014 Oct 30. PMID: 25449049.

ChowA, Her Z; OngekS,Chen J-M, DimatatacF, KwekDJC, Barkham T, YangH, Renia L, Leo Y-S, Ng LFP (2011) Persistent Arthralgia Induced by Chikungunya Virus Infection is Associated with Interleukin-6 and Granulocyte Macrophage Colony Stimulating Factor. Chikungunya Pathology and Cytokines.**JID** 203 (15 January),149.

Ciesielski CJ, AndreakosE, Foxwell BM, Feldmannm (2002) TNF α induced macrophage chemokine secretion is more dependent on NF- κ B expression than lipopolysaccharides-induced macrophage chemokine secretion. **Eur J Immunol**;32:2037-2045. DOI: 10.1002/1521-4141(200207)32:7.

Crawford MA, Burdick MD, Glomski IJ, Boyer AE, et al. (2010) Interferon-inducible CXC chemokines directly contribute to host defense against inhalational anthrax in a

murine model of infection. **PLoS Pathog.** Nov 18;6(11):e1001199. DOI: 10.1371/journal.ppat.1001199.

Camp R, Bacon K, Fincham N, Mistry K, et al. (1991) Chemotactic cytokines in inflammatory skin disease. **AdvExp Med Biol.**305:109-18. Review.

Chopra A, Venugopalan A. (2011) Persistent rheumatic musculoskeletal pain and disorders at oneyear post-Chikungunya epidemic in south Maharashtra: a rural community based observational study with special focus on naive persistent rheumatic musculoskeletal cases and selected cytokine expression. **Indian J Rheumatol.**;6(Suppl):5–11.

Chopra A, Anuradha V, Ghorpade R, Saluja M. (2012) Acute Chikungunya and persistent musculoskeletal pain following the 2006 Indian epidemic: a 2-year prospective rural community study. **EpidemiolInfect.** 140:842–850.

Crosby L, Perreau C, Madeux B, Cossic J, Armand C, Herrmann-Storke C, Najioullah F, Valentino R, Thiéry G (2016) Severemanifestationsofchikungunyavirus in criticallyillpatientsduringthe 2013-2014 Caribbeanoutbreak. **Int J InfectDis** 48:78-80. [https://doi: 10.1016/j.ijid.2016.05.010](https://doi.org/10.1016/j.ijid.2016.05.010).

Calabrese LH. Emerging viral infectionsandarthrititis: the role oftherheumatologist (2008) **Nat Clin PractRheumatol** 4:2-3. [https://doi: 10.1038/ncprheum0679](https://doi.org/10.1038/ncprheum0679).

Calba C, Guerbois-Galla M, Franke F, et al (2017) Preliminary report of an autochthonous chikungunya outbreak in France, July to September 2017. **Euro Surveill**22(39). <https://doi.org/10.2807/1560-7917.ES.2017.22.39.17-00647>.

Castro APCR, Lima RA, Nascimento JS (2016) Chikungunya: vision ofthepainclinician. **Revista Dor.** 2016.São Paulo. 17 (4): 299-302.

Cavalcanti NG, Melovilar K, Duarte ALBP, De Melo Rego MJB, Pereira MC, Da Rocha Pitta I, et al. (2019) IL-27 in patients with Chikungunya fever: a possible chronicity biomarker? *Acta Trop* 196:48–51. doi: 10.1016/j.acta tropica.2019.05.005.

Schilte, C, et al. (2010) Type I IFN controls chikungunya virus via its action on nonhematopoietic cells. **J. Exp. Med.** v.207, p. 429–442.

De Filippo K, Dudeck A, Hasenberg M, Nye E (2013) Mast cell and macrophage chemokines CXCL1/CXCL2 control the early stage of neutrophil recruitment during tissue inflammation. **Blood. Jun** 13;121(24):4930-7. DOI: 10.1182/blood-2013-02-486217.

Dagley A, Ennis J, Turner JD, Rood KA, Van Wettere AJ, Gowen BB, Julander JG (2014) Protection against Chikungunya virus induced arthralgia following prophylactic treatment with adenovirus vectored interferon (mDEF201). **Antiviral Research.** v. 108, n. 1, p. 1–9,. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.antiviral.2014.05.004>>.

Dalla Gasperina D, Balsamo ML, Garavaglia SD, et al (2015) Chikungunya infection in a human immunodeficiency virus-infected kidney transplant recipient returning to Italy from the Dominican Republic. **Transpl Infect Dis**;17:876–9.

Dhanwani R, Khan M, Bhaskar AS, et al. (2012) Characterization of Chikungunya virus infection in human neuroblastoma SH-SY5Y cells: role of apoptosis in neuronal cell death. **Virus Res** 163:563–72.

Da Silva HDA. ANÁLISE DE POLIMORFISMOS NOS GENES DAS CITOCINAS ENVOLVIDAS NO DESENVOLVIMENTO DA ARTRITE REUMATÓIDE. TESE (Doutorado em Genética) - Programa de pós-graduação em Genética, Centro de Biociências, Universidade Federal de Pernambuco. Recife, 2016.

Dias JP, Costa MCN, Campos GS, Paixao ES, Natividade MS, Barreto FR, et al (2018) Seroprevalence of chikungunya virus after its emergence in Brazil. **Emerg Infect Dis.**; 24:617–24. <https://doi.org/10.3201/eid2404.171370>.

Delisle E, Rousseau C, Broche B, et al. (2015) Chikungunya outbreak in Montpellier, France, September to October 2014. **Euro Surveill**;20. <https://doi.org/10.2807/1560-7917.es2015.20.17.21108>.

De Andrade DC, Jean S, Clavelou P, Dallel R, Bouhassira, D. (2010) Chronic pain associated with the Chikungunya Fever: long lasting burden of an acute illness. **BMC infectious diseases**. v. 10, p. 31. Disponível em: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=2833164&tool=mcentrez&rendertype=abstract>;

Dobler G, Burchard GD, Loscher T (2007) Chikungunya Fever in Travelers: Clinical Presentation and Course. **Clinical Infectious Diseases**. 2007. v. 45, n. 1, p. e1–e4. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17554689> <https://academic.oup.com/cid/article-lookup/doi/10.1086/518701> >.

Dhar SK, K V, Damodar S, Gujar S, Das M (2021) IL-6 and IL-10 as predictors of disease severity in COVID-19 patients: results from meta-analysis and regression. **Heliyon** 7:06155. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2021.e06155>.

Dissanayake K, Jayasinghe C, Wanigasekara P, Sominanda A (2021) Potential applicability of cytokines as biomarkers of disease activity in rheumatoid arthritis: Enzyme-linked immunosorbent spot assay-based evaluation of TNF- α , IL-1 β , IL-10 and IL-17A. **PLoS One**. Jan 26;16(1):e0246111. doi: 10.1371/journal.pone.0246111. PMID: 33497394; PMCID: PMC7837465.

Deeba F; ISLAM A; KAZIM SN; NAQVI IH; BROOR S; AHMED A; PARVEEN S (2016) Chikungunya virus: recent advances in epidemiology, host pathogen interaction and vaccine strategies. **Pathogens and disease**. v. 74, n. 3, p. 1–10.

Eastgate JA, Symons JA, Wood NC, Grinlinton FM, DI Giovine FS, Duff GW (1988) Correlation of plasma interleukin 1 levels with disease activity in rheumatoid arthritis. **Lancet**. Sep 24;2(8613):706-9. doi: 10.1016/s0140-6736(88)90185-7. PMID: 2901567.

Eklund KK, Leirisalo-Repo M, Ranta P, Maki T, Kautiainen H, Hannonen P, Korpela M, Hakala M, Jarvinen P, Mottonen T (2007) Serum IL-1beta levels are associated with the presence of erosions in recent onset rheumatoid arthritis. **Clin Exp Rheumatol**. 2007;25:684–689.

Eisenhutn, Schwarz TF, Hegenscheid B (1999) Seroprevalence of dengue, chikungunya and Sindbis virus infections in German aid workers. **Infection**; 27: 82–85.

Economopoulou A, Dominguez M, Helynck B, et al (2009) Atypical Chikungunya virusinfections: clinical manifestations, mortality and risk factors for severe diseaseduring the 2005-2006 outbreak on Re´union. **Epidemiol Infect**137:534.

Ferreira AS, Baldoni NR, Cardoso CS, Oliveira CDL (2021)Biomarkers of severity and chronification in chikungunya fever: a systematic review and meta-analysis. **RevInst Med TropSao Paulo**. Mar 1;63:e16. doi: 10.1590/S1678-9946202163016. PMID: 33656139; PMCID: PMC7924982.

Ferreira FCPADM, Da Silva ASV, Recht J, Guaraldo L, Moreira MEL, De Siqueira AM, Gerardin P, Brasil P (2021) Vertical transmissionofchikungunyavirus: A systematic review. **PLoS One**. 2021 Apr 23;16(4):e0249166. doi: 10.1371/journal.pone.0249166. Erratum in: **PLoS One**. Aug 3;17(8):e0272761. PMID: 33891622; PMCID: PMC8064608.

Felicity JB, WEIQIANG C, JONATHAN JM, DEBORAH JL, ANDRES M, ESTHER S, ALAIN K, PENNY AR, ADAM T, LARA JH, ALI Z, LISA FPN, Sureshmahalingam

(2017) Chikungunya virus: an update on the biology and pathogenesis of this emerging pathogen. **Lancet Infect Dis** THELANCETID-D-16-00066R2S1473-3099(16)30385-1.

Filipe AF, Pinto MR (1973) Arbovirus studies in Luanda, Angola. 2. Virological and serological studies during an outbreak of dengue-like disease caused by the Chikungunya virus. **Bull World Health Organ** 49: 37–40.

Fourie ED, Morrison JG (1979) Rheumatoid arthritis syndrome after chikungunya fever. **S Afr Med J** 56(4):130-2.

Focus, E. **WHO: Weekly epidemiological record Relevé épidémiologique hebdomadaire**. 2008.v. 21, n. 83, p. 421–428.

Genaro MSA, DeMarchi MS, Perin MY, Cosso, Shessarenko ISE, Ferritin RD (2020) Erythrocyte Sedimentation Rate, and C-Reactive Protein Level in Patients with Chikungunya-Induced Chronic Polyarthritis. **Am. J. Trop. Med. Hyg.**, 103(5) pp. 2077–2082 doi:10.4269/ajtmh.20-0066.

Guilherme JM, Gonella-Legall C, Legall F, Nakoume E, Vincent J (1996) Seroprevalence of five arboviruses in Zebu cattle in the Central African Republic. **Trans R Soc Trop Med Hyg**; 90: 31–3

Gould LH, Osman MS, Farnon EC, et al (2008) An outbreak of yellow fever with concurrent chikungunya virus transmission in South Kordofan, Sudan, 2005. **Trans R Soc Trop Med Hyg**; 102: 1247–54.

Gérardin P, Guernier V, Perrau J, Fianu A, Le Roux K, Grivard P, Michault A, DeLamballerie X, Flahault A, Favier F (2008) Estimating Chikungunya prevalence in La Réunion Island outbreak by serosurveys: two methods for two critical times of the

epidemic. **BMC Infect Dis.** Jul 28;8:99. doi: 10.1186/1471-2334-8-99. PMID: 18662384; PMCID: PMC2528011.

GrandadamM, Caro V, Plumet S, et al. (2011) Chikungunya virus, southeastern France. **Emerg Infect Dis** 2011;17:910–3.

Grossi-Soysteren, Cook EAJ, DeGlanvillewa, ThomasLF, KrystosikAR, LeeJ, WamaecN, KariukiS, FèvreEM, LabeaudaD (2017) Serological and spatial analysis of alphavirus and flavivirus prevalence and risk factors in a rural community in western Kenya. **PLOS Neglected Tropical Diseases**, 11(10), e0005998.<https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0005998>

Goupil BA, Mores CN (2016) A Review of Chikungunya Virus-induced Arthralgia: Clinical Manifestations, Therapeutics, and Pathogenesis. **Open Rheumatol J.** 30:129-140. doi: 10.2174/1874312901610010129

Gerardin P, Sampe´rizS, Ramful D, et al (2014) Neurocognitive outcome of childrenexposed to perinatal mother-to-child Chikungunya virus infection: the CHIMEREcohort study on Reunion Island. **PLoS Negl Trop Dis** ;8:e2996.

Gerardin P, Couderc T, Bintner M, et al (2016) Chikungunya virus-associated encephalitis:a cohort study on La Re´union Island, 2005-2009. **Neurology**;86: 94–102

Gotsch F, Romero R, KusanovicJP, Mazaki-Tovi S, et al (2007) The Fetal Inflammatory Response Syndrome. **Clin. obstetrics and gynecology**: september vol. 50, issue 3 – p.652-683. DOI: 10.1097/GRF.0B013E31811EBEF6

Girão ES, Rodrigues Dos Santos BG, Do Amaral ES, et al (2017)Chikungunya infection in solid organ transplant recipients. **TransplProc**;49:2076–81.

He Y, Liu C, Zeng Z, et al. (2018) Red blood cell distribution width: a potential laboratory parameter for monitoring inflammation in rheumatoid arthritis. **Clin Rheumatol.**; 37: 161-7.

Hernández-Bello J, Oregón-Romero E, Vázquez-Villamar M, García-Arellano S, Valle Y, Padilla-Gutiérrez JR, Román-Fernández IV, Palafox-Sánchez CA, Martínez-Bonilla GE, Muñoz-Valle JF (2017) Aberrant expression of interleukin-10 in rheumatoid arthritis: Relationship with IL10 haplotypes and autoantibodies. **Cytokine** 95:88-96. <https://doi.org/10.1016/j.cyto.2017.02.022>.

Ho K, Ang LW, Tan BH, Tang CS, Ooi PL, James L, Kee TAI G, (2011) Epidemiology and control of chikungunya fever in Singapore. **Journal of Infection**, 34v. 62, n. 4, p. 263–270. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jinf.2011.02.001>>.

Higuera-Mendieta DR, Cortés-Corrales S, Quintero J, González-Urbe C (2016) KAP Surveys and Dengue Control in Colombia: Disentangling the Effect of Sociodemographic Factors Using Multiple Correspondence Analysis. **PLoS Negl Trop Dis.** Sep 28;10(9):e0005016. doi: 10.1371/journal.pntd.0005016. PMID: 27682141; PMCID: PMC5040257.

Horcada ML, Díaz-Calderón C, Garrido AL (2015) Chikungunya fever rheumatic manifestations of an emerging disease in Europe. **Reumatol clin** v. 11, p. 161–164.

Hoarau JJ, Jaffar BMC, Krejbich TP, Das T, Li-Pat-Yuen G, Dassa B, Denizot M, Guichard E, Ribera A, Henni T, Tallet F, Moiton MP, Gauzère BA, Bruniquet S, Jaffar BZ, Morbidelli P, Martigny G, Jolivet M, Gay F, Grandadam M, Tolou H, Vieillard V, Debré P, Autran B, Gasque P (2010) Persistent chronic inflammation and infection by Chikungunya arthritogenic alphavirus in spite of a robust host immune response. **Journal of immunology** (Baltimore, Md.: 1950) v. 184, n. 10, p. 5914–27. Disponible en: <http://www.jimmunol.org/content/184/10/5914.full>>.

Hassanshahi G, Patel SS, Jafarzadeh AA, Dickson AJ (2007) Expression of CXC chemokine IP-10/Mob-1 by primary hepatocytes following heat shock. **Saudi Med J** 28:514-518. DOI: 10.3923/rji.2008.21.28.

Hardison JL, Wrightsman RA, Carpenter P.M, LANE TE, et al.(2006) The chemokines CXCL9 and CXCL10 promote a protective immune response but 38 do not contribute to cardiac inflammation following infection with *Trypanosoma cruzi*. **Infection and immunity** 74(1) 125–134. DOI: 10.1128/IAI.74.1.125- 134.2006

Honório NA, Câmara DC, Calvet GA, Brasil P (2015) Chikungunya: anarbovirus infection in the process of establishment and expansion in Brazil. **Cad Saude Pública**. 31(5):906-8.

Horta-Baas G, Romero-Figueroa MDS. Clinical utility of red blood cell distribution width in inflammatory and non-inflammatory joint diseases. **Int J RheumDis**. 2019; 22: 47-54.

Harigai M, Hara M, Yoshimura T, Leonard EJ, Inoue K, Kashiwazaki S (1993) Monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1) in inflammatory joint diseases and its involvement in the cytokine network of rheumatoid synovium **Clin Immunol Immunopathol** 69:83-91. [https://doi: 10.1006/clin.1993.1153](https://doi.org/10.1006/clin.1993.1153).

ICVT. **Virus Taxonomy: 2021 release. Disponível em: [https://](https://talk.ictvonline.org/taxonomy/p/taxonomy-history?taxnode_id=20164304) [https://](https://talk.ictvonline.org/taxonomy/p/taxonomy-history?taxnode_id=20164304)**

Ingegnoli F, Castelli R, Gualtierotti R (2003) Rheumatoid factors: clinical applications. **DisMarkers** 35:727-34. [https://doi: 10.1155/2013/726598](https://doi.org/10.1155/2013/726598)

IBGE (2010) **Synopsis of the 2010 Population Census (Pernambuco)**. IBGE Brazilian Institute of Geography and Statistics. <https://censo2010.ibge.gov.br/sinopse/index.php?dados=210&uf=26>. Accessed 19 November 2022.

Jiang Y, Beller DI, Frendl G, Graves DT (1992) Monocyte chemoattractant protein-1 regulates adhesion molecule expression and cytokine production in human monocytes. **J Immunol.**;148(8):2423-8.

Jelke FJ, Liu WJ, Prow NA, Geertsema C, LigtenbergM, Vanlandingham DL, Schnettler E, VlakJM, Suhrbier A,Khromykh AA, Pijlman GP (2010) Chikungunya Virus Nonstructural Protein 2Inhibits Type I/II Interferon-Stimulated JAK-STAT Signaling. **Journal of Virology**. v. 84, n. 20, p. 10877–10887.

Jentes ES, Robinson J, Johnson BW, et al (2010) Acute arboviral infections in Guinea, West Africa, 2006. **Am J Trop Med Hyg** 83: 388–94.

Jacob-Nascimento LC, Carvalho CX, Silva MMO, Kikuti M, Anjos RO, Fradico JRB, Campi-Azevedo AC, Tauro LB, Campos GS, Moreira PSDS, Portilho MM, Martins-Filho OA, Ribeiro GS, Reis MG (2021) Acute-PhaseLevelsof CXCL8 as Risk Factor for ChronicArthralgiaFollowing Chikungunya Virus Infection. **Front Immunol** 12:744183. [https://doi: 10.3389/fimmu.2021.744183](https://doi.org/10.3389/fimmu.2021.744183).

Josseran L, Paquet C, Zehgnoun A, Caillere N, LeTertreA, Solet JL, Ledrans M (2006) Chikungunya disease outbreak, Reunion Island. **EmergInfectDis**. Dec;12(12):1994-5. doi: 10.3201/eid1212.060710. PMID: 17354339; PMCID: PMC3291364.

Joubert JJ, Prozesky OW, Lourens JG, et al. Prevalence of hepatitis virus and some arbovirus infections in Kavango, northern SWA/Namibia. **SAfr Med J** 1985; 67: 500–02

Maxwell JC. A arte de Influenciar pessoas (2007).Editora MC: traduzido por Omar de Souza — São Paulo: Mundo Cristão.

Kaschula VR, VanDellenaf, De VosV (1978) Some infectious diseases of wildvervet monkeys (*Cercopi the cusaethiops pygerythrus*) in South Africa. **J S Afr Vet Assoc** 1978; 49: 223–37

Kelvin AA, Banner SG, Moro ML, Spataro N, Gaibani P, Cavrini F, Pierro A, Rossini G, Cameron MJ, Bermejo-Martin JF; Paquette SG; Xu L, Danesh A, Farooqui A, Borghetto I, David JK, D.J; Sambri V; Rubino S (2011) Inflammatory Cytokine Expression Is Associated with Chikungunya Virus Resolution and Symptom Severity. **PlosNeglected Tropical Diseases** August, Volume 5, Issue 8, e1279.

Kee AC, Yang S, Tambyah P (2010) Atypical chikungunya virus infections in immunocompromised patients. **Emerg Infect Dis** 16:1038–40.

Kuan G, Ramirez S, Gresh L, Ojeda S, Melendez M, Sanchez N, Collado D, Garcia N, Mercado JC, Gordon A, Balmaseda A, Harris E (2016) Seroprevalence of anti-chikungunya virus antibodies in children and adults in Managua, Nicaragua, after the first chikungunya epidemic, 2014-2015. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, 10(6), e0004773. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0004773>

Kohler LI, Azevedo J, Lima MA, Marinho RA et al (2018) Perfil epidemiológico dos pacientes com evolução subaguda e crônica de infecção por Chikungunya. **Rev Soc Bras Clin Med** jan-mar;16(1):13-7. ISSN: 2525-2933.

Koch AE, Kunkel SL, Harlow LA, Johnson B, Evanoff HL, Haines GK, Burdick MD, Pope RM, Strieter RM (1992) Enhanced production of monocyte chemoattractant protein-1 in rheumatoid arthritis. **J Clin Invest**. [https://doi: 10.1172/JCI115950](https://doi.org/10.1172/JCI115950).

Kuniholm MH, Wolfe ND, Huang CY-H, et al (2006) Seroprevalence and distribution of Flaviviridae, Togaviridae and Bunyaviridae arboviral infections in rural Cameroonian adults. **Am J Trop Med Hyg** 74: 1078–83.

Katsikis PD, Chu CQ, Brennan FM, Maini RN, Feldmann M (1994) Immunoregulatory role of interleukin 10 in rheumatoid arthritis. **J Exp Med** 179:1517-27. [https://doi: 10.1084/jem.179.5.1517](https://doi.org/10.1084/jem.179.5.1517).

Lee EY, Lee ZH, Song YW (2012) The interaction between CXCL10 and cytokines in chronic inflammatory arthritis. **Autoimmun Rev** 12:554-7. [https://doi: 10.1016/j.autrev.2012.10.001](https://doi.org/10.1016/j.autrev.2012.10.001).

Lee JH, Kim B, Jin WJ, Kim HH, Ha H, Lee ZH (2017) Pathogenic roles of CXCL10 signaling through CXCR3 and TLR4 in macrophages and T cells: relevance for arthritis. **Arthritis Res Ther** 19:163. [https://doi: 10.1186/s13075-017-1353-6](https://doi.org/10.1186/s13075-017-1353-6).

Lin T, Geng T, Harrison AG, Yang D, Vella AT, Fikrig E, Wang P (2020) CXCL10 Signaling Contributes to the Pathogenesis of Arthritogenic Alphaviruses. **Virus** 12:1252. [https://doi: 10.3390/v12111252](https://doi.org/10.3390/v12111252).

Lalitha P, Rathinam S, Banushree K, Maheshkumar S, Vijayakumar R, Sathe P (2007) Ocular Involvement Associated with an Epidemic Outbreak of Chikungunya Virus Infection. **American Journal of Ophthalmology**. v. 144, n. 4, p. 552–556.

Lemant J, Boisson V, Winer A, et al (2008) Serious acute chikungunya virus infection requiring intensive care during the Reunion Island outbreak in 2005-2006. **Crit Care Med** 36:2536–41.

Long KM, Heise MT (2015) Protective and Pathogenic responses to Chikungunya virus infection. **Curr Trop Med Rep** v. 2, n.1, p.13-21.

Lu L, Zhang H, Dauphars DJ, He YW (2020) A Potential Role of Interleukin 10 in COVID-19 Pathogenesis. **Trends Immunol** 42:3-5. [https://doi: 10.1016/j.it.2020.10.012](https://doi.org/10.1016/j.it.2020.10.012)

Lohachanakul J, Phuklia W, Thannagith M, Thonsakul PT, Ubol S (2012) High concentrations of circulating interleukin-6 and monocyte chemoattractant protein-1 with low concentrations of interleukin-8 were associated with severe chikungunya fever during the 2009-2010 outbreak in Thailand. **Microbiol Immunol** 56:134-8. [https://doi: 10.1111/j.1348-0421.2011.00417x](https://doi.org/10.1111/j.1348-0421.2011.00417x).

Liumbruno GM, Calteri D, Petropoulos K, et al (2008) The Chikungunya epidemic in Italy and its repercussion on the blood system. **Blood Transfus** 6:199–210.

Liu X, Poo YS, Alves JC, Almeida RP, Mostafavi H, Tang PCH, Bucala R, Teixeira MM, Taylor A, Zaid A, MS (2022) Interleukin-17 Contributes to Chikungunya Virus-Induced Disease. **mBio**. 2022 Apr 26;13(2):e0028922. doi: 10.1128/mbio.00289-22. Epub Mar 7. PMID: 35254128; PMCID: PMC9040832.

Li X, Gignac MA and Anis AH (2006) The indirect costs of arthritis resulting from unemployment, reduced performance, and occupational changes while at work. **Med Care** 44:304-10.

Lohachanakul J, et al (2015) Differences in response of primary human myoblasts to infection with recent epidemic strains of chikungunya virus isolated from patients with and without myalgia. **J. med. virol.** v. 87, n. 5, p. 733–739.

Lubberts E (2015) The IL-23-IL-17 axis in inflammatory arthritis. *Nat Rev Rheumatol*. Jul;11(7):415-29. doi: 10.1038/nrrheum.2015.53. Epub 2015 Apr 28. Erratum in: **Nat Rev Rheumatol**. Oct;11(10):562. PMID: 25907700.

Martinabea, Koraka P, Osterhaus ADME (2009) Dengue virus pathogenesis: An integrated view. **Clinical Microbiology Reviews** v. 22, n. 4, p. 564–581,

Marti-Carvajal A, Ramon-Pardo P, Javelle E, Simon F, Aldighieri S, Horvath H, et al. (2017) Interventions for treating patients with chikungunya virus infection-related

rheumatic and musculoskeletal disorders: A systematic review. **PLoS ONE** 12(6): e0179028. [https://doi.org/ 10.1371/journal.pone.0179028](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0179028)

Marti LC, (2013) Dados recentes em IL-17 e células Th17 , e implicações na doença do enxerto contra hospedeiro Current data on IL-17 and Th17 cells and implications for graft versus host disease. **Einstein**. 2013. v. 11, n. 2, p. 237246,

Magyari L, Varszegi D, Kovesdi E, Sarlos P, Farago B, Javorhazy A, Sumegi K, Banfai Z, MeleghB (2014) Interleukinsandinterleukinreceptors in rheumatoidarthritis: Research, diagnosticsandclinicalimplications. **World J Orthop** 5:516-36. [https://doi: 10.5312/wjo.v5.i4.516](https://doi:10.5312/wjo.v5.i4.516).

McCain JA (2009) Unmet need in the treatment of rheumatoid arthritis. **ManagedCare** 18:1-6.

Martich GD, Danner RL, Ceska M, SuffrediniAF (1991) Detection of interleukin-8 and tumor necrosis factor in normal humans after intravenous endotoxin: the effect of antiinflammatory agents. **J Exp Med** ;173(4):1021-4.

Martins VEP, Alencar CHM, Facó PEG, Dutra RF, Alves CR, Pontes RJS, Guedes MIF (2010) Distribuição espacial e características dos criadouros de Aedes albopictus e Aedes aegypti em Fortaleza, Estado do Ceará. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, 43(1), 73–77. <https://doi.org/10.1590/S0037-86822010000100016>

Machado GP, Barreto SM, Passos VM, Lima-costa MF. Projeto Bambuí: prevalência de sintomas articulares crônicos em idosos. **Rev Assoc Med Bras**. 2004; 50(4):367-72.

Manimunda SP, SinghsS, Sugunan AP, Singh O, Roy S,Shriram AN, Bharadwaj AP, Shah WA, Vijayachari P (2007)Chikungunya fever, Andaman and Nicobar Islands, India. **Emerging Infectious Diseases**v. 13, n. 8, p. 1259–1260.

Mahendradas P, Avadhani K, Shetty R (2013) Chikungunya and the eye: a review. **J Ophthalmic Inflamm Infect** 3:35. [https://doi: 10.1186/1869-5760-3-35](https://doi.org/10.1186/1869-5760-3-35).

Mehta R, Gerardin P, De Brito CAA, Soares CN, Ferreira MLB, Solomon T (2018) The neurological complications of chikungunya virus: A systematic review. **Rev Med Virol**. May;28(3):e1978. doi: 10.1002/rmv.1978. Epub 2018 Apr 19. PMID: 29671914; PMCID: PMC5969245.

Miner, JJ, Aw-Yeang HX, Fox JM, Taffner S, et al (2015) Chikungunya viral arthritis in the United States: a mimic of seronegative rheumatoid arthritis. **Arthritis Rheumatol** May;67(5):1214-1220. DOI: 10.1002/art.39027.

Mittal A, Mittal S, Bharati MJ, Ramakrishnan R, Saravanan S, Sathe P (2007) Optic neuritis associated with chikungunya virus infection in South India. **Arch Ophthalmol**. 125:1381–6.

Moore DL, Causey OR, Carey DE, et al (1975) Arthropod-borne viral infections of man in Nigeria, 1964–1970. **Ann Trop Med Parasitol**; 69: 49–64

Morsley K, Miller A, Luqmani R, Fina-aviles F, Javaid MK, Edwards CJ, Pinedo-Villanueva R, Medina M, Calero S, Cooper C, Arden N, Prieto-Alhambra D (2019) Rheumatoid factor testing in Spanish primary care: A population-based cohort study including 4.8 million subjects and almost half a million measurements. **Reumatol Clin (Engl Ed)**. Nov-Dec;15(6):350-354. English, Spanish. doi: 10.1016/j.reuma.2017.11.001. Epub 2018 Feb 26. PMID: 29496419.

McInnes IB, Schett G (2011) The pathogenesis of rheumatoid arthritis. **N Engl J Med** 365:2205-19 [https://doi: 10.1056/NEJMra1004965](https://doi.org/10.1056/NEJMra1004965)

McCarthy MK, Morrison TE (2016) Chronic chikungunya virus musculoskeletal disease: what are the underlying mechanisms? **Future Microbiol.**; 11(3):331-4.

Nakaya HI, Gardner J, Poo YS, Major L, Pulendran B, Suhrbier A (2012) Gene profiling of Chikungunya virus arthritis in a mouse model reveals significant overlap with rheumatoid arthritis. **Arthritis Rheum** 64(11):3553-63. [https://doi: 10.1002/art.34631](https://doi.org/10.1002/art.34631).

Ninla-Aesong P, Mitarnun W, Noipha K (2019) Proinflammatory Cytokines and Chemokines as Biomarkers of Persistent Arthralgia and Severe Disease After Chikungunya Virus Infection: A 5-Year Follow-Up Study in Southern Thailand. **Viral Immunol.** Dec;32(10):442-452. DOI: 10.1089/vim.2019.0064

Nras (2022) What is Rheumatoid arthritis (RA). NRAS National Rheumatoid Arthritis Society. <https://nras.org.uk/resource/what-is-ra/>. Accessed 19 November 2022

Ng KW, Chow ALP, Win MK, Dimatatac F, Neo HY, Lye DC, Leo YS (2009) Clinical features and epidemiology of chikungunya infection in Singapore. **Singapore Medical Journal.** v. 50, n. 8, p. 785–790.

Ozden S, Huerre M, Riviere JP, Coffey LL, Afonso PV, Mouly V, De Monredon J, Roger JC, El Amrani M, Yvin JL, Jaffar MC, Frenkiel MP, Sourisseau M, Schwartz O, Butler-Browne G, Desprès P, Gessain A, Ceccaldi PE (2007) Human muscle satellite cells as targets of Chikungunya virus infection. **PloSone.** v. 2, n. 6, p. e527. Disponível em: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=1885285&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>;

Pathak H, Mohan MC, Ravindran V (2019) CHIKUNGUNYA ARTRITIS. **Clinical Medicine** Vol 19, No 5: 381–5.

Pastorino B, Muyembe-Tamfum JJ, Bessaud M, et al (2004) (Epidemic resurgence of Chikungunya virus in democratic Republic of the Congo: identification of a new central African strain. **J Med Virol**; 74: 277–82.

Parola P, DeLamballerie X, Jourdan J, Rovey C, Vaillant V, Minodier P, Brouqui P, Flahault A, Raoult D, Charrel RN (2006) Novel chikungunya virus variant in travelers returning from Indian Ocean islands. **Emerging Infectious Diseases**. v. 12, n. 10, p. 1493–1499.

Patterson J, Sammon M, Garg M (2016) Dengue, Zika and Chikungunya: emerging arboviruses in the new world. **West J Emerg Med** 17:671–9.

Palomino DCT, Marti LC (2015) Chemokines and immunity. **Einstein** vol.13 no.3 São Paulo July/Sep. DOI: 10.1590/S1679-45082015RB3438.

Paparo SR (2019) Rheumatoid arthritis and the Th1 chemokine MIG. **Clin Ter** 170:472-477. [https://doi: 10.7417/CT.2019.2178](https://doi.org/10.7417/CT.2019.2178).

Pandya JM, Lundell AC, Andersson K, Nordström I, Theander E, Rudin A (2017) Blood chemokine profile in untreated early rheumatoid arthritis: CXCL10 as a disease activity marker. **Arthritis Res Ther** 19:20. [https://doi: 10.1186/s13075-017-1224-1](https://doi.org/10.1186/s13075-017-1224-1).

Pope JE, Choy EH (2021) C-reactive protein and implications in rheumatoid arthritis and associated comorbidities. **Semin Arthritis Rheum** 51:219-229. [https://doi: 10.1016/j.semarthrit.2020.11.005](https://doi.org/10.1016/j.semarthrit.2020.11.005).

PEYREFITTE CN, ROUSSET D, PASTORINO BAM, et al (2007) Chikungunya virus, Cameroon, 2006. **Emerg Infect Dis**; 13: 768–71.

Peyrefitte CN, Bessaud M, Pastorino BAM, et al (2008) Circulation of chikungunya virus in Gabon, 2006–2007. **J Med Virol**; 80: 430–3.

Pistone T, Ezzedine K, Schuffenecker I, Receveur MC, Malvy D (2009) An imported case of chikungunya fever from Madagascar: use of the sentinel traveller for detecting emerging arboviral infections in tropical and European countries. **Travel Med Infect Dis**; 7: 52–54.

Pistone T, Ezzedine K, Boisvert M, et al (2006) Cluster of chikungunya virus infection in travellers returning from Senegal. **J Travel Med**; 16: 286–88

Pialoux G, Gaüzère BA, Jauréguiberry S, Strobel M (2007) Chikungunya, an epidemic arbovirosis. **Lancet Infectious Diseases**. v. 7, n. 5, p. 319–327.

Powers AM, Brault AC, Tesh RB, Weaver SC (2000) Re-emergence of chikungunya and o'nyong-nyong viruses: Evidence for distinct geographical lineages and distant evolutionary relationships. **Journal of General Virology**. v. 81, n. 2, p. 471–479.

Raghu H, Lepus CM, Wang Q, Wong HH, et al (2017) CCL2/CCR2, but not CCL5/CCR5, mediates monocyte recruitment, inflammation and cartilage destruction in osteoarthritis. **Annals of the rheumatic diseases** 76(5), 914–922. <https://doi.org/10.1136/annrheumdis-2016-210426>.

Raz E, Mahabaleshwar H (2009) Chemokine signaling in embryonic cell migration: a fish-eye view. **Development**. Apr;136(8):1223-9. DOI: 10.1242/dev.022418.

Roques P, Thiberville SD, Dupuis-Maguiraga L, Lum FM, Labadie K, Martinon F, Gras G, Lebon P, Ng LFP, De Lamballerie X, Le Grand R (2018) Paradoxical Effect of Chloroquine Treatment in Enhancing Chikungunya Virus Infection. **Viruses**. May 17;10(5):268. doi: 10.3390/v10050268. PMID: 29772762; PMCID: PMC5977261.

Rezende RB (2021) Análise epidemiológica das arboviroses emergentes e reemergentes no Brasil entre os anos de 2019 e 2020. **Research, Society**

andDevelopment, v. 10, n. 2, e33010212611. DOI: <http://dx.doi.org/10.33448/rsd-v10i2.12611>

Rezza G, Nicoletti L, Angelini R, et al (2007) Infection with chikungunya virus in Italy: an outbreak in a temperate region. **Lancet**;370:1840–6.

Reddy V, Mani RS, Desai A, Ravi V (2014) Correlation of plasma viral loads and presence of Chikungunya IgM antibodies with cytokine/chemokine levels during acute Chikungunya virus infection. **J Med Virol**. Aug;86(8):1393-401. doi: 10.1002/jmv.23875.

Ryman KD, KLIMSTRA WB (2014) Closing the gap between viral and noninfectious arthritis. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 111, n. 16, p. 5767–8. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24733902>>

Robin S, Ramful D, Zettor J, Benhamou L, Jaffar-BAndjeeMC, Rivière JP, MARICHY J, Ezzedine K, Alessandri JL (2009) Severe bullous skin lesions associated with chikungunya virus infection in small infants. **Eur J Pediatr** 169:67–72.

Roberts CA, Dickinson AK and Taams LS (2015) The Interplay Between Monocytes/Macrophages and CD4(+) T Cell Subsets in Rheumatoid Arthritis. **Front Immunol** 6:571

Robinson MC (1955) An epidemic of virus disease in Southern Province, Tanganyika Territory, in 1952–53. I. Clinical features. **Trans R Soc Trop Med Hyg** 49: 28–3.

Rodhain F, Carteron B, Laroche R, Hannoun C (1987) Human arbovirus infections in Burundi: results of a seroepidemiologic survey, 1980–1982. **Bull Soc Pathol Exot Filiales** 80: 155–61 (in French).

Rodríguez-Carrio J, Alperi-López M, Alonso-Castro S, et al (2015) Red cell distribution width is associated with cardiovascular risk and disease parameters in rheumatoid arthritis, **Rheumatology (Oxford)**. 54: 641-6.

Rodríguez-Morales AJ, Cardona-Ospina JA, Urbano-Garzón FS, Hurtado-Zapata J S (2016) Prevalence of Post-Chikungunya Infection Chronic Inflammatory Arthritis: A Systematic Review and Meta-Analysis. **Arthritis Care & Research**, 68(12), 1849–1858. doi:10.1002/acr.22900 [PubMed: 27015439]

Santos NOS, Romanos MTV, Wigg MD (2021) Virologia Humana. 4ª Edição, **Editora gen: Grupo Editora Nacional. Guanabara Koogan**.

Sanyaolu, A. et al (2016) Chikungunya epidemiology: a global perspective. **Sm j public health epidemiol** v. 2, n. 2.

Santelli ACFS, Cruz LN, Frutuoso LCV (2017) **Manejo Clínico Chikungunya. Ministério da Saúde** v. 2 a edição, p.77.

Sergon K, Njuguna C, Kalani R, Ofula V, Onyango C, Konongoils, Bedno S, Burke H, Dumilla AM, Konde J, Njenga MK, Sang R, Breiman RF (2008) Seroprevalence of Chikungunya virus (CHIKV) infection on Lamu Island, Kenya, October. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**. v. 78, n. 2, p. 333–337.

Sepúlveda-Delgado J, Vera-Lastra OL, Trujillo K, Canseco-Ávila LM, Sánchez-González RA, Gómez-Cruz O, et al (2017) Inflammatory biomarkers, disease activity index, and self-reported disability may be predictors of chronic arthritis after Chikungunya infection: brief report. **Clin Rheumatol** 36:695–699.

Sebastian MR, Lodha R, Kabra SK (2009) Chikungunya infection in children. **Indian Journal of Pediatrics** v. 76, n. 2, p. 185–189.

Simon F, Javelle E, Cabie A, Bouquillard E, Troisgros O, Gentile G, Leparç-Goffart I, Hoen B, Gandjbakhch F, Rene-Corail P, Franco JM, Caumes E, Combe B, Poiraudreau S, Gane-Troplent F, Djossou F, Schaerverbeke T, Criquet-Hayot A, Carrere P, Malvy D, Gaillard P, Wendling D (2015) French guidelines for the management of chikungunya (acute and persistent presentations). November 2014. **Medecine et Maladies Infectieuses**. 2015. v. 45, n. 7, p. 243–263. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.medmal.2015.05.007>;

Sissoko D, Malvy D, Ezzedine K, Renault P, Moscetti F, Ledrans M, Pierre V (2009) Post-epidemic Chikungunya disease on Reunion Island: course of rheumatic manifestations and associated factors over a 15-month period. **PLoS Negl Trop Dis** 3(3):e389. doi: 10.1371/journal.pntd.0000389. Epub 2009 Mar 10. PMID: 19274071; PMCID: PMC2647734.

Silveira IG, Burlingame RW, von Mühlen CA, Bender AL and Staub HL (2007) Anti-CCP antibodies have more diagnostic impact than rheumatoid factor (RF) in a population tested for RF. **Clin Rheumatol** 26:1883-1889.

Silva JR JVJ, Ludwig-Begall LF, Oliveira-Filho EF, Oliveira RAS, Durães-Carvalho R, Lopes TRR, Silva DEA, Gil LHV (2018) A scoping review of Chikungunya virus infection: epidemiology, clinical characteristics, viral co-circulation complications, and control. **Acta Trop** 188:213-224. <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2018.09.003>.

Soumahoro MK, Fontenille D, Turbelin C, Pelat C, Boyd A, Flahault A, Hanslik T (2010) Imported chikungunya virus infection. **Emerg Infect Dis** Jan;16(1):162-3. doi: 10.3201/eid1601.080776. PMID: 20031074; PMCID: PMC2874343.

Solignat M, Gay B, Higgs S, Briant L, Devaux C (2009) Replication cycle of chikungunya: a re-emerging arbovirus. **Virology** Oct 25;393(2):183-97. doi: 10.1016/j.virol.2009.07.024. Epub Sep 4. PMID: 19732931; PMCID: PMC2915564.

Staples JE, Susan LH, Ann MP (2020) Chapter 4: **Travel-related Infectious Diseases**.

<https://wwwnc.cdc.gov/travel/yellowbook/2020/travel-related-infectious-diseases/chikungunya>. Accessed 19 November 2022.

Schilte C, Staikowsky F, Couderc T, Madec Y, Carpentier F, Kassab S, Albert ML, Lecuit M, Michault A (2013) Chikungunya virus-associated long-term arthralgia: a 36-month prospective longitudinal study. **PLoS Negl Trop Dis** 7:2137. [https://doi:10.1371/journal.pntd.0002137](https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0002137)

Talarmin F, Staikowsky F, Schoenlaub P, Risbourg A, Nicolas X, Zagnoli A, Boyer P (2007) Skin and mucosal manifestations of chikungunya virus infection in adults in Reunion Island. **Med Trop (Mars)**;67:167–73.

Tandale BV, Sathe PS, Arankalle VA, et al. (2009) Systemic involvements and fatalities during Chikungunya epidemic in India, 2006. **J Clin Virol** 46:145–9.

Tsetsarkin KA, Chen R, Sherman MB, Weaver SC (2011) Chikungunya virus: evolution and genetic determinants of emergence. **Curr Opin Virol**. Oct;1(4):310-7. doi: 10.1016/j.coviro.2011.07.004. PMID: 21966353; PMCID: PMC3182774.

Thiboutot MM, Kannan S, Kawalekar OU, Shedlock DJ, Khanas, Sarangan G, Srikanth P, Weiner DB, Muthumani K (2010) Chikungunya: A potentially emerging epidemic? **PLoS Neglected Tropical Diseases** v. 4, n. 4.

Vairo F, Haider N, Kock R, Ntoumi F, Ippolito G, Zumla A (2019) Chikungunya Epidemiology, Pathogenesis, Clinical Features, Management, and Prevention. **Infect Dis Clin N Am** 33 1003–1025. <https://doi.org/10.1016/j.idc.2019.08.006>.

VanBortel W, Dorleans F, RosineJ, et al. (2014) Chikungunya outbreak in the Caribbean region, December 2013 to March 2014, and the significance for Europe. **Euro Surveill.** Apr 3;19(13):20759. DOI: 10.2807/1560- 7917.es2014.19.13.20759.

Van Den BoschC, Lloyd G (2000) Chikungunya fever as a risk factor for endemic Burkitt'slymphoma in Malawi. **Trans R Soc Trop Med Hyg** 94: 704–05.,

Venugopalan A, Ghorpade RP, Chopra A (2014) Cytokines in acute Chikungunya. **PLoSOne**9:e111305.

Van Den Bossche D, Cnops L, MeersmanK, Domingo C, VanGompel A, Van Esbroeck M (2015) Chikungunya virus and West Nile virus infections imported into Belgium, 2007-2012. **Epidemiol Infect.** Jul;143(10):2227-36. doi: 10.1017/S0950268814000685. Epub 2014 Apr 2. PMID: 24690286; PMCID: PMC9506976.

Vairo F, Mammone A, LaniniS, et al (2018) Local transmission of chikungunya in Rome and the Lazio region, Italy. **PLoS One**13:e0208896.

VasconcelosPFC, Travassos Da Rosa ES, Travassos Da Rosa JFS, Freitas RB, Dégallier N, Rodrigues SG, Travassos Da Rosa APA (1993) Epidemia de febre clássica de dengue causada pelo sorotipo 2 em Araguaiana, Tocantins, Brasil. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo** 35(2), 141–148. <https://doi.org/10.1590/S0036-46651993000200005>.

Vazirinejad R, Ahmadi Z, Kazemi AM, Hassanshahi G, et al(2014) The Biological Functions, Structure and Sources of CXCL10 and Its Outstanding Part in the Pathophysiology of Multiple Sclerosis. **Neuroimmunomodulation** vol. 21 nº6:322-330. DOI: 10.1159/000357780

Venugopalan A, Ghorpade RP, Chopra A (2014) Cytokines in acute chikungunya. **PLoS One** Oct 24;9(10):e111305. doi: 10.1371/journal.pone.0111305. PMID: 25343623; PMCID: PMC4208842.

Vu DM, Jungkind D, Angelle DL (2017) Chikungunya Virus. **Clin Lab Med.** Jun;37(2):371-382. doi: 10.1016/j.cl.2017.01.008. Epub 2017 Mar 27. PMID: 28457355; PMCID: PMC5469677.

Wauquiern, Becquart P, Nkoghe D, Padilla C, Ndjoi-mbiguino A, Leroy EM (2011) The acute phase of Chikungunya virus infection in humans is associated with strong innate immunity and T CD8 cell activation. **Journal of Infectious Diseases** v. 204, n. 1, p. 115–123.

Weinbren MP, Hadowaj, Williams MC (1958) The occurrence of Chikungunya virus in Uganda. I. Isolation from mosquitoes. **Trans R Soc Trop Med Hyg** 52: 253–57

Whiteman A, Mejia A, Hernandez I, Loaiza JR (2018) Socioeconomic and demographic predictors of resident knowledge, attitude, and practice regarding arthropod borne viruses in Panama. **BMC Public Health.** 18:1261. <https://doi.org/10.1186/s12889-018-6172-4>

Woodruffa W, Bowen ET, Platt GS (1978) Viral infections in travellers from tropical Africa. **BMJ** 1978; 1: 956–58.

Yunchun L, Yue W, Jun FZ, et al (2016) Clinical significance of red blood cell distribution width and inflammatory factors for the disease activity in rheumatoid arthritis. **Clin Lab.**; 62:2327-31.

Zhang L, Yu M, Deng J, et al (2015) Chemokine Signaling Pathway Involved in CCL2 Expression in Patients with Rheumatoid Arthritis. **Yonsei Med J** 56(4):1134-1142. doi:10.3349/ymj.2015.56.4.1134

APENDICE A - Termo de Consentimento Livre e Esclarecido para Maiores de 18 Anos



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO

CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO PARA MAIORES DE 18 ANOS

Convidamos o (a) Sr. (a) para participar, como voluntário (a), da pesquisa: **ANÁLISE EPIDEMIOLÓGICA E ASSOCIAÇÃO DOS NÍVEIS SÉRICOS DAS CITOCINAS e QUIMIOCINAS IL-1 β , IL-6, IL-10, IL-17A, CCL2, CXCL8, CXCL9 e CXCL10 COM A PERSISTÊNCIA DAS ALTERAÇÕES REUMATOLÓGICAS EM PACIENTES NA FASE CRÔNICA DA FEBRE CHIKUNGUNYA COM ARTRITE REUMATOIDE PRÉ-EXISTENTE**, que está sob a responsabilidade do pesquisador Luan Araújo Bezerra, com endereço: Avenida Professor Moraes Rego, s/n – Bloco “A” Térreo do Hospital das Clínicas da UFPE. Cidade Universitária cep: 50670-420/ Telefone (81) 32513881, 98606389/ E-mail: luanaraujola@hotmail.com; para contato do pesquisador responsável (inclusive ligações a cobrar) e está sob a orientação da Profa. Dra. Maria Rosangela Cunha Duarte Coelho. Telefones para contato: 81 2126-8586, email: rcoelholika@gmail.com.

Após ser esclarecido (a) sobre as informações a seguir, no caso de aceitar a fazer parte do estudo, assine as folhas e assine ao final deste documento, que está em duas vias. Uma delas é sua e a outra do pesquisador responsável. Em caso de recusa o (a) Sr. (a) não será penalizado (a) de forma alguma. O (a) Senhor (a) tem direito de retirar o conhecimento a qualquer tempo, sem qualquer penalidade.

O objetivo desta pesquisa é verificar a associação dos níveis séricos (níveis detectados no soro obtido no processamento de amostra de sangue) e SNPs (Polimorfismos de nucleotídeo de base única que são uma variação em um único nucleotídeo que ocorre a uma posição específica no genoma, subtendendo as diferenças em nossa susceptibilidade a doenças e também à gravidade da doença e a forma como nosso corpo responde aos tratamentos e manifestações de variações genéticas) das citocinas IL-1 β , IL-6, IL-10 e IL-17, com as alterações reumatológicas e laboratoriais provenientes da infecção pelo CHIKV em indivíduos na fase crônica da doença, para isso, serão convidados os participantes por conveniência (demanda espontânea), onde os que aceitarem participar da pesquisa, serão encaminhados a uma sala reservada para realização de uma entrevista de modo individual. Poderá surgir o risco de constrangimento durante a entrevista, mas este risco será minimizado através de um adequado aconselhamento e conversa amigável, lembrando sempre que a participação é voluntária e toda a informação dada será confidencial. Após a entrevista, será realizada a coleta de duas amostras de 05 mL de sangue de uma veia. Serão utilizados materiais novos, estéreis, e descartáveis na coleta de sangue, o que diminuirá o risco de contaminação. Poderá surgir o risco do surgimento de hematomas ou o local onde for puncionada a veia ficar arroxado, mas os profissionais de coleta são experientes e tomarão os devidos cuidados para diminuir o risco de que o local fique arroxado e/ou dolorido. Em relação aos benefícios, os indivíduos que participarem da pesquisa contribuirão

de forma indireta para o avanço das pesquisas sobre o Chikungunya a qual a resposta imunológica pode afetar a evolução para forma crônica da doença, onde as citocinas podem desempenhar papel importante na patogênese das alterações reumatológicas ocasionadas durante a infecção, e essas alterações podem interferir na qualidade de vida dos indivíduos com a doença na fase crônica. Dessa forma, o benefício obtido através do desenvolvimento deste projeto, será uma possível causa para um melhor manejo clínico para a doença, pois ainda não existem medicamentos que combatam diretamente o vírus, apenas existem aqueles que atuam no processo inflamatório ocasionado pelo mesmo. As informações desta pesquisa serão confidenciais e serão divulgadas apenas em evento ou publicações científicas, não havendo identificação dos voluntários, a não ser entre os responsáveis pelo estudo, sendo assegurado o sigilo sobre a participação. Os dados coletos nesta pesquisa, através do questionário aplicado pelo pesquisador, ficarão armazenados em computador pessoal, sob a responsabilidade da pesquisadora e do orientando, no endereço, acima informado, pelo período mínimo de 5 anos.

O (a) senhor (a) não pagará nada para participar desta pesquisa. Se houver necessidade, as despesas para a sua participação serão assumidas pelos pesquisadores (ressarcimento de despesas). Fica também garantida indenização em casos de danos, comprovadamente decorrentes da participação na pesquisa, conforme decisão judicial ou extra-judicial. Em caso de dúvidas relacionadas aos aspectos éticos deste estudos, você poderá consultar o Comitê de Ética em Pesquisa Envolvendo Seres Humanos da UFPE no endereço: Avenida da Engenharia s/n – 1º Andar, sala 4 – Cidade Universitária, Recife-PE, CEP: 50740-600, Tel. : (81) 2126.88588 – E-mail: cepccs@ufpe.br.

(Assinatura do Pesquisador)

CONSENTIMENTO DA PARTICIPAÇÃO DA PESSOA COMO VOLUNTÁRIO (A)

Eu, _____, CPF _____, abaixo assinado, após a leitura (ou a escuta da leitura) deste documento e ter tido a oportunidade de conversar e ter esclarecido as minhas dúvidas com o pesquisador responsável, concordo em participar do estudo **ANÁLISE EPIDEMIOLÓGICA E ASSOCIAÇÃO DOS NÍVEIS SÉRICOS DAS CITOCINAS e QUIMIOCINAS IL-1 β , IL-6, IL-10, IL-17A, CCL2, CXCL8, CXCL9 e CXCL10 COM A PERSISTÊNCIA DAS ALTERAÇÕES REUMATOLÓGICAS EM PACIENTES NA FASE CRÔNICA DA FEBRE CHIKUNGUNYA COM ARTRITE REUMATOIDE PRÉ-EXISTENTE** como voluntário (a). Fui devidamente informado (a) e esclarecido (a) pelo (a) pesquisador (a) sobre a pesquisa, os procedimentos nela envolvidos, assim como os possíveis riscos e benefícios decorrentes de minha participação. Foi-me garantido que posso retirar meu consentimento a qualquer momento, sem que isto leve a qualquer penalidade (ou interrupção de meu acompanhamento/assistência/tratamento).

Recife, _____ de _____ de 201__.

Assinatura _____ do participante _____ (ou responsável legal): _____
Presenciamos a solicitação de consentimento, esclarecimentos sobre a pesquisa e aceite do voluntário em participar.

Assinatura da testemunha 1: _____

Assinatura da testemunha 2: _____

APENDICE B – QUESTIONÁRIO

106

Data da entrevista						Registro do paciente							
/ /													
1. Identificação do paciente na pesquisa 						2. Data de nascimento / /							
3. Nome do paciente na pesquisa _____ _____ _____						4. Sexo biológico 1. Masculino 2. Feminino 							
Endereço _____ _____ _____						5. Qual a sua etnia? 01. Branca 02. Preta 03. Parda 							
6. Grau de instrução: 1. Ensino Fundamental 2. Ensino Médio 3. Ensino Superior 						7. Reside na zona Rural ou Urbana: 1. Rural 2. Urbana 							
6. Foi afastado de trabalho/ atividade doméstica pelas dores causadas pelo CHIKV? 01. Sim 02. Não 						7.Qual atividade? 01.Trabalho 02.Atividades Domésticas 03.Nenhum 							
8. Usava alguma medicação ANTES da infecção? 01.Sim 02. Não Qual? _____ _____						9. Faz uso de qual (ais) medicamento (s)? _____ _____ _____ _____ _____ _____							

10. Já teve alguma outra arbovirose DEN ou ZIKA antes da infecção pelo CHIKV? 1. Sim ☐ 2. Não ☐	11. Possuía alguma alteração reumatológica antes da infecção pelo CHIKV? 1. Sim ☐ 2. Não ☐
12. SE sim, Qual? _____	13. Piorou após a infecção pelo CHIKV? 1. Sim ☐ 2. Não ☐
14. Preciso de acompanhamento com o Psicólogo? 1. Sim ☐ 2. Não ☐	15. Preciso ou tomou por conta própria antidepressivo? 1. Sim ☐ 2. Não ☐
16. Quais locais foram afetados e permanecem com dor? 1. pescoço ☐ 2. Ombros ☐ 3. Cotovelos ☐ 4. Região dos pulsos e dedos ☐ 5. Quadris ☐ 6. Joelhos ☐ 7. Tornozelos ☐ 8. Pés ☐	17. Mesmo após a infecção, apresenta dores musculares (Mialgia)? 1. Sim ☐ 2. Não ☐
18. Nauseas? 1. Sim ☐ 2. Não ☐	19. febre? 1. Sim ☐ 2. Não ☐
20. Diarréia? 1. Sim ☐ 2. Não ☐	21. Queixas oculares? 1. Sim ☐ 2. Não ☐
22. Vômitos? 1. Sim ☐ 2. Não ☐	23. Perda de peso? 1. Sim ☐ 2. Não ☐
24. Fadiga 1. Sim ☐ 2. Não ☐	25. Mantém sintomas articulares? 1. Sim ☐ 2. Não ☐

APENDICE C - Artigo 1 em inglês

ANALYSIS OF AGGRAVATING FACTORS IN PATIENTS WITH POSITIVITY FOR ANTI-CHIKV (IgG) WITH AND WITHOUT PRE-EXISTING ARTHRITIS

Luan Araújo Bezerra^{1,2}, Juliana Prado Gonçalves^{2,3}, José Valter Joaquim Silva Júnior^{2,4,5}; Gabriel Galindo Cunha^{1,2} and Maria Rosângela Cunha Duarte Coêlho^{1,2,6}•

¹Graduate Program in Tropical Medicine, Federal University of Pernambuco, Pernambuco, Brazil

²Virology Sector, Keizo Asami Institute, Federal University of Pernambuco, Pernambuco, Brazil

³SER Educational Group, Pernambuco, Brazil

⁴Virology Sector, Department of Preventive Veterinary Medicine, Center for Rural Sciences, Federal University of Santa Maria, Rio Grande do Sul, Brazil

⁵Department of Clinical Analysis, Health Sciences Center, Federal University of Santa Maria, Rio Grande do Sul, Brazil

⁶Department of Physiology and Pharmacology, Biosciences Center, Federal University of Pernambuco, Pernambuco, Brazil

*These authors contributed equally to this work

•Corresponding author: Maria Rosângela Cunha Duarte Coêlho. Setor de Virologia, Instituto Keizo Asami, Universidade Federal de Pernambuco, address: Av. Prof. Moraes Rego, s/n. Cidade Universitária, 50.670-901, Recife, Pernambuco, Brazil. E-mail: rcoelholika@gmail.com.

Acknowledgment

The authors thank the patients who agreed to participate and collaborate with the study.

Funding

LAB thanks the *Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior* (CAPES) (Brazil) and *Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico* (CNPq) (Brazil) for her scholarship. JVJS Jr was supported by *Financiadora de Estudos e Projetos* (FINEP) DTI-A-1. MRCDC was supported by CNPq research fellowship.

Abstract

Chikungunya fever (CHIKF) is a disease that affects the quality of life of those affected, and may interfere with behavioral actions and cause persistent pain for a long period in patients in the chronic phase. However, in individuals with pre-existing autoimmune rheumatoid arthritis (RA) who are positive for anti-CHIKV (IgG), studies suggest that immunopathogenic factors, such as the action of cytokines and chemokines at sites of joint inflammation, may be related to the CHIKF complaint. in AR. However, information on CHIKV aggravation factors in the population with pre-existing RA is scarce. Thus, the aim of this research was to describe and analyze the aggravating factors related to CHIKV infection in RA compared to individuals with CHIKV and RA alone. The study included 160 patients monitored at the rheumatology outpatient clinic of the Federal University of Pernambuco from 2019 to 2020, divided into three groups: CHIKV, AR+CHIKF and RA. Sociodemographic and behavioral data were obtained through a questionnaire applied during the interview. Clinical and laboratory data were obtained from the patients' charts. All patients were tested for anti-CHIKV (IgG) following the manufacturer's recommendations. After describing the sociodemographic, behavioral, laboratory and clinical factors, an association was found in the following groups: CHIKF: ethnicity ($p < 0.00011$), withdrawal from activities ($p < 0.0001$) and other arboviruses ($p: 0.0012$) and in the AR+CHIKF Group with the factors arthralgia ($p: 0.0001$), neck pain ($p < 0.0001$), shoulder ($p < 0.0001$), elbow ($p < 0.0001$), wrist and fingers ($p < 0.0001$), hip ($p < 0.0001$), knee pain ($p: 0.0349$), pain intensity ($p < 0.0001$), rheumatoid factor ($p < 0.0001$), RDW ($p < 0.0001$), basophils ($p: 0.0104$), lymphocytes ($p: 0.0351$) and monocytes ($p: 0.0286$). We found no association of any of the factors in the RA

group. In conclusion, clinical (exacerbation of joint pain) and laboratory factors (increased rheumatoid factor and white blood cells) were associated with positivity for anti-CHIKV (IgG) in patients with preexisting autoimmune rheumatoid arthritis, further showing that these patients are more susceptible the worsening of rheumatological changes, compared to patients with CHIKF and RA. We suggest further studies that contribute to the knowledge of the factors that aggravate CHIKF in patients with RA.

Keywords: Chikungunya fever; Epidemiology of Chikungunya Fever; Risk factors for CHIKF, autoimmune rheumatoid arthritis.

INTRODUCTION

Chikungunya virus (CHIKV) infection can develop persistent joint pain and interfere with the quality of life of those affected (VAIRO et al., 2019). However, in individuals with pre-existing rheumatoid arthritis (RA) who are positive for anti-CHIKV (IgG), there is no clear information regarding factors of severity of CHIKF in RA, with only suggestions of the possibility of immunopathogenic actions if relate to joint damage (BURT et al., 2014; DEEBA et al., 2016; RODRIGUEZ-MORALES et al., 2016; MARTI-CARVAJAL ET AL., 2017; PATHAK, MOHAN, RAVINDRAN, 2019; ANJOS et al., 2020; AMARAL, BILSBORROW, SCHOEN, 2020).

The inflammatory response during CHIKV infection is similar to that of RA, with similar patterns of leukocyte infiltration, cytokine production and complement system activation (BURT et al., 2012; SCOTT et al., 2010; NAKAYA et al., 2012; BURT et al. al., 2010; al., 2014). Several cytokines are shared with the tumor necrosis factor, interleukin 1, interleukin 6 and interleukin 17, being prolonged therapeutic targets during RA, proving to be important in the pathogenesis of CHIKF (BURT et al., 2014; CHEN et al., 2014). Thus, Burt et al. (2014) suggests that CHIKV infection can lead to an exacerbation or increased susceptibility of underlying RA and other joint diseases, corroborating with other studies that suggest this exacerbation in pre-existing joint pathologies after alpha virus infection (MYLONAS et al., 2002; SISSKO et al., 2009; CHEN et al., 2014).

Only immunopathogenic factors are suggested in RA patients after CHIKV infection (AMARAL, BILSBORROW, SCHOEN, 2020). However, in patients with only CHIKF or RA, studies have reported as factors for the acquisition and worsening of CHIKF, increasing age, sex, ethnicity, level of education, daily activities, climate variations, laboratory alterations (VASCONCELOS et al. , 1993; JOSSERAN et al., 2006; TANDALE et al., 2009; AAGAARD-HANSEN, et al., 2010; AYU et al., 2010; SOUMAHORO et al., 2010; HONORIO et al., 2015; CASTRO et al., 2016; GOUPIL, MORES, 2016; HIGUERA-MEDIETA et al., 2016; LIMA-CAMARA, 2016; KUAN et al., 2016; BRASIL, 2017; GROSSI-SOYSTER et al., 2017; VU, JUNGKIND, LABEAUD, 2017; DIAS et al. ., 2018 ; KOHLER et al., 2018; WHITEMANT et al., 2018; CAVALCANTI et al., 2019; ANJOS et al., 2020; QUEIROZ et al., 2020; BRAGA et al. ., 2021; REZENDE, 2021). Thus, needing more information about aggravating factors related to the influence of CHIKV on RA.

Due to the scarcity of information regarding CHIKF aggravating factors in RA patients, we conducted this research with the aim of describing and analyzing sociodemographic, behavioral, clinical and laboratory aggravating factors in patients with pre-existing RA with positivity for anti-CHIKV (IgG) compared to patients with only CHIKF and RA.

MATERIALS AND METHODS

Design, population and place of study

An analytical comparison study was carried out between three groups of patients: the first with patients in the chronic phase of CHIKF without rheumatoid arthritis, but with persistent rheumatological alterations after infection (CHIKV group), the second formed by patients with autoimmune rheumatoid arthritis and who Acquired CHIKF (AR+CHIKF group), and the third composed of patients with autoimmune rheumatoid arthritis only (AR group), all followed up at the Rheumatology Outpatient Clinic of the Hospital das Clínicas of the Federal University of Pernambuco (UFPE) from 2019 to 2020.

Inclusion criteria

Patients over 18 years of age, with a positive anti-CHIKV (IgG) test result, according to the Ministry of Health protocol, and diagnosed with autoimmune rheumatoid arthritis based on clinical criteria were included in the study.

Exclusion criteria

Patients who had other autoimmune diseases in addition to autoimmune rheumatoid arthritis and who had some rheumatological alteration before the diagnosis of CHIKF.

Data collection and samples

Each research participant signed, in two copies of equal content, the Free and Informed Consent Form (TCLE) for those over 18 years old. Then, 5 mL of blood were collected in a dry tube, and the samples were sent to the Virology Sector of LIKA/UFPE for processing and storage at -20°C until immunological tests were performed. Sociodemographic and behavioral data were obtained during the interview with the patient to complete the research form. Clinical and laboratory data were obtained from the participants' medical records. All patients reported having acquired the disease between 2014 and 2017 and were undergoing treatment. All patients were retested for anti-CHIKF (IgG).

Serology for anti-CHIKV (IgG)

The presence of anti-CHIKV (IgG) was investigated with commercial ELISA kits (EUROIMMUN®, from Perkin Elmer Company), strictly following the manufacturer's recommendations.

Statistical analysis

The association between categorical variables was performed using the chi-square and Fisher's exact tests. Distribution comparisons between two continuous variables were performed using the non-parametric method of Mann Whitney and for more than two samples of continuous variables the Kruskal Wallis method was applied. All results with p value <0.05 were indicative of statistical significance and 95% confidence intervals. For these analyses, the statistical programs Epi info version 7 and Graph Pad Prism version 9 were used.

Ethical considerations

The project was submitted and approved by the Ethics and Research Committee of the Federal University of Pernambuco (CEP/UFPE) with CAAE nº 17712619.5.0000.5208.

RESULT/DISCUSSION

The study included 160 patients (40 from the CHIKF group, 30 from the AR+CHIKF group, and 40 from the RA group) with a mean age of 54 years for the three study groups (CHIKF: 54.9 $\pm$ 11.6; AR + CHIKF: 54.7 $\pm$ 9.7; AR: 54.5 $\pm$ 13.7), the majority being female, mixed race, with elementary education, residing in the urban area. However, after carrying out the statistical tests, the variables gender, education, area inhabited, pain in the feet and ankles, stiffness after morning rest, duration of morning stiffness, use of prednisone, use of leflunomide and use of methotrexate were not statistically associated for any of the three groups.

Table 1 presents the sociodemographic, behavioral and clinical characteristics of the patients in the three studied groups: CHIKF, AR+CHIKF and AR.

Table 1. Sociodemographic, behavioral and clinical characteristics of the individuals in the three groups: CHIKF Group, AR+CHIKF and AR followed at the Rheumatology Outpatient Clinic of the Hospital das Clínicas of the Federal University of Pernambuco.

Características	Group CHIKVF (n=90)	Group AR+CHIKF (n=30)	Group AR (n=40)	*P value
Average Age (years)	54.9 $\pm$ 11.6	54.7 $\pm$ 9.7	54.5 $\pm$ 13.7	0.0909 ⁺

Sex Masculine Feminine	8 (8.79%) 82 (91.21%)	4 (13.33%) 26 (86.27%)	4 (10.0%) 36 (90.0%)	0.6201
ethnicity White brown black	35 (38.46%) 42 (47.25%) 13 (14.29%)	11 (36.67%) 1 (3.33%) 18 (60.0%)	9 (22.5%) 4 (10%) 27 (67.5%)	< 0.00011 [#]
level of education Elementary High School University education	40 (43.96%) 47 (52.75%) 3 (3.30%)	14 (46.67%) 14 (46.67%) 2 (6.67%)	17 (42.5%) 17 (42.5%) 6 (15%)	0.1902
Inhabited zone urban Rural	83 (92.31%) 7 (7.69%)	28 (93.33%) 2 (6.67%)	38 (95%) 2 (5%)	0.8530
Removal from activities Labor (work) Domestic Didn't have the routine affected	68 (75.82%) 20 (21.98%) 2 (2.20%)	13 (43.33%) 12 (40.0%) 5 (16.67%)	1 (2.5%) 1 (2.5%) 38 (95%)	< 0.0001
Arboviruses Dengue zika None	38 (42.86%) 6 (6.59%) 46 (50.55%)	12 (40%) 0 (0%) 18 (60%)	31 (77.5%) 1 (2.5%) 8 (20%)	0.0012
Had arthralgia Yes No	50 (56.04%) 40 (43.96%)	22 (73.33%) 8 (26.37%)	37 (92.5%) 3 (7.5%)	0.0001
Neck ache Yes No	3 (3.30%) 87 (96.7%)	30 (100%) 0 (0%)	10 (25%) 30 (75%)	< 0.0001
Shoulder pain Yes No	12 (13.19%) 78 (86.81%)	5 (16.67%) 25 (83.33%)	23 (57.5%) 17 (42.50%)	< 0.0001
Elbow pain Yes No	5 (5.49%) 85 (94.51%)	30 (100%) 0 (0%)	11 (27.5%) 29 (72.5%)	< 0.0001
Pain in wrist and finger regions Yes No	87 (96.7%) 3 (3.30%)	27 (90%) 3 (10%)	26 (65%) 14 (35%)	< 0.0001
Hip pain Yes No	4 (4.4%) 86 (95.6%)	5 (16.67%) 25 (83.33%)	18 (45%) 22 (55%)	< 0.0001
Pain in the knees Yes No	38 (41.76%) 52 (58.24%)	8 (26.67%) 22 (73.33%)	23 (57.5%) 17 (42.5%)	0.0349
Pain in feet and ankles Yes No	58 (63.74%) 32 (36.26%)	24 (80%) 6 (20%)	25 (62.5%) 15 (37.5%)	0.2324

Intensity of pain* Light moderate Strong	30 (32.97%) 43 (48.35%) 17 (18.68%)	13 (43.33%) 13 (43.33%) 4 (13.33%)	1 (2.5%) 37 (92.5%) 2 (5%)	< 0.0001
Stiffness after morning rest Yes No	58 (64.84%) 32 (35.16%)	17 (56.67%) 13 (43.33%)	19 (47.5%) 21 (52.5%)	0.1876
Rigidity Duration < 30 minutes 30 to 60 minutes 60 minutes does not present	30 (33.3%) 7 (7.78%) 21 (24.44%) 32 (35.16%)	4 (13.33%) 3 (10.0%) 10 (33.33%) 13 (43.33%)	7 (17.5%) 1 (2.5%) 11 (27.5%) 21 (52.5%)	0.1529
Takes Predinison Yes No	25 (27.47%) 65 (72.53%)	8 (26.67%) 22 (73.33%)	19 (47.5%) 21 (52.5%)	0.0645
Makes use of methotrexate Yes No	37 (40.66%) 53 (59.34%)	8 (26.67%) 22 (73.33%)	21 (53.85%) 18 (46.15%)	0.0753
Makes use of leflunomide Yes No	36 (40%) 54 (60%)	9 (30.0%) 21 (70.0%)	15 (37.5%) 25 (62.5%)	0.6188
Makes use of hydroxychloroquine Yes No	11 (12.09) 79 (87.81%)	4 (13.33%) 26 (86.67%)	3 (7.5%) 37 (92.5%)	0.6774

*P value; #Test chi Chi-square; +Kruskal wallis test. ** CHIKV group: Patient with CHIKF in the chronic phase without rheumatoid arthritis with rheumatological alterations resulting from CHIKF infection. *** RA+CHIKF group: Patients with autoimmune rheumatoid arthritis who developed CHIKF. **** RA group: Patients with autoimmune arthritis who did not have CHIKF.

In the world, the serum prevalence of anti-CHIKV (IgG) varies according to the geographic area due to several factors, such as the strength of the epidemic and the seasonal variations of the climate that differ by region (SERGON et al., 2008; AYU et al., 2010; GROSSI-SOYSTER et al; 2017). In our study, we found an anti-CHIKF (IgG) seroprevalence of 18.75% (30/160) in patients with pre-existing RA (RA+CHIKF group). There are no studies on the prevalence of CHIKF in RA and aggravating factors, but in individuals with CHIKF, we found a prevalence of 56.25% (90/160), approaching the findings of Braga et al. (2021) of 70.7% in Ceará, and 57% in Bahia by Dias et al. (2018). These prevalences can be explained by the situations of each region where they occur, such as poor health, low educational level and seasonal differences in climate (ANJOS et al., 2020).

In our research, we found no association between the sex factor in any of the groups analyzed, however, we identified a frequency of seroprevalence of anti-CHIKV (IgG) in females of 75% (120/160). approaching the findings of Kolher et al. (2018) who also found a higher seroprevalence of anti-CHIKV (IgG) in females of 83.9% in Rio de Janeiro. These findings can be explained by the fact that women spend more time at home or in places where mosquitoes circulate (VASCONCELOS et. al., 1993; BRAGA et al., 2021). Furthermore, women are twice as likely to acquire RA compared to men. therefore, if there is CHIKF infection in women with RA. there may be an exacerbation of CHIKV infection due to similarities between CHIKF and RA (BURT et al., 2014).

Regarding age, we found an average of 54 years old, corroborating data from Braga et al. (2021) and Kohler et al. (2018) ranging from 31 to 60 years and from 50 to 69 years, respectively. Although it was not statistically significant in our studied groups, it is noteworthy that individuals over 50 years of age may have weaker immunity and a greater possibility of acquiring diseases than the younger population, in addition to being a reported aggravation factor for individuals with CHIKF or AR (AMARAL, BILSRROW, SCHOEN, 2020).

The brown ethnicity was statistically significant with a p value < 0.00011 , being associated with the CHIKV group. Our data corroborate those of Cavalcanti et al. (2019), Anjos et al., (2020) and Braga et al., (2021) who conducted a study with CHIKF and detected a higher frequency in individuals who self-declared of mixed ethnicity. This finding can also be explained by the fact that the majority of the Brazilian population is self-declared brown, according to IBGE (2019). In view of this, as CHIKF can be detected in different regions and, consequently, in people of different ethnicities, we emphasize our finding even more.

Regarding the level of education, we found no association with any of the three groups studied. However, most individuals had primary education, corroborating the studies by Ayu et al. (2010) and Braga et al. (2021) who also reported in their studies the presence of individuals with the same level of education. However, according to Higuera-Medieta et al., (2016) and Whitemant al., (2018), having low levels of education makes individuals more susceptible to acquiring CHIKV infection, since they may have limitations to understand and act based on

information on preventive measures from CHIKF. In addition to living in places with water accumulation and socioeconomic vulnerability associated with the increased incidence of CHIKF, as reported in the studies by Kuan et al. (2016), Grossi-Soyster et al., (2017) and Braga et al., (2021).

As for behavioral variables, absence from work was statistically significant ($p < 0.0001$) in individuals belonging to the CHIKV group, which can be explained by the fact that after infection with CHIKV, there is joint involvement, promoting a significant impact on the individual's quality of life, leading to physical and work disability (SOUMAHORO et al., 2009). On the other hand, studies have reported that housewives (AYU et al., 2010) and unemployed people (SISSKO et al., 2008) have higher anti-CHIKV (IgG) positivity, which can be explained by the fact that these individuals spend more time indoors or in environments with high exposure to arbovirus vectors (MARTINS et al., 2010).

The variable arboviruses (dengue) was statistically significant ($p < 0.0012$) in the CHIKF group, corroborating the study by Anjos et al. (2020) who found a prevalence of 41.14% (83/209) of anti-CHIKV (IgG) in individuals who reported having already had infection with another arbovirus. These findings may be related to infestation levels, diversity of *Aedes* spp. species, local geographic and climatic conditions, CHIKV strain circulating in the region and the interaction of the vector when co-infected with other arboviruses such as dengue and Zika (MARTINS et al., 2010; HIGUERA-MEDIETA et al., 2016; ANJOS et al., 2020).

The pain intensity variable was statistically significant in the RA+CHIKV group, in patients with moderate pain ($p < 0.0001$). According to the Brazilian Ministry of Health, pain in CHIKF is considered the fifth vital sign, with the need to record the intensity of pain, either at an outpatient or hospital level (BRASIL. 2017). Therefore, we can emphasize that the fact that patients who had pre-existing RA and were infected by CHIKV may contribute to an increase in the intensity of joint pain, in addition, Burt et al. (2014) reported in their study that CHIKV infection in patients with pre-existing arthritis can exacerbate the disease.

Related to clinical factors in our study, we found an association between the persistence and severity of joint pain with anti-CHIKF (IgG) positivity in individuals with pre-existing RA, where patients in the RA+CHIKV group showed a significant

association with the persistence of pain in the neck, shoulders, elbows, wrist and finger region, hips ($p < 0.0001$) and knees ($p: < 0.0349$), compared with patients in the RA group. This association can be explained by the fact that, in the chronic phase of CHIKF, severe arthralgia persists for more than two weeks or months after the initial infection, compromising the quality of life of affected patients (HONÓRIO et al., 2015; CASTRO et al. al., 2016; GOUPIL. MORES. 2016). It is noteworthy that there are several causes of chronic arthralgia. such as: genetic predisposition, viral persistence, joint tissue damage caused by CHIKV, induction of autoimmune disease, action of immunopathogenic factors such as cytokines and chemokines (BURT et al., 2014; GOUPIL, MORE, 2016; MCCARTHY, MORISSON, 2016; AMARAL, BILSRROW, SCHOEN, 2020). Although there are only suggestions of immunological actions as aggravating factors related to the severity of CHIKF in patients with pre-existing RA.

In our laboratory analysis (Table 2), the AR+CHIKF group showed a significant association between positivity for anti-CHIKV (IgG) and RDW counts ($p: < 0.0001$), monocytes ($p: 0.0286$), basophils ($p: 0.0104$), lymphocytes ($p: 0.0351$) and rheumatoid factor ($p: < 0.0001$), which can be explained by the fact that RA is a severe joint disease with the acquisition of CHIKF, there may be an increase in the severity of pain and swelling, due to the actions of cytokines and chemokines, in addition to the appearance of rheumatoid factor due to joint destruction, thus favoring the recruitment of leukocytes at the site of inflammation and an increase in RDW (RODRIGUEZ-CARRIO et al., 2015; YUNCHUN et al., 2016; HE et al., 2018).

Table 2 Medianlaboratory data ofindividualsbelongingtotheGroups: CHIKF, RA+CHIKF and RA followedattheRheumatologyoutpatientclinicofthe Hospital das Clínicas ofthe Federal Universityof Pernambuco from 2018 to 2020.

Variable	*Group CHIKF (n=90)	**Group AR+CHIKF (n=30)	***Group AR (n=40)	****P value
Median C-ReactiveProtein (CRP)	0.1 (0 - 2.66)	0.09 (0- 4)	0.1 (0 – 4)	0.4900
Rheumatoid Factor	0.1 (0 - 39.7)	23.5 (0 – 721)	41.5 (0 – 307.8)	<0.0001
RedCells	4.56 (3.05 – 5.96)	4.58 (3.72-5.05)	4.46 (3.44 – 5.96)	0.3296

Hemoglobin	13.5 (4.53 – 16.6)	13.45 (9.06 – 15.8)	13.2 (9.9 – 15.6)	0.2683
Hematocrit	40.7 (13.9 – 48.2)	40.5 (31.6 – 48)	40.4 (30.7 – 48.6)	0.9415
Mean Corpuscular Volume (MCV)	88.30 (39.2 – 100)	89.05 (65.2 – 96.7)	91.25 (70.4 – 107.5)	0.5181
Mean Corpuscular Hemoglobin (MCH)	30.1 (22.6 – 91.3)	29.75 (18.2 – 32.9)	30.3 (22.9 – 35.7)	0.4658
Mean Corpuscular Hemoglobin Concentration (CHCM)	33.5 (10.7 – 36.2)	32.96 (28.7 – 35.1)	33 (31.3 – 35.1)	0.0577
Red Cell Distribution Width (RDW)	12.3 (10.7 – 33.7)	13 (11 – 16.4)	13.2 (11.4 – 23.9)	< 0.0001
Leukocytes	6.81 (3.12 – 13)	7.37 (2.52 – 13.9)	6.14 (3.12 – 63.4)	0.2743
Neutrophils	52.40 (6.78 – 90)	54.25 (35.10 – 84.20)	52.40 (3.23 – 77.7)	0.1525
Eosinophils	2.12 (0.01 – 56.5)	2.63 (0.07 – 9.73)	2.2 (0.1 – 11.5)	0.9821
Basophils	0.99 (0 – 29.2)	0.83 (0.1 – 2.05)	0.54 (0 – 2.05)	0.0104
Lymphocytes	32.10 (1.09 – 53.70)	29.5 (11.9 – 53.70)	30.3 (10.2 – 46.9)	0.0351
Monocytes	7.98 (1 – 16.4)	7.95 (4.33 – 17.1)	9.19 (4.11 – 13.9)	0.0286
Platelets	221000 (133000 – 377000)	238000 (108000 – 466000)	242000 (115000 – 508000)	0.0660

*CHIKV group: Patient with CHIKF in the chronic phase without rheumatoid arthritis with rheumatologic alterations resulting from CHIKV infection. ** RA+CHIKF group: Patients with autoimmune rheumatoid arthritis who developed CHIKF. *** RA group: Patients with autoimmune arthritis who did not have CHIKF. ****p value.

Another fact that can be explained by the association found with the RDW index is that joint inflammation causes interference in erythropoiesis, mediated by inflammatory cytokines, where IL-6, which is a cytokine involved in the joint inflammatory process in both CHIKF and AR is positively related to RDW, as the

higher the plasma concentration, the greater the inflammation and consequently the greater impact on erythropoiesis (HORTA-BAAS, ROMERO-FIGUEROA, 2019).

In our study, we did not find statistical significance in any of the groups analyzed with CRP, corroborating the data received by Genaro et al. (2020) who evaluated 106 patients in the chronic phase of CHIKF and found no statistical significance in relation to C-Reactive Protein (CRP). However, it is noteworthy that CRP in the acute phase of CHIKF was described in the study by Anfasa et al (2017) with high levels during the epidemic that occurred between 2014 and 2015 in Curaçao, Iceland. Also, Genaro et al., (2020) reported that the increase in CRP during the acute phase predisposes the patient to chronicity as it is an inflammation marker.

In the acute phase of CHIKF, through blood count. changes in leukocytes in the blood of affected patients can be observed (ROQUES et al., 2018). However, our study carried out in the chronic phase found significance with lymphocyte levels ($p=0.0351$). basophils ($p=0.0104$) and monocytes ($p=0.0286$), which can be explained by the fact that there was joint inflammation in the tissues of patients in all studied groups.

CONCLUSION

In conclusion, we saw that clinical factor through exacerbation of joint pain, and laboratory factors through increased rheumatoid factor and white blood cells, were associated with positivity for anti-CHIKV (IgG) in patients with preexisting autoimmune rheumatoid arthritis, further suggesting that these patients are more susceptible to the worsening of rheumatological alterations, compared to patients with only CHIKF and RA. We suggest further studies to contribute to the knowledge of the factors that aggravate CHIKF in patients with pre-existing RA.

REFERENCES

Vairo F, Haider N, Kock R, Ntoumi F, Ippolito G, Zumla A (2019) Chikungunya Epidemiology. Pathogenesis. Clinical Features. Management. and Prevention. **Infect Dis Clin N Am** 33 1003–1025. <https://doi.org/10.1016/j.idc.2019.08.006>.

Deeba F, Islam A, Kazim SN, Naqvi IH, Broor S, Ahmed A, Parveen S (2016) Chikungunya virus: recent advances in epidemiology. host pathogen interaction and vaccine strategies. **Pathogens and disease**. v. 74. n. 3. p. 1–10.

Rodríguez-Morales AJ, Cardona-Ospina JA, URBANO-GARZÓN FS, HURTADO-ZAPATAJ S (2016) Prevalence of Post-Chikungunya Infection Chronic Inflammatory Arthritis: A Systematic Review and Meta-Analysis. **Arthritis Care & Research**. 68(12). 1849–1858. doi:10.1002/acr.22900 [PubMed: 27015439]

Marti-Carvajal A, Ramon-Pardo P, Javelle E, Simon F, Aldighieri S, Horvath H, et al. (2017) Interventions for treating patients with chikungunya virus infection-related rheumatic and musculoskeletal disorders: A systematic review. **PLoS ONE** 12(6): e0179028. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0179028>

Pathak H, Mohan MC, Ravindran V (2019) CHIKUNGUNYA ARTRITIS. *Clinical Medicine* Vol 19. No 5: 381–5.

Anjos RO, Mugabe VA, Moreira PSS, Carvalho CX, Portilho MM, Khouri R, Sacramento GA, Nery NRR JR, Reis MG, Kitron UD, Ko AI, Costa F, Ribeiro GS (2020) Transmission of Chikungunya Virus in an Urban Slum, Brazil. **Emerg Infect Dis**. Jul;26(7):1364-1373. doi: 10.3201/eid2607.190846. PMID: 32568045; PMCID: PMC7323528.

Aagaard-Hansen J, Nombela N, Alvar J (2010) Population movement: a key factor in the epidemiology of neglected tropical diseases. **Trop Med Int Health**. 15 (11): 1281-8. 10.1111 / j.1365-3156.2010.02629x.

Lima-Camara TN (2016) Emerging arboviruses and public health challenges in Brazil. **Revista de Saúde Pública.** 50. 36. <https://doi.org/10.1590/S1518-8787.2016050006791>

Queiroz JTM, Silva PN, Heller L (2020) Novos pressupostos para o saneamento no controle de arbovirose no Brasil. **Cadernos de Saúde Pública.** 36(5). e00223719. <https://doi.org/10.1590/0102-311x00223719>.

Burt FJ, Rolph MS, Rulli NE, Mahalingam S, Heise MT. (2012) Chikungunya: a re-emerging virus. **Lancet**; 379: 662–71.

Scott DL, Wolfe F, Huizinga TW. (2010). Rheumatoid arthritis. **Lancet**; 376: 1094–108

Nakaya HI, Gardner J, Poo YS, Major L, Pulendran B, Suhrbier A (2012) Gene profiling of Chikungunya virus arthritis in a mouse model reveals significant overlap with rheumatoid arthritis. **Arthritis Rheum**; 64: 3553–63.

Burt F, Chen W, Mahalingam S (2014) Chikungunya virus and arthritic disease. **LANCET INFECT DIS** 9:789-90. [https://doi: 10.1016/S1473-3099\(14\)70869-2](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(14)70869-2).

Chen W, Foo SS, Sims NA, Herrero LJ, Walsh NC, Mahalingam S (2015) Arthritogenic alphaviruses: new insights into arthritis and bone pathology. **Trends Microbiol.** Jan;23(1):35-43. doi: 10.1016/j.tim.2014.09.005. Epub 2014 Oct 30. PMID: 25449049.

Mylonas AD, Brown AM, Carthew TL et al (2002) Natural history of Ross River virus-induced epidemic polyarthritis. **Med J Aust**; 177: 356–60.

Sissoko D, Malvy D, Ezzedine K, et al (2009) Post-epidemic Chikungunya disease on Reunion Island: course of rheumatic manifestations and associated factors over a 15-month period. **PLoS Negl Trop Dis**; 3: e389

Vasconcelos PFC, Travassos Da Rosa ES, Travassos Da Rosa JFS, Freitas RB, Dégallier N, Rodrigues SG, Travassos Da Rosa APA (1993) Epidemia de febre clássica de dengue causada pelo sorotipo 2 em Araguaiana. Tocantins. Brasil. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo** 35(2). 141–148. <https://doi.org/10.1590/S0036-46651993000200005>.

Josseran L, Paquet C, Zehgnoun A, Caillere N, Le Tertre A, Solet JL, Ledrans M (2006) Chikungunya disease outbreak. Reunion Island. **Emerg Infect Dis.** Dec;12(12):1994–5. doi: 10.3201/eid1212.060710. PMID: 17354339; PMCID: PMC3291364.

Tandale BV, Sathe PS, Arankalle VA et al. (2009) Systemic involvements and fatalities during Chikungunya epidemic in India. 2006. **J Clin Virol** 46:145–9

Ayu SM, Lai LR, Chan YF, Hatim A, Hairi NN, Ayob A, Sam IC (2010) Seroprevalence survey of chikungunya virus in Bagan Panchor. Malaysia. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene.** 83(6). 1245–1248. <https://doi.org/10.4269/ajtmh.2010.10-0279>

Martins VE, Alencar CHM, Facó PEG, Dutra RF, Alves CR, Pontes RJS, Guedes MIF. (2010). Distribuição espacial e características dos criadouros de *Aedes albopictus* e *Aedes aegypti* em Fortaleza. Estado do Ceará. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical.** 43(1). 73–77. <https://doi.org/10.1590/S0037-86822010000100016>

McCarthy MK, Morrison TE (2016) Chronic chikungunya virus musculoskeletal disease: what are the underlying mechanisms? **Future Microbiol.**; 11(3):331–4.

Rodríguez-Carrio J, Alperi-López M, Alonso-Castro S, et al (2015) Red cell distribution width is associated with cardiovascular risk and disease parameters in rheumatoid arthritis *rheumatology (Oxford)*. 54: 641–6.

Yunchun L, Yue W, Jun FZ, et al (2016) Clinical significance of red blood cell distribution width and inflammatory factors for the disease activity in rheumatoid arthritis. **Clin Lab.**; 62:2327-31.

He Y, Liu C, Zeng Z, et al. (2018) Red blood cell distribution width: a potential laboratory parameter for monitoring inflammation in rheumatoid arthritis. **Clin Rheumatol.**; 37: 161-7.

Horta-Baas G, Romero-Figueroa MDS (2019) Clinical utility of red blood cell distribution width in inflammatory and non-inflammatory joint diseases. **Int J Rheum Dis.**; 22: 47-54.

Genaro MSA, DeMarchi MS; Perin MY, COSSO SLHESSARENKO ISE, FERRITIN RD (2020) Erythrocyte Sedimentation Rate. and C-Reactive Protein Level in Patients with Chikungunya-Induced Chronic Polyarthritis. **Am. J. Trop. Med. Hyg.**. 103(5) pp. 2077–2082 doi:10.4269/ajtmh.20-0066.

Anfasa F, Provacia L, Geurtsvankessel C, Wever R, Gerstenbluth I, Osterhaus AD, Martina BE (2017) Hiperferritinemia is a potential marker of chronic chikungunya: a retrospective study on the Island of Curaçao during the 2014–2015 outbreak. **J Clin Virol** 86: 31–38.

Roques P, Thiberville SD, Dupuis-Maguiraga L, Lum FM, Labadie K, Martinon F, Gras G, Lebon P, Ng LFP, DeLamballerie X, Le Grand R (2018) Paradoxical Effect of Chloroquine Treatment in Enhancing Chikungunya Virus Infection. **Viruses**. May 17;10(5):268. doi: 10.3390/v10050268. PMID: 29772762; PMCID: PMC5977261.

Soumahoro MK, Fontenille D, Turbelin C, Pelat C, Boyd A, Flahault A, Hanslik T (2010) Imported chikungunya virus infection. **Emerg Infect Dis** Jan;16(1):162-3. doi: 10.3201/eid1601.080776. PMID: 20031074; PMCID: PMC2874343.

Honório NA, Câmara DC, Calvet GA, Brasil P (2015) Chikungunya: an arbovirus infection in the process of establishment and expansion in Brazil. *Cad Saúde Pública*. 31(5):906-8.

Castro APCR, Lima RA, Nascimento JS (2016) Chikungunya: vision of the pain clinician. **Revista Dor**. 2016. São Paulo. 17 (4): 299-302.

Goupil BA, Mores CN (2016) A Review of Chikungunya Virus-induced Arthralgia: Clinical Manifestations. Therapeutics. and Pathogenesis. **Open Rheumatol J**. 30:129-140. doi: 10.2174/1874312901610010129

Higuera-Mendieta DR, Cortés-Corrales S, Quintero J, González-Urbe C (2016) KAP Surveys and Dengue Control in Colombia: Disentangling the Effect of Sociodemographic Factors Using Multiple Correspondence Analysis. **PLoS Negl Trop Dis**. Sep 28;10(9):e0005016. doi: 10.1371/journal.pntd.0005016. PMID: 27682141; PMCID: PMC5040257.

Kuan G, Ramirez S, Gresh L, Ojeda S, Melendez M, Sanchez N, Collado D, Garcia N, Mercado JC, Gordon A, Balmaseda A, Harris E (2016) Seroprevalence of anti-chikungunya virus antibodies in children and adults in Managua, Nicaragua, after the first chikungunya epidemic, 2014-2015. **PLoS Neglected Tropical Diseases**. 10(6). e0004773. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0004773>

Brasil. MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Departamento de Vigilância das Doenças Transmissíveis. Chikungunya: manejo clínico – Brasília: 2017. 65 p.: il. Acesso em: ISBN 978-85-334-2494-4.**

Grossi-Soyster E, Cook EAJ, DeGlanville WA, Thomas LF, Krystosik AR, Lee J, Wamae CN, Kariuki S, Fèvre EM, Labeaud AD (2017) Serological and spatial analysis of alphavirus and flavivirus prevalence and risk factors in a rural community in western Kenya. **PLOS Neglected Tropical Diseases**. 11(10). e0005998. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0005998>.

Vu DM, Jungkind D, Angelle Desiree Labeaud (2017) Chikungunya Virus. **Clin Lab Med.** Jun;37(2):371-382. doi: 10.1016/j.cll.2017.01.008. Epub 2017 Mar 27. PMID: 28457355; PMCID: PMC5469677.

Dias JP, Costa MCN, Campos GS, Paixao ES, Natividade MS, Barreto FR, et al (2018) Seroprevalence of chikungunya virus after its emergence in Brazil. **Emerg Infect Dis.**; 24:617–24. <https://doi.org/10.3201/eid2404.171370>.

Kohler LI, Azevedo J, Lima MA, Marinho RA et al (2018) Perfil epidemiológico dos pacientes com evolução subaguda e crônica de infecção por Chikungunya. **Ver Soc Bras Clin Med** jan-mar;16(1):13-7. ISSN: 2525-2933.

Whiteman A, Mejia A, Hernandez I, Loaiza JR (2018) Socioeconomic and demographic predictors of resident knowledge, attitude, and practice regarding arthropod borne viruses in Panama. **BMC Public Health.** 18:1261. <https://doi.org/10.1186/s12889-018-6172-4>.

Cavalcanti NG, Melovilar K, Duarte ALBP, De Melo Rego MJB, Pereira MC, Da Rocha Pitta I, et al. (2019) IL-27 in patients with Chikungunya fever: a possible chronicity biomarker? **Acta Trop** 196:48–51. doi: 10.1016/j.acta tropica.2019.05.005.

Braga DAO, Barreto FKA, Paiva CN, Ramalho ILC, Cavalcanti LPG, Alencar CH (2021) Seroepidemiological survey on chikungunya in endemic zones for arboviruses in Brazil. 2019. **Zoonoses Public Health.** Dec;68(8):955-964. doi: 10.1111/zph.12888. Epub Sep 1. PMID: 34472209.

Rezende RB (2021) Análise epidemiológica das arboviroses emergentes e reemergentes no Brasil entre os anos de 2019 e 2020. **Research. Society and Development.** v. 10. n. 2. e33010212611. DOI: <http://dx.doi.org/10.33448/rsd-v10i2.12611>.

Sergon K,Njuguna C,Kalani R,Ofula V,OnyangoC,KonongoLS,Bedno S, Burke H,Dumilla AM,Konde J,NjengaMK, Sang R,Breiman RF (2008) Seroprevalence of Chikungunya virus (CHIKV) infection on Lamu Island. Kenya. October. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**. v. 78. n. 2. p. 333–337.

IBGE (2010) Synopsis of the 2010 Population Census (Pernambuco). **IBGE Brazilian Institute of Geography and Statistics**. <https://censo2010.ibge.gov.br/sinopse/index.php?dados=210&uf=26>. Accessed 19 November 2022.

APENDICE D - Artigo 2 em inglês

SYNERGISM BETWEEN CHIKUNGUNYA VIRUS INFECTION AND RHEUMATOID ARTHRITIS ON CYTOKINE LEVELS: CLINICAL IMPLICATIONS?

Luan Araújo Bezerra^{1,2*}; Yan Charles da Silva Bastos^{1,2*}; Juliana Prado Gonçalves^{2,3}, José Valter Joaquim Silva Júnior^{2,4,5}; Virgínia Maria Barros de Lorena⁶; Angela Luzia Branco Pinto Duarte⁷; Claudia Diniz Lopes Marques⁷; Maria Rosângela Cunha Duarte Coêlho^{1,2,8•}

¹Graduate Program in Tropical Medicine, Federal University of Pernambuco, Pernambuco, Brazil

²Virology Sector, Keizo Asami Institute, Federal University of Pernambuco, Pernambuco, Brazil

³SER Educational Group, Pernambuco, Brazil

⁴Virology Sector, Department of Preventive Veterinary Medicine, Center for Rural Sciences, Federal University of Santa Maria, Rio Grande do Sul, Brazil

⁵Department of Clinical Analysis, Health Sciences Center, Federal University of Santa Maria, Rio Grande do Sul, Brazil

⁶Immunoparasitology Laboratory, Aggeu Magalhães Institute, Oswaldo Cruz Foundation, Pernambuco, Brazil

⁷Rheumatology Service, Clinical Hospital, Federal University of Pernambuco, Pernambuco, Brazil

⁸Department of Physiology and Pharmacology, Biosciences Center, Federal University of Pernambuco, Pernambuco, Brazil

*These authors contributed equally to this work

•Correspondingauthor: Maria Rosângela Cunha Duarte Coêlho. Setor de Virologia, Instituto Keizo Asami, Universidade Federal de Pernambuco, address: Av. Prof. Moraes Rego, s/n. Cidade Universitária, 50.670-901, Recife, Pernambuco, Brazil. E-mail: rcoelholika@gmail.com.

Acknowledgment

The authors thank the patients who agreed to participate and collaborate with the study.

Funding

LAB thanksthe*Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior* (CAPES) (Brazil) and*Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico* (CNPq) (Brazil) for herscholarship. YCSB thanks the CNPq (Brazil) for her scholarship. JVJSJr was supported by *Financiadora de Estudos e Projetos* (FINEP) DTI-A-1. MRCDC was supported by CNPq research fellowship.

Abstract

Chronic post-
chikungunyaarthritissharesseveralimmunopathogenicmechanismswithrheumatoidarth

arthritis (RA), which has led to discussions about the probable relationship between the two diseases. Indeed, some studies have suggested a role for chikungunya virus (CHIKV) infection in the development of RA. However, as far as we know, the influence of CHIKV on prior RA has not yet been demonstrated. Here, we analyzed the potential synergism between CHIKV infection and RA on cytokine and chemokine levels. For this, we compared the levels of IL-1 β , IL-6, IL-10, IL-17A, CCL2, CXCL8, CXCL9 and CXCL10, in addition to rheumatoid factor (RF) and C-reactive protein (CRP), in patients with alterations post-CHIKV rheumatologic disorders (called the CHIKV group), RA-only patients (RA-CHIKV group), and RA patients who were subsequently infected with CHIKV (RA-CHIKV). History of CHIKV infection was confirmed by serology (IgG, ELISA). Cytokines/chemokines were quantified by flow cytometry. RF, CRP, age and sex data were obtained from medical records. Levels of IL-1 β , IL-6, IL-10 and IL-17A were significantly higher in RA-CHIKV compared to the other groups. CXCL8 levels were higher in the CHIKV group than in the RA group. CXCL9 was higher in the CHIKV than in the RA-CHIKV group. CXCL10 was higher in CHIKV than in other groups. RF levels were higher in RA than in CHIKV group, and in RA-CHIKV than in CHIKV. No significant difference was observed in CCL2 and CRP, as well as in age and sex. Finally, our findings suggest an interaction between CHIKV infection and RA, which should be analyzed for its possible clinical impact.

Keywords: polyarthralgia; CHIKV; rheumatoid arthritis; IL-1 β ; IL-6; IL-10; IL-17A.

INTRODUCTION

CHIKV, genus Alphavirus, family Togaviridae, is an arbovirus transmitted mainly by infected females of *Aedes aegypti* and *Ae. albopictus* (SILVA JUNIOR et al., 2018; ICTV, 2021). CHIKV infections are often symptomatic, with 3-28% of individuals asymptomatic. In symptomatic patients, chikungunya fever (CHIKF) is characterized mainly by sudden high fever (> 39°C) and joint pain, although other signs and symptoms may be observed, such as headache, myalgia,

nausea, vomiting and maculopapular rash (STAPLES, SUSAN, ANN, 2020). Rare complications have also been associated with CHIKV infection, such as myocarditis, uveitis, retinitis, acute kidney disease, myelitis, meningoencephalitis, and Guillain-Barré syndrome (MAHENDRADAS, AVADHANI, SHETTY, 2013; CROSBY et al., 2016; MEHTA et al., 2018; STAPLES, SUSAN, ANN, 2020).

It is estimated that up to 88% of CHIKV-positive patients may have arthralgia that persists for a month after the onset of symptoms. In addition, approximately 14% of acute chikungunya cases progress to chronic arthritis, which has been frequently reported in elderly patients (> 60 years), individuals with high viral load in the acute phase (up to 10¹⁰ virus per milliliter of blood), and in those with a robust immune response (HOARAU et al., 2010; RODRÍGUEZ-MORALES et al., 2016). Potential causes of CHIKV-induced chronic arthritis also include persistence of viral antigen, induction of autoimmune disease, and exacerbation of pre-existing joint disease.

Interestingly, post-CHIKV chronic arthritis has clinical similarities with rheumatoid arthritis (RA), mimicking it: for example, both diseases can lead to joint effusions, bone erosions, bone marrow edema, synovial thickening, tendinitis, tenosynovitis and are more common in age and female patients (AMARAL, BILSBORROW, SCHOEN, 2020). In addition to clinical aspects, CHIKV-induced chronic arthritis and RA share some pathogenic pathways, such as an imbalance in the immune response exemplified by elevated levels of IL-1 β , TNF, CCL2 and IL-6 (KOCH et al., 1992; HARIGAI et al., 1993; CHOW et al., 2011; MCINNES, SCHETT, 2011; NINLA-AESONG, MITARNUNNOIPHA, 2019; FERREIRA et al., 2021) [12-17]. The similarity between post-CHIKV chronic arthritis and RA was also demonstrated in an animal model (NAKAYA et al., 2012). A likely consequence of the pathogenic overlap between chronic arthritis induced by CHIKV and RA would be the cause and effect relationship between them. In fact, some authors have suggested a probable influence of CHIKV infection on the development of RA (FOURIE, MORRISON, 1979; BOUQUILLARD, COMBE, 2009). On the other hand, as far as we know, the influence of CHIKV infection on previous RA has not yet been demonstrated.

Considering the above context, we hypothesize an immunopathogenic synergism between CHIKV infection in RA. This possibility is in line with that raised by Burt et al. (2014), who suggest that CHIKV infection can lead to exacerbation (or

increased susceptibility) of underlying RA and other joint diseases. Therefore, to contribute to studies on the relationship between CHIKV and RA, we compared cytokine and chemokine levels in post-CHIKV chronic arthritis patients, RA patients, and patients with prior RA who were subsequently infected with CHIKV. Specifically, we analyzed IL-1 β , IL-6, IL-10, IL-17A, CCL2, CXCL8, CXCL9 and CXCL10, which were previously associated with the severity and/or duration of symptoms related to CHIKV and RA infection (KOCH et al., 1992; HARIGAI et al., 1993; MCINNES, SCHETT, 2011; FERREIRA et al., 2021; KATSIKIS et al., 1994; LEE et al., 2012; DOMENICANTONIO, 2014; MAGYARI et al., 2014; HERNÁNDEZ -BELLO et al., 2017; LEE et al., 2017; PANDYA et al., 2017; NINLA-AESONG, MITARNUNNOIPHA, 2019; PAPARO, 2019; LIN et al., 2020; JACOB-NASCIMENTO et al., 2021; NRAS, 2022). In addition, we also compared rheumatoid factor (RF) and C-reactive protein (CRP) levels between groups. Finally, we believe that the findings described here contribute to the understanding of the probable interaction between CHIKV and RA.

MATERIALS AND METHODS

Study design and population

An analytical cross-sectional study was carried out on the serum concentration of cytokines and chemokines in patients with chronic arthritis induced by CHIKV and/or RA followed at the Rheumatology Outpatient Clinic of the Hospital das Clínicas of the Federal University of Pernambuco (Federal University of Pernambuco, UFPE), Recife, Brazil, from December 2018 to February 2020. Patients were grouped according to RA diagnosis and history of CHIKV infection: patients with post-CHIKV polyarthralgia (named CHIKV group); RA patients with negative serology for CHIKV (RA group); and patients with previous RA who subsequently became infected with CHIKV (positive serology) (AR-CHIKV group). It is important to highlight that patients with positive serology were previously diagnosed for CHIKV infection (acute phase) between 2015 and 2017.

Sociodemographic data (age and sex) and laboratory data (RF and CRP) were obtained from the medical records. The study was approved by the Research Ethics Committee of the Health Sciences Center at UFPE (protocol 17712619.5.0000.5208).

CHIKV serology and cytokine dosage

Serology for CHIKV (IgG) was performed at the Virology Sector of Instituto Keizo Asami (iLIKA) (UFPE) using a commercial kit (EUROIMMUN®), according to the manufacturer's instructions. The serum concentration of IL-1 β , IL-6, IL-10, IL-17A, CCL2, CXCL8, CXCL9 and CXCL10 was measured at the Immunopathology Laboratory of the Instituto Aggeu Magalhães (Instituto Aggeu Magalhães, IAM; Fundação Oswaldo Cruz, Fiocruz), by flow cytometry, using the Cytometric Bead Array (CBA) method (BD Bioscience, San Diego, California, USA), according to the manufacturer's instructions.

Statistical analysis

Gender and age analyzes were performed using the chi-square test (χ^2) and analysis of variance (ANOVA), respectively. Cytokine, chemokine, RF and CRP levels were analyzed using the D'Agostino-Pearson normality test, followed by the Kruskal-Wallis and Mann-Whitney tests. All analyzes were performed in GraphPad Prism v. 9.4.1, considering a confidence interval of 95% and $p < 0.05$.

RESULTS

We analyzed 44, 30 and 27 patients in the CHIKV, AR and AR-CHIKV groups, respectively. The mean ages were 56 ± 11.98 (CHIKV group), 59 ± 13.65 (AR group) and 54 ± 8.98 (AR-CHIKV group). In all groups, most patients analyzed were female: 39 (88.64%), 27 (90%) and 23 (85.19%) for CHIKV, RA and RA-CHIKV, respectively. No significant age and sex differences were observed (Table 1).

Table 1 Sociodemographic and laboratory data analyzed in the study.

Data	Groups		
	CHIKV (n = 44)	RA (n = 30)	RA-CHIKV (n = 27)
Social			
Age (mean)	56 ±11.98	59±13.65	54 ± 8.98
Sex			
Male	5 (11.36%)	3 (10%)	4 (14.81%)
Female	39 (88.64%)	27 (90%)	23 (85.19%)
Laboratory (median)^{##}			
Median C-reactive protein (mg/dL)	0.17 (0 - 2.3)	0.2 (0 - 4)	0.3 (0 - 2.2)
Median Rheumatoid factor (UI/mL)	0.1 (0 - 39.70) ^{**}	24.1(0 - 721.9) [*]	69.5 (0 - 307.8) [#]

Pacientes com sorologia positiva (IgG) para vírus chikungunya (grupo CHIKV); pacientes com artrite reumatoide, mas sorologia negativa para o vírus chikungunya (grupo AR); pacientes com artrite reumatóide prévia que se infectaram pelo vírus chikungunya(grupo RA-CHIKV). *p = 0,0192;

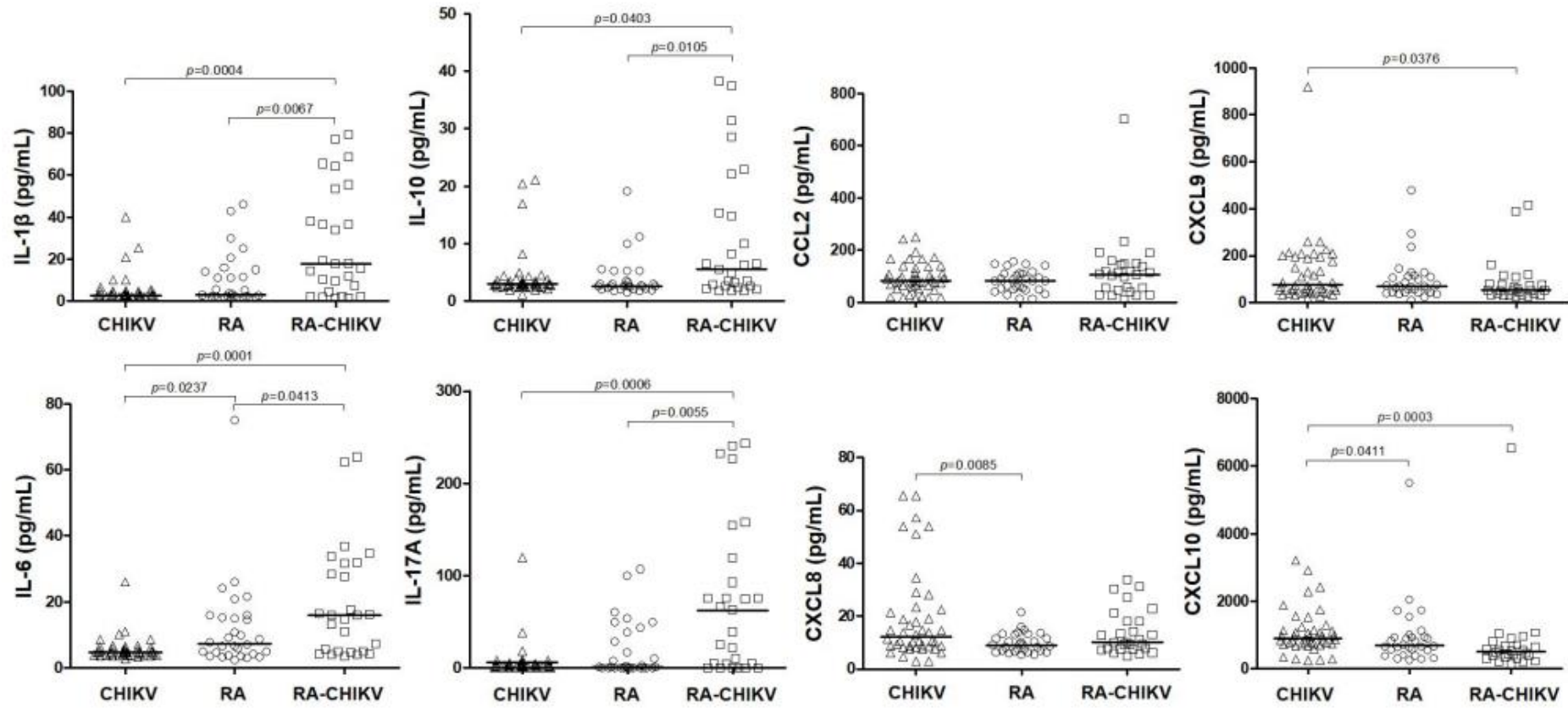
#p <0,001. ## p obtido pelo teste de Mann-Whitney

IL-1 β levels were significantly higher in the AR-CHIKV group compared to CHIKV (p = 0.0004) and AR (p = 0.0067). IL-6 also showed higher levels in AR-CHIKV compared to CHIKV and AR groups: p < 0.0001 and p = 0.0413, respectively. Furthermore, IL-6 was higher in the RA group than in the CHIKV group (p = 0.0237) (Figure 1). IL-10 and IL-17A were also significantly higher in AR-CHIKV than in the other groups: IL-10, RA-CHIKV vs. CHIKV (p = 0.0403) and AR-CHIKV vs. RA (p = 0.0105); IL-17A, RA-CHIKV vs. CHIKV (p = 0.0006) and RA-CHIKV vs. RA (p = 0.0055) (Figure 1).

CXCL8 levels were higher in the CHIKV group than in the RA group (p = 0.0085). CXCL9 was higher in the CHIKV than in the AR-CHIKV group (p = 0.0376) (Figure 1). CXCL10 levels were higher in the CHIKV group compared to RA-CHIKV (p = 0.0003) and AR (p = 0.0411). No significant difference was observed in CCL2 levels (Figure 1).

Regarding laboratory data, RF levels were higher in the RA group than in the CHIKV group (p < 0.0001), as well as in the AR-CHIKV group compared to the CHIKV group (p = 0.01) (Table 1). There was no significant difference in CRP levels (Table 1).

Figura 1 Serum dosage of cytokines and chemokines analyzed in the study with patients from the CHIKV, AR+CHIKV and RA groups.



DISCUSSION

In our study, the mean age of the CHIKV, RA, and RA-CHIKV groups was 54-59 years, which is close to that often related to post-CHIKV (>60 years) and RA (40-60 years) arthritis (HOARAU et al., 2010; RODRÍGUEZ-MORALES et al., 2016; NRAS, 32). Most of our patients were female (85.19-90%), which is also in line with previous reports (AMARAL, BILSBORROW, SCHOEN, 2020). Interestingly, the sex ratio observed here (female/male) is considerably higher than that of Recife (IBGE, 2010), reinforcing the statement that this finding is related to clinical aspects, not being determined by the social characteristics of our study region.

Regarding the immunological profile, we observed the highest levels of IL-1 β , IL-6 and IL-17A in the AR-CHIKV group. This finding suggests a synergy between CHIKV and RA, a hypothesis supported by the combination of previous reports. IL-1 β , IL-6 and IL-17A, for example, have been related to the severity and/or chronicity of post-CHIKV arthritis (NAKAYA et al., 2012). Furthermore, these cytokines have also been associated with RA, activating leukocytes and osteoclasts (IL-1 β and IL-6) and contributing to the activation of synovial fibroblasts, chondrocytes and osteoclasts (IL-17A) (MCIGNNES, SCHEET, 2011).

The AR-CHKV group also showed a significant increase in IL-10 (anti-inflammatory cytokine) compared to CHIKV and RA. At first glance, this finding seems to contradict the pro-inflammatory profile mentioned above, however, other studies have described the increase of IL-10 in underlying pro-inflammatory diseases such as RA and cytokine storm (KATSIKIS et al., 1994. HERNÁNDEZ- BELLO et al., 2017; DHAR et al., 2021; LU et al., 2020). Overall, it is possible that the increase in IL-10 is related to an (unsuccessful) attempt to restore homeostasis.

The relationship between the chemokine CXCL10 and inflammatory arthritis, especially RA, has been well established, and some studies have also demonstrated an association between CXCL10 and post-CHIKV arthritis (LEE et al., 2012; DOMENICANTONIO, 2014; LEE et al., 2017; PANDYA et al., 2017; LIN et al., 2020). In our study, however, CXCL10 levels were significantly higher in CHIKV than in the other groups. Likewise, CXCL9 levels, which have been associated with RA (PAPARO, 2019) and with chikungunya chronification (FERREIRA et al., 2021), were

significantly higher in the CHIKV group compared to the RA-CHIKV group. The serum increase of these chemokines in the CHIKV group compared to RA and/or AR-CHIKV raises an interesting question that deserves to be deepened in future studies on the relationship between CHIKV infection and RA.

Regarding the CXCL8 chemokine, we also observed the highest levels in the CHIKV group. The relationship between CXCL8 and CHIKV needs to be viewed with caution, as some studies have shown apparently conflicting findings about its influence on CHIKV infection. Lohachanakul et al. (2012), for example, reported that low concentration of CXCL8 may be associated with the severity of CHIKV infection. On the other hand, Ninla-aesong et al. (2019) reported that CXCL8 tended to be higher in patients with severe pain than those with non-severe pain. Furthermore, Jacob-Nascimento et al. (2021) described that CXCL8 levels in acute chikungunya may be a risk factor for chronic arthralgia. On the other hand, studies on the relationship between CXCL8 and RA have been more consistent and this cytokine has been related to the pathogenesis of the disease (MAGYARI et al., 2014). Thus, it is possible that the apparently conflicting relationship between CXCL8 and CHIKV is behind the higher levels of this cytokine in the CHIKV group.

Interestingly, we did not observe a significant difference in CCL2 levels between groups. Although these chemokines have been associated with the severity and/or chronicity of chikungunya (FERREIRA et al., 2021) and RA (KOCH et al., 1992; HARIGAI et al., 1993), our findings indicate that there is no significant difference between different conditions (AR or CHIKV group) or when they are together (RA-CHIKV). These findings are in line with what was described by Harigari et al. (1993): although the authors observed the production of CCL2 in the synovium of patients with RA and other inflammatory joint diseases, the difference between the groups was not significant (HARIGAI et al., 1993) We believe that a similar situation was observed with CRP, which has also been associated with arthralgia by CHIKV (SCHILT et al., 2013) and RA (POP, CHOY, 2021), but in our study showed similar levels when comparing CHIKV, RA and AR-CHIKV.

Rheumatoid factor levels were significantly different between groups, which can be arranged in ascending order: CHIKV, RA-CHIKV and RA. Overall, these results are in line with previous reports. Although RF has historically been implicated

in the pathogenesis of RA (INGEGNOLI et al., 2003), few cases of CHIKV infection are RF positive (RODRÍGUEZ-MORALES et al., 2016). We believe that the most interesting issue here is the reduction of RF in the AR-CHIKV group when compared to patients with RA. It is possible that CHIKV infection somehow antagonizes RF production, perhaps directing the immune response to CHIKV-related antigens.

CONCLUSION

We observed that IL-1 β , IL-6, IL-10 and IL-17A levels were significantly higher in the AR-CHIK group compared to CHIKV or RA, which is probably related to the synergism between CHIKV and RA infection. Considering the association of these cytokines with the severity of chikungunya and/or RA, it is possible that this immunological profile is also related to the evolution of the disease, probably resulting in worsening of signs and symptoms. Therefore, we encourage future studies to investigate the possible clinical consequences of CHIKV infection in patients with pre-existing RA.

REFERENCES

Silva Jr JVJ, Ludwig-Begall LF, Oliveira-Filho EF, Oliveira RAS, Durães-Carvalho R, Lopes TRR, Silva DEA, Gil LHVG (2018) A scoping review of Chikungunya virusinfection: epidemiology, clinicalcharacteristics, viral co-circulationcomplications, andcontrol. Acta Trop 188:213-224. [https://doi: 10.1016/j.actatropica.2018.09.003](https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2018.09.003).

ICTV (2021) Virus Taxonomy, 2021. ICTV InternationalCommitteeonTaxonomyofViruses. <https://ictv.global/taxonomy>. Accessed 19 November 2022.

Staples JE, Susan LH, Ann MP (2020) Chapter 4: Travel-relatedInfectiousDiseases. <https://wwwnc.cdc.gov/travel/yellowbook/2020/travel-related-infectious-diseases/chikungunya>. Accessed 19 November 2022.

Mahendradas P, Avadhani K, Shetty R (2013) Chikungunya and the eye: a review. *J Ophthalmic Inflamm Infect* 3:35. [https://doi: 10.1186/1869-5760-3-35](https://doi.org/10.1186/1869-5760-3-35).

Mehta R, Gerardin P, de Brito CAA, Soares CN, Ferreira MLB, Solomon T (2018) The neurological complications of chikungunya virus: A systematic review. *Rev Med Virol* 28:1978. [https://doi: 10.1002/rmv.1978](https://doi.org/10.1002/rmv.1978).

Crosby L, Perreau C, Madeux B, Cossic J, Armand C, Herrmann-Storke C, Najioullah F, Valentino R, Thiéry G (2016) Severe manifestations of chikungunya virus in critically ill patients during the 2013-2014 Caribbean outbreak. *Int J Infect Dis* 48:78-80. [https://doi: 10.1016/j.ijid.2016.05.010](https://doi.org/10.1016/j.ijid.2016.05.010).

Calabrese LH. Emerging viral infections and arthritis: the role of the rheumatologist (2008) *Nat Clin Pract Rheumatol* 4:2-3. [https://doi: 10.1038/ncprheum0679](https://doi.org/10.1038/ncprheum0679).

Hoarau JJ, Jaffar BMC, Krejbich TP, Das T, Li-Pat-Yuen G, Dassa B, Denizot M, Guichard E, Ribera A, Henni T, Tallet F, Moiton MP, Gauzère BA, Bruniquet S, Jaffar BZ, Morbidelli P, Martigny G, Jolivet M, Gay F, Grandadam M, Tolou H, Vieillard V, Debré P, Autran B, Gasque P (2010) Persistent chronic inflammation and infection by Chikungunya arthritogenic alphavirus in spite of a robust host immune response. *J Immunol* 184:5914-27. [https://doi: 10.4049/jimmunol.0900255](https://doi.org/10.4049/jimmunol.0900255).

Rodríguez-Morales AJ, Cardona-Ospina JA, Urbano-Garzón FS, Hurtado-Zapata SJ (2016) Prevalence of Post-Chikungunya Infection Chronic Inflammatory Arthritis: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Arthritis Care Res (Hoboken)* 68:1849-1858. [https://doi: 10.1002/acr.22900](https://doi.org/10.1002/acr.22900).

Goupil BA, Mores CN (2016) A Review of Chikungunya Virus-induced Arthralgia: Clinical Manifestations, Therapeutics, and Pathogenesis. *Open Rheumatol J*. 30:129-140. doi: 10.2174/1874312901610010129.

Amaral JK, Bilsborrow JB, Schoen RT (2020) Chronic Chikungunya Arthritis and Rheumatoid Arthritis: What They Have in Common. *Am J Med* 133:91-97. <https://doi.org/10.1016/j.amjmed.2019.10.005>.

Koch AE, Kunkel SL, Harlow LA, Johnson B, Evanoff HL, Haines GK, Burdick MD, Pope RM, Strieter RM (1992) Enhanced production of monocyte chemoattractant protein-1 in rheumatoid arthritis. *J Clin Invest* 90:772-9. <https://doi.org/10.1172/JCI115950>.

Harigai M, Hara M, Yoshimura T, Leonard EJ, Inoue K, Kashiwazaki S (1993) Monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1) in inflammatory joint diseases and its involvement in the cytokine network of rheumatoid synovium. *Clin Immunol Immunopathol* 69:83-91. <https://doi.org/10.1006/clin.1993.1153>.

Chow A, Her Z, Ong EK, Chen JM, Dimatatac F, Kwek DJ, Barkham T, Yang H, Rénia L, Leo YS, Ng LF (2011) Persistent arthralgia induced by Chikungunya virus infection is associated with interleukin-6 and granulocyte macrophage colony-stimulating factor. *J Infect Dis* 203:149-57. <https://doi.org/10.1093/infdis/jiq042>.

McInnes IB, Schett G (2011) The pathogenesis of rheumatoid arthritis. *N Engl J Med* 365:2205-19. <https://doi.org/10.1056/NEJMra1004965>.

Ninla-Aesong P, Mitarnun W, Noipha K (2019) Proinflammatory Cytokines and Chemokines as Biomarkers of Persistent Arthralgia and Severe Disease After Chikungunya Virus Infection: A 5-Year Follow-Up Study in Southern Thailand. *Viral Immunol* 32:442-452. <https://doi.org/10.1089/vim.2019.0064>.

Ferreira AS, Baldoni NR, Cardoso CS, Oliveira CDL (2021) Biomarkers of severity and chronification in chikungunya fever: a systematic review and meta-analysis. *Rev Inst Med Trop São Paulo* 63:16. <https://doi.org/10.1590/S1678-9946202163016>.

Nakaya HI, Gardner J, Poo YS, Major L, Pulendran B, Suhrbier A (2012) Gene profiling of Chikungunya virus arthritis in a mouse model reveals significant overlap with rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 64(11):3553-63. [https://doi: 10.1002/art.34631](https://doi.org/10.1002/art.34631).

Fourie ED, Morrison JG (1979) Rheumatoid arthritis syndrome after chikungunya fever. *S Afr Med J* 56(4):130-2.

Bouquillard E, Combe B (2009) Rheumatoid arthritis after Chikungunya fever: a prospective follow-up study of 21 cases. *Ann Rheum Dis* 68:1505-6. [https://doi: 10.1136/ard.2008.097626](https://doi.org/10.1136/ard.2008.097626).

Burt F, Chen W, Mahalingam S (2014) Chikungunya virus and arthritic disease. *Lancet Infect Dis* 9:789-90. [https://doi: 10.1016/S1473-3099\(14\)70869-2](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(14)70869-2).

Katsikis PD, Chu CQ, Brennan FM, Maini RN, Feldmann M (1994) Immunoregulatory role of interleukin 10 in rheumatoid arthritis. *J Exp Med* 179:1517-27. [https://doi: 10.1084/jem.179.5.1517](https://doi.org/10.1084/jem.179.5.1517).

Lee EY, Lee ZH, Song YW (2012) The interaction between CXCL10 and cytokines in chronic inflammatory arthritis. *Autoimmun Rev* 12:554-7. [https://doi: 10.1016/j.autrev.2012.10.001](https://doi.org/10.1016/j.autrev.2012.10.001).

Domenicantonio DA (2014) Rheumatoid arthritis and the alpha-chemokine IP-10. *Clin Ter* 165:447-51. [https://doi: 10.7417/CT.2014.1791](https://doi.org/10.7417/CT.2014.1791).

Magyari L, Varszegi D, Kovesdi E, Sarlos P, Farago B, Javorhazy A, Sumegi K, Banfai Z, Meleg B (2014) Interleukins and interleukin receptors in rheumatoid arthritis: Research, diagnostics and clinical implications. *World J Orthop* 5:516-36. [https://doi: 10.5312/wjo.v5.i4.516](https://doi.org/10.5312/wjo.v5.i4.516).

Hernández-Bello J, Oregón-Romero E, Vázquez-Villamar M, García-Arellano S, Valle Y, Padilla-Gutiérrez JR, Román-Fernández IV, Palafox-Sánchez CA, Martínez-Bonilla GE, Muñoz-Valle JF (2017) Aberrant expression of interleukin-10 in rheumatoid arthritis: Relationship with IL10 haplotypes and autoantibodies. *Cytokine* 95:88-96. [https://doi: 10.1016/j.cyto.2017.02.022](https://doi.org/10.1016/j.cyto.2017.02.022).

Lee JH, Kim B, Jin WJ, Kim HH, Ha H, Lee ZH (2017) Pathogenic roles of CXCL10 signaling through CXCR3 and TLR4 in macrophages and T cells: relevance for arthritis. *Arthritis Res Ther* 19:163. [https://doi: 10.1186/s13075-017-1353-6](https://doi.org/10.1186/s13075-017-1353-6).

Pandya JM, Lundell AC, Andersson K, Nordström I, Theander E, Rudin A (2017) Blood chemokine profile in untreated early rheumatoid arthritis: CXCL10 as a disease activity marker. *Arthritis Res Ther* 19:20. [https://doi: 10.1186/s13075-017-1224-1](https://doi.org/10.1186/s13075-017-1224-1).

Paparo SR (2019) Rheumatoid arthritis and the Th1 chemokine MIG. *Clin Ter* 170:472-477. [https://doi: 10.7417/CT.2019.2178](https://doi.org/10.7417/CT.2019.2178).

Lin T, Geng T, Harrison AG, Yang D, Vella AT, Fikrig E, Wang P (2020) CXCL10 Signaling Contributes to the Pathogenesis of Arthritogenic Alphaviruses. *Virus* 12:1252. [https://doi: 10.3390/v12111252](https://doi.org/10.3390/v12111252).

Jacob-Nascimento LC, Carvalho CX, Silva MMO, Kikuti M, Anjos RO, Fradico JRB, Campi-Azevedo AC, Tauro LB, Campos GS, Moreira PSDS, Portilho MM, Martins-Filho OA, Ribeiro GS, Reis MG (2021) Acute-Phase Levels of CXCL8 as Risk Factor for Chronic Arthralgia Following Chikungunya Virus Infection. *Front Immunol* 12:744183. [https://doi: 10.3389/fimmu.2021.744183](https://doi.org/10.3389/fimmu.2021.744183).

NRAS (2022) What is Rheumatoid Arthritis (RA). NRAS National Rheumatoid Arthritis Society. <https://nras.org.uk/resource/what-is-ra/>. Accessed 19 November 2022

IBGE (2010) Synopsis of the 2010 Population Census (Pernambuco). IBGE Brazilian Institute of Geography and Statistics. <https://censo2010.ibge.gov.br/sinopse/index.php?dados=210&uf=26>. Accessed 19 November 2022.

Dhar SK, K V, Damodar S, Gujar S, Das M (2021) IL-6 and IL-10 as predictors of disease severity in COVID-19 patients: results from meta-analysis and regression. *Heliyon* 7:06155. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2021.e06155>.

Lu L, Zhang H, Dauphars DJ, He YW (2020) A Potential Role of Interleukin 10 in COVID-19 Pathogenesis. *Trends Immunol* 42:3-5. <https://doi.org/10.1016/j.it.2020.10.012>

Lohachanakul J, Phuklia W, Thannagith M, Thonsakulprasert T, Ubol S (2012) High concentrations of circulating interleukin-6 and monocyte chemotactic protein-1 with low concentrations of interleukin-8 were associated with severe chikungunya fever during the 2009-2010 outbreak in Thailand. *Microbiol Immunol* 56:134-8. <https://doi.org/10.1111/j.1348-0421.2011.00417.x>.

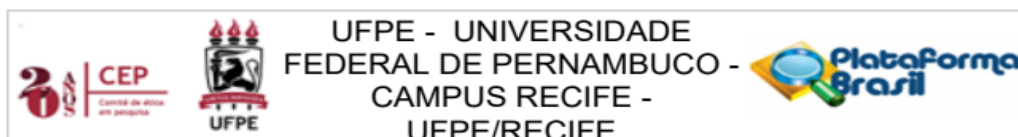
Lohachanakul J, Phuklia W, Thannagith M, Thonsakulprasert T, Ubol S (2012) High concentrations of circulating interleukin-6 and monocyte chemotactic protein-1 with low concentrations of interleukin-8 were associated with severe chikungunya fever during the 2009-2010 outbreak in Thailand. *Microbiol Immunol* 56:134-8. <https://doi.org/10.1111/j.1348-0421.2011.00417.x>.

Schilte C, Staikowsky F, Couderc T, Madec Y, Carpentier F, Kassab S, Albert ML, Lecuit M, Michault A (2013) Chikungunya virus-associated long-term arthralgia: a 36-month prospective longitudinal study. *PLoS Negl Trop Dis* 7:2137. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0002137>.

Pope JE, Choy EH (2021) C-reactive protein and implications in rheumatoid arthritis and associated comorbidities. *Semin Arthritis Rheum* 51:219-229. <https://doi.org/10.1016/j.semarthrit.2020.11.005>.

Ingegnoli F, Castelli R, Gualtierotti R (2003) Rheumatoid factors: clinical applications. *DisMarkers* 35:727-34. [https://doi: 10.1155/2013/726598](https://doi.org/10.1155/2013/726598).

ANEXO A - Parecer Substanciado do Comitê de Ética



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: ASPECTOS EPIDEMIOLÓGICOS, SOROLÓGICOS, IMUNOLÓGICOS, CLÍNICOS E GENÉTICOS NA FEBRE CHIKUNGUNYA

Pesquisador: LUAN ARAUJO BEZERRA

Área Temática:

Versão: 2

CAAE: 17712619.5.0000.5208

Instituição Proponente: Universidade Federal de Pernambuco - UFPE

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 3.564.139

Apresentação do Projeto:

Trata-se de um projeto de doutorado apresentado ao programa de Pós graduação em medicina tropical, pelo aluno LUAN ARAUJO BEZERRA, sob a orientação da Prof.^a Dra. Maria Rosângela Cunha Duarte Coelho.

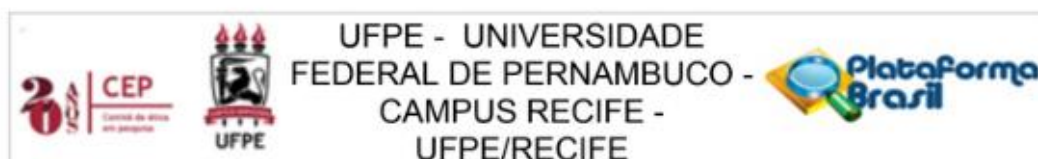
Objetivo da Pesquisa:

Objetivo geral: Analisar os aspectos epidemiológicos, sorológicos, imunológicos, clínicos e genéticos da febre chikungunya.

Objetivos específicos:

- Estimar a frequência das alterações reumatológicas;
- Quantificar os níveis séricos das citocinas pró e anti-inflamatórias;
- Estimar a frequência alélica e genotípica dos polimorfismos;
- Verificar a associação entre os polimorfismos com os níveis séricos das citocinas pró e anti-inflamatórias;
- Verificar a associação entre os polimorfismos com as alterações reumatológicas;
- Verificar a associação entre os níveis séricos das citocinas pró e anti-inflamatórias com as alterações reumatológicas.

Endereço: Av. da Engenharia s/nº - 1º andar, sala 4, Prédio do Centro de Ciências da Saúde
Bairro: Cidade Universitária **CEP:** 50.740-600
UF: PE **Município:** RECIFE
Telefone: (81)2126-8588 **E-mail:** cepccs@ufpe.br



Continuação do Parecer: 3.564.139

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Riscos: o pesquisador refere que poderá surgir o risco de constrangimento durante a entrevista (que será realizada numa sala reservado do ambulatório de reumatologia). Informa que o risco será minimizado através de um adequado aconselhamento e conversa amigável, lembrando sempre que a participação é voluntária e toda a informação dada será confidencial. Informa ainda o risco do surgimento de hematomas no local onde for puncionada a veia, mas os profissionais de coleta são experientes e tomarão os devidos cuidados para diminuir o risco de que o local fique arroxado e/ou dolorido. Serão utilizados materiais novos, estéreis, e descartáveis na coleta de sangue, o que diminuirá o risco de contaminação. Existe ainda o risco de extravio de informações e dano de prontuários mas o pesquisador se compromete por meio de análise cautelosa, cuidadosa e em local apropriado, afim de preservar o prontuário do paciente e seus dados. O pesquisador apresentou termo de compromisso e confidencialidade.

Benefícios: serão indiretos uma vez que os resultados poderão contribuir para um melhor manejo clínico da doença.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Trata-se de um estudo transversal analítico. O tema é relevante. A pesquisa é viável. A morbimortalidade relacionada à CHIKF, interfere na qualidade de vida dos acometidos, gerando um grande impacto econômico e de saúde pública. A quantificação de citocinas pró e anti-inflamatórias e seus respectivos genes, na fase crônica da CHIKF, possibilitarão o estabelecimento de marcadores imunogenéticos de reconhecimento do agravamento das alterações reumatológicas que poderão contribuir para um melhor manejo clínico da doença.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Foram anexados: 1 - folha de rosto; 2 - cartas de anuência do serviço de reumatologia e do SAME do HC; 3 - TCLE para maiores de 18 anos; 4 - termo de compromisso e confidencialidade; 5 - Projetos no formato plataforma e detalhado; 6 - lattes dos pesquisadores.

Recomendações:

Não há.

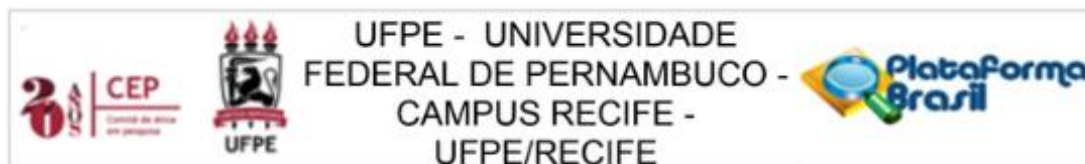
Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Não há pendências.

Considerações Finais a critério do CEP:

As exigências foram atendidas e o protocolo está APROVADO, sendo liberado para o início da

Endereço: Av. da Engenharia s/nº - 1º andar, sala 4, Prédio do Centro de Ciências da Saúde
Bairro: Cidade Universitária **CEP:** 50.740-600
UF: PE **Município:** RECIFE
Telefone: (81)2126-8588 **E-mail:** cepccs@ufpe.br



Continuação do Parecer: 3.564.139

coleta de dados. Informamos que a APROVAÇÃO DEFINITIVA do projeto só será dada após o envio do Relatório Final da pesquisa. O pesquisador deverá fazer o download do modelo de Relatório Final para enviá-lo via "Notificação", pela Plataforma Brasil. Siga as instruções do link "Para enviar Relatório Final", disponível no site do CEP/CCS/UFPE. Após apreciação desse relatório, o CEP emitirá novo Parecer Consubstanciado definitivo pelo sistema Plataforma Brasil.

Informamos, ainda, que o (a) pesquisador (a) deve desenvolver a pesquisa conforme delineada neste protocolo aprovado, exceto quando perceber risco ou dano não previsto ao voluntário participante (item V.3., da Resolução CNS/MS Nº 466/12).

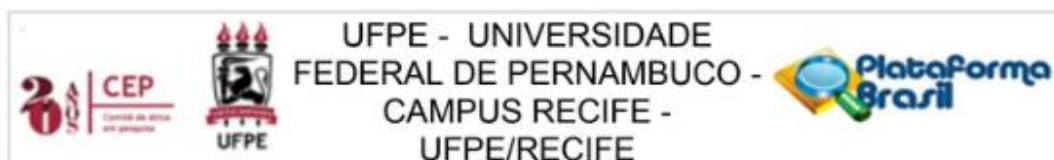
Eventuais modificações nesta pesquisa devem ser solicitadas através de EMENDA ao projeto, identificando a parte do protocolo a ser modificada e suas justificativas.

Para projetos com mais de um ano de execução, é obrigatório que o pesquisador responsável pelo Protocolo de Pesquisa apresente a este Comitê de Ética relatórios parciais das atividades desenvolvidas no período de 12 meses a contar da data de sua aprovação (item X.1.3.b., da Resolução CNS/MS Nº 466/12). O CEP/CCS/UFPE deve ser informado de todos os efeitos adversos ou fatos relevantes que alterem o curso normal do estudo (item V.5., da Resolução CNS/MS Nº 466/12). É papel do/a pesquisador/a assegurar todas as medidas imediatas e adequadas frente a evento adverso grave ocorrido (mesmo que tenha sido em outro centro) e ainda, enviar notificação à ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária, junto com seu posicionamento.

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_1285330.pdf	05/09/2019 11:52:39		Aceito
Outros	CARTADERESPOTAAPENDENCIAS.doc	05/09/2019 11:50:09	LUAN ARAUJO BEZERRA	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLEchikungunya.pdf	05/09/2019 11:48:07	LUAN ARAUJO BEZERRA	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	projeto_CEP.doc	05/09/2019 11:46:55	LUAN ARAUJO BEZERRA	Aceito
Outros	CurriculoREGINA.pdf	19/07/2019	LUAN ARAUJO	Aceito

Endereço: Av. da Engenharia s/nº - 1º andar, sala 4, Prédio do Centro de Ciências da Saúde
Bairro: Cidade Universitária **CEP:** 50.740-600
UF: PE **Município:** RECIFE
Telefone: (81)2126-8588 **E-mail:** cepccs@ufpe.br



Continuação do Parecer: 3.564.139

Outros	CurriculoREGINA.pdf	11:38:17	BEZERRA	Aceito
Outros	CurriculoVivianeMorais.pdf	19/07/2019 11:38:00	LUAN ARAUJO BEZERRA	Aceito
Outros	curriculoRosangela.pdf	19/07/2019 11:37:17	LUAN ARAUJO BEZERRA	Aceito
Outros	CurriculoLuanapdf.pdf	19/07/2019 11:36:59	LUAN ARAUJO BEZERRA	Aceito
Outros	CurriculoGal.pdf	19/07/2019 11:36:43	LUAN ARAUJO BEZERRA	Aceito
Outros	curriculoLuan.pdf	19/07/2019 11:36:15	LUAN ARAUJO BEZERRA	Aceito
Outros	declaracaodevinculo.pdf	19/07/2019 11:35:46	LUAN ARAUJO BEZERRA	Aceito
Outros	TermodeCompromissoEConfiabilidade.p df	19/07/2019 11:22:45	LUAN ARAUJO BEZERRA	Aceito
Outros	CartaAnuencuaReumatologia.pdf	19/07/2019 11:22:15	LUAN ARAUJO BEZERRA	Aceito
Outros	CartaAnuenciaSame.pdf	19/07/2019 11:17:15	LUAN ARAUJO BEZERRA	Aceito
Folha de Rosto	FolhaDeRosto.pdf	19/07/2019 11:05:33	LUAN ARAUJO BEZERRA	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

RECIFE, 10 de Setembro de 2019

Assinado por:
LUCIANO TAVARES MONTENEGRO
(Coordenador(a))

Endereço: Av. da Engenharia s/nº - 1º andar, sala 4, Prédio do Centro de Ciências da Saúde
Bairro: Cidade Universitária **CEP:** 50.740-600
UF: PE **Município:** RECIFE
Telefone: (81)2126-8588 **E-mail:** cepccs@ufpe.br