



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM INOVAÇÃO TERAPÊUTICA

JÚLIA MELO CARONE

**DETERMINAÇÃO DA POSITIVIDADE DO FATOR ANTINÚCLEO EM
PACIENTES COM FEBRE CHIKUNGUNYA AGUDA E SUBAGUDA E SUA
ASSOCIAÇÃO COM MANIFESTAÇÕES MUSCULOESQUELÉTICAS**

Recife,
2022

JÚLIA MELO CARONE

**DETERMINAÇÃO DA POSITIVIDADE DO FATOR ANTINÚCLEO EM
PACIENTES COM FEBRE CHIKUNGUNYA AGUDA E SUBAGUDA E SUA
ASSOCIAÇÃO COM MANIFESTAÇÕES MUSCULOESQUELÉTICAS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Inovação Terapêutica da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito parcial para obtenção do título de mestre. Área de concentração: Inovação em Biomarcadores.

Orientadora: Angela Luzia Branco Pinto Duarte.

Co-orientadores: Moacyr Jesus Barreto de Melo Rêgo e Henrique de Ataíde Mariz.

Recife,

2022

Carone, Júlia Melo.

Determinação da positividade do fator antinúcleo em pacientes com febre chikungunya aguda e subaguda e sua associação com manifestações musculoesqueléticas. / Júlia Melo Carone. – 2022

80 f. : il., fig.; tab.

Orientadora: Angela Luzia Branco Pinto Duarte. Coorientador:
Moacyr Jesus Barreto de Melo Rêgo Coorientador: Henrique
de Ataíde Mariz.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Pernambuco. Centro de Biociências.
Programa de Pós-graduação em Inovação terapêutica, Recife, 2022. Inclui referências.

1. Febre chikungunya. 2. Anticorpo antinuclear. 3. Artralgia. I. Duarte, Angela Luzia Branco Pinto. (orient.). II. Rêgo, Moacyr Jesus Barreto de Melo (coorient.). III. Mariz, Henrique de Ataíde (coorient.). IV. Título.

587CDD (22.ed.) UFPE/CB – 2023-036

JÚLIA MELO CARONE

**DETERMINAÇÃO DA POSITIVIDADE DO FATOR ANTINÚCLEO EM
PACIENTES COM FEBRE CHIKUNGUNYA AGUDA E SUBAGUDA E SUA
ASSOCIAÇÃO COM MANIFESTAÇÕES MUSCULOESQUELÉTICAS**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação
em Inovação Terapêutica da
Universidade Federal de Pernambuco, como
requisito parcial para obtenção do título de mestre.
Área de concentração: Inovação em
Biomarcadores.

Aprovado em: 28/09/2022.

BANCA EXAMINADORA

Profa. Dra. Andrea Tavares Dantas (Examinador Interno) Universidade Federal de Pernambuco
- UFPE

Profa. Dra. Rafaela Silva Guimarães Gonçalves (Examinador Interno) Universidade
Federal de Pernambuco - UFPE

Profa. Dra. Michelly Cristiny Pereira (Examinador Externo)
Laboratório de Imunomodulação e Novas Abordagens Terapêuticas – LINAT

DEDICATÓRIA

Dedico esse trabalho aos meus pais e irmãos, que desde cedo me ensinaram o valor do estudo, alicerce para o crescimento pessoal e profissional.

A minha filha Clara e esposo Ricardo que enchem meu dia de alegria. Aos meus orientadores, pela honra de ser guiada por pessoas tão inspiradoras.

AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar, quero agradecer a Profa. Dra. Angela Duarte, chefe do serviço de Reumatologia do HC-UFPE. Desde o início da minha residência médica em 2014 recebo o seu incentivo a percorrer a carreira acadêmica. É nela em quem me inspiro na dedicação ao estudo da Medicina e da Reumatologia e aos pacientes. Agradeço pela oportunidade de participar do seu grupo, pelo seu tempo dedicado e pela imensidão de conhecimentos compartilhados.

Ao Prof. Dr. Moacyr Rego, agradeço a oportunidade e a confiança em poder conduzir um de seus estudos, a disponibilizar o laboratório para que fosse possível eu aprender mais e pela disponibilidade em sempre me receber quando precisei.

Ao Prof. Dr. Henrique Mariz, agradeço pela honra de compartilharmos o mesmo estudo, pela sua disponibilidade e por enriquecer tanto minha revisão bibliográfica pela participação em tantos outros estudos importantes a cerca do tema.

A minha família e amigos, minha fonte de força e inspiração, agradeço pelo incentivo e compreensão nos momentos ausentes.

A meu marido Ricardo agradeço o companheirismo, pelas estradas percorridas entre Caruaru e Recife ainda na gravidez e, finalmente, por ajudar a cuidar da nossa filha nos momentos em que precisei me ausentar.

Às minhas amigas Aysa Pinheiro e Paula Toche, agradeço o suporte e todo conhecimento compartilhado durante o mestrado.

À Lais Vasconcelos, enfermeira do Replick, agradeço o companheirismo em todos os atendimentos que fizemos juntas aos pacientes do estudo.

À Maria Clara e à Valecia Mendonça, agradeço o auxílio na realização dos procedimentos laboratoriais que permitiram a realização desse trabalho.

Em especial, agradeço a Julia Braga pelo carinho e disponibilidade em me receber no Linat e por ter me ensinado a realizar o passo a passo do FAN.

Ao secretário do PPGIT, Paulo Germano, pela organização, educação e disponibilidade sempre que foi necessário.

À equipe de reumatologia do HC-UFPE e a toda equipe do Replick, agradeço a honra de ter todos como companheiros e colaboradores, juntos nesse processo.

Aos pacientes do Replick, agradeço pela compreensão durante os atendimentos e coleta de dados. Agradeço a confiança depositada e a oportunidade oferecida de poder aprender mais.

RESUMO

A Febre Chikungunya (FC) é uma doença infecciosa introduzida recentemente no Brasil que cursa com marcante quadro articular, responsável por incapacidade laboral. Os vírus são os agentes ambientais mais importantes para o desenvolvimento de autoimunidade. Ainda é desconhecida a prevalência e influência que poderia ter os autoanticorpos antinucleares (FAN) na evolução dos pacientes com FC. Avaliar o perfil de FAN em pacientes com FC, nas fases aguda e subaguda. Foram incluídos 73 pacientes provenientes do Projeto Replick – Estudo Multicêntrico da História Natural e Resposta Terapêutica de Chikungunya com foco nas Manifestações Musculoesqueléticas Agudas e Crônicas. A pesquisa do FAN foi realizada através da imunofluorescência indireta (IFI) em células HEp-2 e os resultados foram associados a variáveis clínicas, índices de atividade articular e qualidade de vida. Identificamos 68,5% do sexo feminino e média de idade de 47 ± 15 anos. As comorbidades mais prevalentes foram IMC ≥ 25 (71,4%) e hipertensão arterial sistêmica (32,9%). Observamos 67,1% com rigidez matinal, 41,1% com moderado a grave impacto na capacidade funcional pelo *Health Assessment Questionnaire* (HAQ) e 47,9% com *Clinical Disease Activity Index* (CDAI) alto. Identificamos em 39,7% o FAN positivo; o padrão pela IFI mais prevalente foi o nuclear pontilhado grosso (31,1%). Não foi observada relação entre rigidez matinal, índices de atividade articular e a positividade do FAN. Dos pacientes com rigidez matinal, um menor número (18,8%) apresentava o padrão nuclear pontilhado fino quando comparado com o nuclear homogêneo (37,4%) ($p=0,03$). Não houve relação estatisticamente significativa entre CDAI, HAQ e os padrões do FAN. Pacientes com padrão nuclear pontilhado fino possuíam escore médio menor de dor neuropática, pelo questionário DN4 ($3,0 \pm 2,4$), quando comparado a pacientes com padrão nuclear homogêneo ($6,5 \pm 2,5$) ($p= 0,03$). Encontramos um percentual significativo de pacientes com FAN positivo e o padrão pela IFI mais frequente foi o nuclear pontilhado grosso. Não pudemos estabelecer relação estatisticamente significativa entre rigidez matinal, índices de atividade da doença e a positividade do FAN na FC aguda/subaguda. O padrão nuclear pontilhado fino esteve menos associado a rigidez matinal e dor neuropática quando comparado com o padrão nuclear homogêneo.

Palavras- Chave: febre chikungunya; anticorpo antinuclear; artralgia

ABSTRACT

Chikungunya Fever (CF) is an infectious disease recently introduced in Brazil that has a marked joint condition, responsible for work disability. Viruses are the most important environmental agents for the development of autoimmunity. The prevalence and influence that antinuclear autoantibody (ANA) could have on the evolution of patients with CF is still unknown. To evaluate the profile of ANA in patients with CF, in the acute and subacute phases. 73 patients from the Replick Project – Multicenter Study of the Natural History and Therapeutic Response of Chikungunya were included, focusing on Acute and Chronic Musculoskeletal Manifestations. The ANA investigation was performed through indirect immunofluorescence (IIF) in HEp-2 cells and the results were associated with clinical variables, joint activity indices and quality of life. We identified 68.5% of females and a mean age of 47 ± 15 years. The most prevalent comorbidities were BMI ≥ 25 (71.4%) and systemic arterial hypertension (32.9%). We observed 67.1% with morning stiffness, 41.1% with moderate to severe impact on functional capacity by the Health Assessment Questionnaire (HAQ) and 47.9% with high Clinical Disease Activity Index (CDAI). We identified positive ANA in 39.7%; the most prevalent pattern by the IFI was the nuclear coarse speckled pattern (31.1%). No relationship was observed between morning stiffness, joint activity indices and ANA positivity. Of the patients with morning stiffness, a smaller number (18.8%) had a fine speckled nuclear pattern when compared with the homogeneous nuclear pattern (37.4%) ($p=0.03$). There was no statistically significant relationship between CDAI, HAQ and ANA patterns. Patients with a fine speckled nuclear pattern had a lower mean neuropathic pain score, according to the DN4 questionnaire (3.0 ± 2.4), when compared to patients with a homogeneous nuclear pattern (6.5 ± 2.5) ($p=0.03$). We found a significant percentage of patients with positive ANA and the most frequent pattern by IIF was the nuclear coarse speckled pattern. We could not establish a statistically significant relationship between morning stiffness, disease activity index and ANA positivity in acute/subacute CF. The fine speckled nuclear pattern was less associated with morning stiffness and neuropathic pain when compared to the homogeneous nuclear pattern.

Keywords: chikungunya fever; antinuclear antibody; arthralgia

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 -	Curva epidêmica dos casos prováveis de chikungunya, por semanas epidemiológicas de início de sintomas, Brasil, 2019 a 2022	18
Figura 2 -	Disseminação do vírus da Chikungunya e órgãos-alvo	21
Figura 3 -	Mecanismos de persistência e inflamação tecidual do CHIKV em pacientes com doença crônica	22
Figura 4 -	Patogênese da artrite/miosite induzida por alfavírus	23
Figura 5 -	Testes diagnósticos CHIKV em relação a cronologia	26
Figura 6 -	Padrões do FAN-Hep2 por imunofluorescência indireta e as patologias correlatas	33
Figura 7 -	Características morfológicas dos padrões nucleares mais relevantes encontrados no ensaio de imunofluorescência indireta em células HEp-2, realizado em amostras de indivíduos saudáveis e pacientes com doenças reumáticas autoimunes	34
Figura 8 -	Padrão Nuclear Pontilhado Grosso	43
Figura 9 -	Padrão Nuclear Pontilhado Fino	43
Figura 10 -	Padrão Nuclear Homogêneo	43

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 -	Características demográficas de pacientes com Febre Chikungunya	40
Tabela 2 -	Características do tempo de evolução e sintomas gerais da fase aguda da FC	41
Tabela 3 -	Características das manifestações musculoesqueléticas, índices de atividade da doença, capacidade funcional e qualidade de vida em pacientes com FC	41
Tabela 4 -	Frequência da positividade do fator antinuclear (FAN) e dos padrões na imunofluorescência encontrados em pacientes com Febre Chikungunya	42
Tabela 5 -	Avaliação da associação entre a positividade do FAN, tempo do início dos sintomas e as manifestações musculoesqueléticas	43
Tabela 6 -	Avaliação da associação entre os padrões do FAN pela imunofluorescência indireta e as manifestações musculoesqueléticas em pacientes com FC	45
Tabela 7 -	Avaliação da associação entre os padrões do FAN pela imunofluorescência indireta e os índices de atividade na FC	45

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ACPA: do inglês, Anticorpo Anti-Peptídeo Citrulinado
ACR: do inglês, *American College of Rheumatology*
AGS: Avaliação Global de Saúde
AIJ: Artrite Idiopática Juvenil
AINE: Antiinflamatório Não Esteroidal
ANCA: Anticorpo Anti Citoplasma de Neutrófilo
Anti-CCP: Autoanticorpos contra Peptídeo Citrulinado Cíclico
CBP: Cirrose Biliar Primária
CDAI: do inglês, *Clinical Disease Activity Index*
CE: Corticoide
CEP: Comitê de Ética em Pesquisa
CHIKV: Vírus Chikungunya
DII: Doença Inflamatória Intestinal
DM: Dermatomiosite
DMTC: Doença Mista do Tecido Conjuntivo
DRAS: Doença Reumatológica Autoimune Sistêmica EBV:
Epstein-Bar Vírus
ELISA: do inglês, *Enzyme Linked ImmunonoSorbent Assay*
ENA: do inglês, Antígenos Nucleares Extraíveis
ES: Esclerose Sistêmica
EULAR: do inglês, *European League Against Rheumatism*
EVA: Escala Analógica Visual
FAN: Fator Antinuclear
FC: Febre Chikungunya
FR: Fator Reumatoide
HAI: Hepatite autoimune
HAQ: do inglês, *Health Assessment Questionnaire*
HCQ: Hidroxicloroquina
ICAP: do inglês, *International Consensus on ANA Patterns*
IFI: Imunofluorescência Indireta
Ig: Imunoglobulina
IL: Interleucina
INF: Interferon

LES: Lúpus Eritematoso Sistêmico LID:

Lúpus Induzido por Drogas

LINAT: Laboratório de Imunomodulação e Novas Abordagens Terapêuticas MHC:

do inglês, *Major Histocompatibility Complex* MTX:

Metotrexato PAN: Poliarterite

Nodosa

PBS: do inglês, *Phosphate Buffered Saline*

PCR: Proteína C Reativa

PM: Polimiosite

RNA: Ácido Ribonucleico

RT-PCR: do inglês, *Real time – Polymerase Chain Reaction*

SBR: Sociedade Brasileira de Reumatologia

SS: Síndrome de Sjogren SSZ:

Sulfassalazina

TCLE: Termo de Compromisso Livre e Esclarecido

TGF: do inglês, *Transforming Growth Factor*

Th2: do inglês, *T Helper-2*

TNF: do inglês, *Tumor Necrosis Factor*

UFPE: Universidade Federal de Pernambuco

VHS: Velocidade de Hemossedimentação

SUMÁRIO

RESUMO

ABSTRACT

1	INTRODUÇÃO	14
2	JUSTIFICATIVA	15
3	OBJETIVOS	16
3.1	GERAL	16
3.2	ESPECÍFICOS	16
4	REVISAO DA LITERATURA	17
4.1	FEBRE CHIKUNGUNYA	17
4.1.1	Conceito e Epidemiologia	17
4.1.2	História Natural e Manifestações Clínicas	18
4.1.3	Fisiopatogênese	21
4.1.4	Diagnóstico	25
4.1.5	Tratamento	26
4.2	ANTICORPOS ANTINUCLEARES	28
4.2.1	Conceito	<u>28</u>
4.2.2	Métodos de identificação	29
4.2.3	Interpretação	30
5	METODOLOGIA	35
5.1	TIPO E LOCAL DO ESTUDO	35
5.2	AMOSTRA DA PESQUISA	35
5.3	CRITÉRIOS DE ELEGIBILIDADE	35
5.4	INSTRUMENTOS DE COLETA DE DADOS	36
5.5	PESQUISA DO FAN-HEP-2	36
6	ASPECTOS ÉTICOS	38
7	ANÁLISE ESTATÍSTICA	39
8	RESULTADOS	40
8.1	CARACTERIZAÇÃO CLÍNICO-EPIDEMIOLÓGICA DA AMOSTRA DOS PACIENTES COM FC	40
8.2	DETERMINAÇÃO DA FREQUÊNCIA DA POSITIVIDADE DO FAN NA FASE AGUDA/SUBAGUDA	42

8.3	IDENTIFICAÇÃO DOS PADRÕES MAIS FREQUENTES DO FAN	42
8.4	CORRELAÇÃO ENTRE A POSITIVIDADE DO FAN E OS INDICADORES DE ATIVIDADE ARTICULAR E COMPROMETIMENTO FUNCIONAL	43
8.5	CORRELAÇÃO ENTRE OS PADRÕES DO FAN E OS INDICADORES DE ATIVIDADE ARTICULAR E COMPROMETIMENTO FUNCIONAL	44
9	DISCUSSÃO	46
10	CONCLUSÃO	50
	REFERÊNCIAS	51
	APÊNDICE A – TCLE	58
	APÊNDICE B – FICHA ESTRUTURADA COM AS VARIÁVEIS ESTUDADAS	67
	APÊNDICE C – DADOS TABELADOS NA PLANILHA EXCEL	69
	ANEXO A – PARECER DO COMITÊ DE ÉTICA E PESQUISA	70
	ANEXO B – DEFINIÇÃO DE CASO DE CHIKUNGUNYA	77
	ANEXO C - QUESTIONÁRIO DE AVALIAÇÃO DE SAÚDE (HEALTH ASSESSMENT QUESTIONNAIRE – HAQ)	78
	ANEXO D - AVALIAÇÃO DE DOR NEUROPÁTICA (QUESTIONÁRIO DN4)	79

1 INTRODUÇÃO

A Febre Chikungunya (FC) é uma doença infecciosa introduzida recentemente no Brasil e vem atingindo uma parcela importante da população brasileira. O acometimento articular na FC causa importante disfunção física, impactando de forma significativa na qualidade de vida dos pacientes. A incapacidade laboral causada pela doença, em uma faixa etária economicamente ativa, amplia ainda mais a magnitude do problema para a população atingida (BRITO, C. A. A. DE *et al.*, 2016).

Além disso, o papel das infecções virais e/ou bacterianas como indutoras de autoimunidade é bem reconhecido, sendo estas consideradas como os agentes ambientais mais importantes para o desenvolvimento de doença autoimune (PAGE *et al.*, 2015).

Os dados existentes na literatura sobre a prevalência de autoanticorpos na FC, além de escassos, são bastante conflitantes, provavelmente pelos diferentes grupos populacionais avaliados e pelo desenho dos estudos, em sua maioria retrospectivos e série de casos.

Nenhum destes estudos foi desenhado especificamente para verificar a prevalência do anticorpo antinuclear (FAN) nos pacientes com FC. O FAN, atualmente é critério de entrada para classificar o paciente como portadores de Lúpus Eritematoso Sistêmico (LES) e, considerado marcador de envolvimento de órgão e prognóstico em algumas doenças autoimunes.

Sabe-se da importância do entendimento dos mecanismos fisiopatológicos e alterações imunológicas relacionados ao quadro articular da FC nas fases aguda e subaguda. É desconhecido como e porque uma parcela desses pacientes terá um curso crônico e persistente e pouco é conhecido sobre a patogênese do envolvimento articular desses pacientes em todas as fases da doença.

2 JUSTIFICATIVA

A FC tem uma alta taxa de ataque, variando entre 35-75% da população em uma única epidemia e uma grande porcentagem dos infectados é sintomática em comparação com os infectados por outras arboviroses (BRITO, C. A. A. DE *et al.*, 2020).

É preocupante a intensidade da doença na fase aguda, que pode causar incapacidade e os riscos de complicações em usuários de drogas imunossupressoras, principalmente pacientes com doença reumatológica que já apresentam acometimento articular (BRITO, C. A. A. D. *et al.*, 2020).

É importante estudar e avaliar a importância dos anticorpos antinucleares (FAN) na associação com as características musculoesqueléticas dos pacientes com FC, a fim de entendermos se a presença do FAN nesses pacientes é um preditor de maior ou menor gravidade, possibilitando um melhor manejo clínico.

Neste sentido, justifica-se investigar e avaliar a participação do FAN na FC, o que pode trazer resultados para sua inclusão na prática clínica diária.

3 OBJETIVOS

3.1 GERAL

- Avaliar o perfil de anticorpos antinucleares (FAN) em pacientes com febre Chikungunya (FC).

3.2 ESPECÍFICOS

- Determinar a frequência da positividade do FAN nas fases agudas e subagudas;
- Avaliar se existe um padrão prevalente de FAN;
- Correlacionar os padrões de FAN com os indicadores de atividade articular e comprometimento funcional.

4 REVISÃO DA LITERATURA

4.1 FEBRE CHIKUNGUNYA

4.1.1 Conceito e Epidemiologia

O vírus Chikungunya (CHIKV) pertence ao gênero *Alphavirus* da família *Togaviridae* e é transmitido para pessoas por artrópodes (ROBINSON, 1955), principalmente pela picada dos mosquitos *Aedes aegypti*, *Aedes albopictus* e *Aedes polynesienses*, os mesmos vetores que transmitem a dengue (VAIRO *et al.*, 2019).

O CHIKV tem dois ciclos de transmissão distintos: silvestre e humano. A transmissão silvestre envolve primatas selvagens como macacos e espécies de mosquitos *Aedes* que vivem na floresta, principalmente *Aedes furcifer*, *Aedes taylori*, *Aedes luteocephalus*, *Aedes africanus* e *Aedes Neoafricanus*. Este ciclo está confinado a África (Senegal, Costa do Marfim, República Centro-Africana e África do Sul) e é responsável por casos humanos esporádicos e pequenos surtos (TRAORE-LAMIZANA *et al.*, 1999).

O ciclo de transmissão humano-mosquito-humano mantém a infecção pelo CHIKV em áreas urbanas e tem como principal vetor o *Aedes aegypti*, extremamente eficiente porque se alimenta preferencialmente de humanos, pois pica várias pessoas durante uma única refeição de sangue e está adaptado para viver e se reproduzir em área peridoméstica (LAMBALLERIE, DE *et al.*, 2008; VAIRO *et al.*, 2019). A circulação do CHIKV normalmente coincide com períodos de chuvas fortes e aumento da densidade do mosquito, cujos recipientes artificiais são os locais preferidos das larvas (VAIRO *et al.*, 2019).

O CHIKV foi isolado pela primeira vez após uma epidemia nos inícios dos anos 50, na atual Tanzânia e posteriormente surtos foram identificados na Ásia durante as décadas de 50 e 60 (WEAVER; LECUIT, 2015). O nome Chikungunya deriva do dialeto Maconde que significa “aquele que anda curvado”, característica clínica do paciente em decorrente da intensidade da dor que o paciente é acometido (ANDRADE, Daniel C. DE *et al.*, 2010; GANESAN; DUAN; REID, 2017).

A circulação em regiões florestais da África subsaariana ocorre envolvendo hospedeiros primatas não humanos e vetores de mosquitos arbóreos. A disseminação para outros continentes iniciou no século 18 quando os veleiros carregavam o CHIKV junto aos humanos e mosquitos *Aedes aegypti* em número suficiente para a circulação do vírus a bordo dos navios, onde a água armazenada facilitava propagação do mosquito (WEAVER; LECUIT, 2015).

A primeira emergência do CHIKV no ciclo urbano ocorreu entre 1879 e 1956, quando uma linhagem da África Oriental, Central e Austral (ECSA) foi introduzida na Ásia. Posteriormente, viajantes aéreos infectados chegaram à Europa, Ásia e Américas (WEAVER; LECUIT, 2015). Nas Américas, uma cepa do CHIKV de linhagem asiática foi introduzida na ilha de St. Martin em outubro de 2013 (LEPARC-GOFFART, Isabelle *et al.*, 2014) e

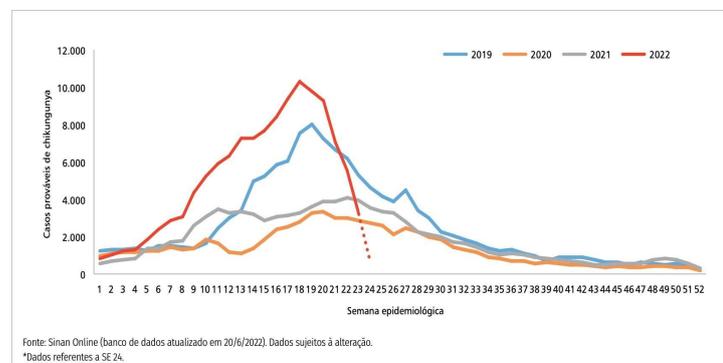
posteriormente se espalhou pelo Caribe e América Central, bem como no norte da América do Sul e Flórida (NHAN *et al.*, 2014; VAIRO *et al.*, 2019).

Em um período de cinco anos da chegada do CHIKV nas Américas, foram notificados 2.673.671 casos, com 773.000 (29%) deles ocorrendo no Brasil. Aqui, os primeiros relatos foram confirmados quase que simultaneamente no Oiapoque (AP) e em Feira de Santana (BA), em setembro de 2014 (FARIA *et al.*, 2016). Em 2016, ano com maior número de casos notificados desde que se notou o CHIKV no Brasil, foram notificados 277.882 casos sendo 86% concentrados na região nordeste do país (MARQUES, Claudia Diniz Lopes; DUARTE, Angela Luzia Branco Pinto; RANZOLIN; DANTAS; CAVALCANTI; GONÇALVES; ROCHA JUNIOR; *et al.*, 2017).

Após um período com declínio iniciado em 2019, no Brasil voltam a subir a níveis de epidemia os casos de FC, desde o final do primeiro semestre de 2020. No Brasil, até a semana 24 de 2022 ocorreram 122.075 casos prováveis de chikungunya (taxa de incidência de 57,2 casos por 100 mil habitantes). Em comparação com o ano de 2019, houve aumento de 35,1% de casos registrados para o mesmo período analisado e quando comparado com o ano de 2021, ocorreu um aumento de 93,7% casos até a respectiva semana (Figura 1).

Para o ano de 2022, a Região Nordeste apresentou a maior incidência (175,7 casos/100 mil habitantes), seguida das Regiões Centro-Oeste (28,8 casos/100 mil habitantes) e Norte (26,6 casos/100 mil habitantes). Na região nordeste, os estados com maior número absoluto de pacientes com FC foram: Ceará com 34.773 casos (376,3 casos/100 mil habitantes), Pernambuco com 18.348 casos (189 casos/100 mil habitantes), Bahia com 16.113 casos (107,5 casos/100 mil habitantes) e a Paraíba com 11.915 casos (293,5 casos/100 mil habitantes).

Figura 1 – Curva epidêmica dos casos prováveis de chikungunya, por semanas epidemiológicas de início de sintomas, Brasil, 2019 a 2022.



Fonte: Vigilância epidemiológica, MS, Volume 53, junho 2022.

4.1.2 História Natural e Manifestações Clínicas

Logo após o mosquito alimentar-se do sangue de uma pessoa infectada na fase de viremia (5 a 7 dias após o início dos sintomas) ele contrai o CHIKV o qual replica-se por alguns

dias (fase extrínseca). Então, o mosquito pode transmitir o vírus para uma pessoa saudável através de uma nova picada (BOSSUYT *et al.*, 2020).

No paciente, o período de incubação dura em média 4 a 7 dias e os sintomas aparecem em cerca de 80% podendo durar entre alguns dias até vários anos. A viremia induz uma resposta imune que determina o início dos principais sintomas clínicos inflamatórios gerais e locais. A inflamação de várias articulações pode durar meses mesmo sem a viremia e anos quando evolui continuamente para um quadro inflamatório crônico (SIMON, F. *et al.*, 2015).

O espectro clínico da doença envolve três fases: aguda (até 14 dias), subaguda (15 dias a 3 meses) e crônica (> 3 meses) e a queixa musculoesquelética representa a manifestação clínica mais frequente (MARQUES, Claudia Diniz Lopes; DUARTE, Angela Luzia Branco Pinto; RANZOLIN; DANTAS; CAVALCANTI; GONÇALVES; JUNIOR; *et al.*, 2017).

A fase aguda da FC é caracterizada por febre e poliartralgia intensa e/ou artrite. A febre é alta e contínua, com vários picos por dia; é tipicamente mais intensa nos primeiros 3 dias, mas pode persistir por até 7 dias. A dor que é praticamente universal é o principal sintoma da doença. A artralgia tem sido descrita em mais de 90% dos pacientes com padrão poliarticular e simétrico, acometendo principalmente as articulações das mãos, punhos, ombros, joelhos, tornozelos e pés (ANDRADE, Daniel C. DE *et al.*, 2010).

A dor pode ser incapacitante e dificultar a realização de atividades diárias como caminhar, escovar os dentes e pegar objetos. Edema periarticular e/ou articular, tenossinovite e rigidez articular são frequentemente observados nas extremidades de mãos e pés (BRITO, C. A. A. DE *et al.*, 2020). A sinovite foi descrita em 32-95% e derrame articular em 15% dos indivíduos infectados pelo CHIKV (BORGHERINI, G. *et al.*, 2007). A dor articular persistente da FC pode mimetizar os sintomas da artrite reumatoide. No entanto, na FC a maioria dos pacientes tem febre de início súbito e edema de extremidades, sintomas incomuns na artrite reumatoide (BURT *et al.*, 2017). Além disso, evolução para artrite erosiva progressiva também foi relatada em alguns estudos (Brighton e Simson 1984, Malvy e col. 2009, Manimunda e col. 2010).

Outros sintomas podem ocorrer: mialgia, dor de cabeça, dor nas costas, erupção cutânea macular a maculopapular, prurido cutâneo, edema da face e extremidades e poliadenopatia. (SIMON, F. *et al.*, 2015). A erupção cutânea e a febre geralmente desaparecem em poucos dias e são ocasionalmente seguidas de descamação palmo-plantar (PISTONE *et al.*, 2009).

Frequentemente a FC causa descompensação de doenças crônicas cardíacas, respiratórias, renais, sistêmicas (lúpus) e metabólicas (diabetes), ou várias complicações como desidratação, tromboembolismo e disautonomia (SIMON, F. *et al.*, 2015).

Por outro lado, a artralgia persistente e exacerbação de condições clínicas subjacentes são raras em crianças (GASQUE *et al.*, 2015). Relatos de casos apontam para um risco aumentado de doença grave em recém-nascidos, idosos acima de 65 anos com outras condições

clínicas subjacentes e indivíduos imunossuprimidos (BURT *et al.*, 2017), porém a morte por infecção por chikungunya é rara e ocorre em menos de um em cada 1.000 indivíduos (JOSSERAN *et al.*, 2006). A FC não aumenta o risco de aborto espontâneo, morte fetal no útero e defeitos congênitos, mas a transmissão materno-neonatal pode ocorrer em mulheres na fase de viremia durante o parto. Cerca de 50% dos recém-nascidos são infectados quando nascem no dia anterior ou 5 dias após os primeiros sintomas da mãe (SIMON, F. *et al.*, 2015).

Em 45-75% dos pacientes há persistência dos sintomas após a fase aguda e que podem durar até 3 meses, definida como fase subaguda. A febre geralmente desaparece, mas as queixas musculoesqueléticas são persistentes, com poliartralgia e/ou poliartrite variável de intensidade de forte a leve. A exacerbação da dor pode atingir articulações previamente acometidas e pode ser acompanhada de múltiplas tenossinovites, predominantemente nos punhos e tornozelos associadas à rigidez matinal. Dor neuropática e síndrome do túnel do carpo são frequentemente relatadas e sintomas generalizados como astenia, depressão e alopecia podem aparecer (BRITO, C. A. A. DE *et al.*, 2020).

Pacientes cujas queixas musculoesqueléticas persistem por períodos superiores a três meses são considerados crônicos. Vários fatores têm sido associados ao risco de cronificação das queixas musculoesqueléticas: sexo feminino, idade superior a 45 anos; dor intensa, presença de edema, rigidez ou poliartrite durante a fase aguda; doença articular prévia; diabetes *mellitus*; alta carga viral; níveis elevados de proteína C reativa (PCR) na fase aguda; e a persistência da imunoglobulina (Ig) M (BRITO, C. A. A. DE *et al.*, 2020).

As articulações mais comumente acometidas são as das mãos, punhos, joelhos e tornozelos, com rigidez matinal e edema associados. Os pacientes também podem relatar acometimento da região cervical e ombros com dor e limitações de movimentos. A dor neuropática ocorre em cerca de 20% dos pacientes e muitas vezes é negligenciada (ANDRADE, Daniel Ciampi DE *et al.*, 2010)

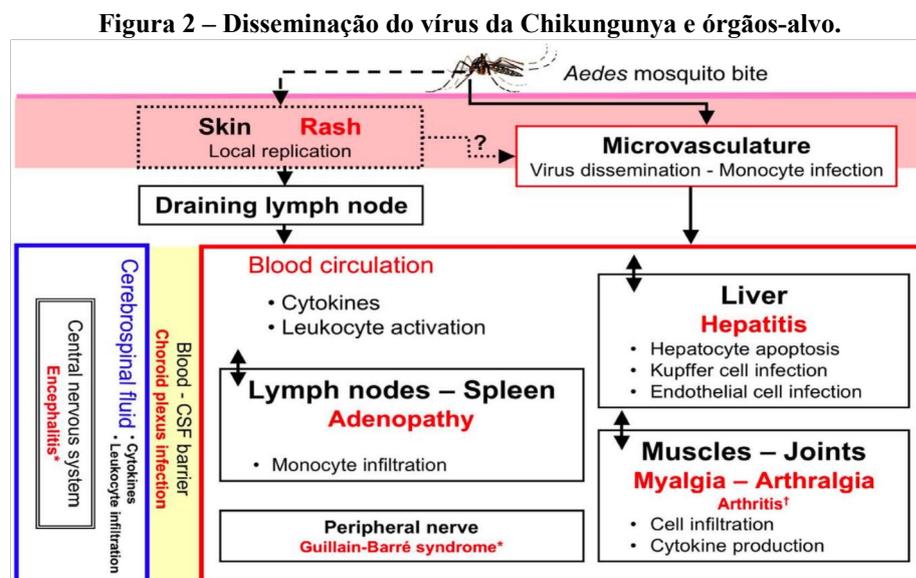
As queixas álgicas têm padrão persistente ou recorrente que podem manter a intensidade relatadas nas fases anteriores, podendo ser intensa e incapacitante, ou leve e até decrescente de intensidade (BRITO, C. A. A. DE *et al.*, 2020).

Em um estudo de Schilte *et al.* na Polinésia Francesa, 60% dos pacientes apresentaram cronificação, dos quais 72 foram acompanhados por 3 anos, sendo 45% com artralgia persistente, 24% com recuperação inicial seguida de recorrência e 31% com recuperação completa da fase aguda (SCHILTE *et al.*, 2013).

Em um surto entre 2005 e 2006 na Island Reunion (África) foi encontrado que 56 pacientes (63,8%) apresentavam dor nas articulações 18 meses após a infecção aguda pelo CHIKV e que a poliartralgia foi contínua em 31 (55,4%) (BORGHERINI, Gianandrea *et al.*, 2008).

4.1.3 Fisiopatogênese

Após a inoculação do CHIKV no organismo, o vírus entra diretamente nos capilares subcutâneos infectando células da pele como macrófagos, fibroblastos e células endoteliais. A replicação viral local é pequena e limitada e assim é transportado para órgãos linfoides secundários próximos ao local da inoculação. Ocasionalmente, durante a picada o vírus pode ser inoculado diretamente nos vasos. O sangue transporta a maioria dos vírus, como *virions* livres ou na forma de monócitos infectados para os órgãos-alvo como fígado, músculos e articulações. Nesses tecidos, há intensa replicação e infiltração de células mononucleares, principalmente macrófagos. Os eventos patológicos associados à infecção tecidual são subclínicos no fígado (apoptose de hepatócitos) e órgãos linfoides (adenopatia), enquanto a infiltração de células mononucleares e a replicação viral nos músculos e articulações estão associadas a dor severa e artrite em alguns casos (Figura 2) (DUPUIS-MAGUIRAGA *et al.*, 2012).



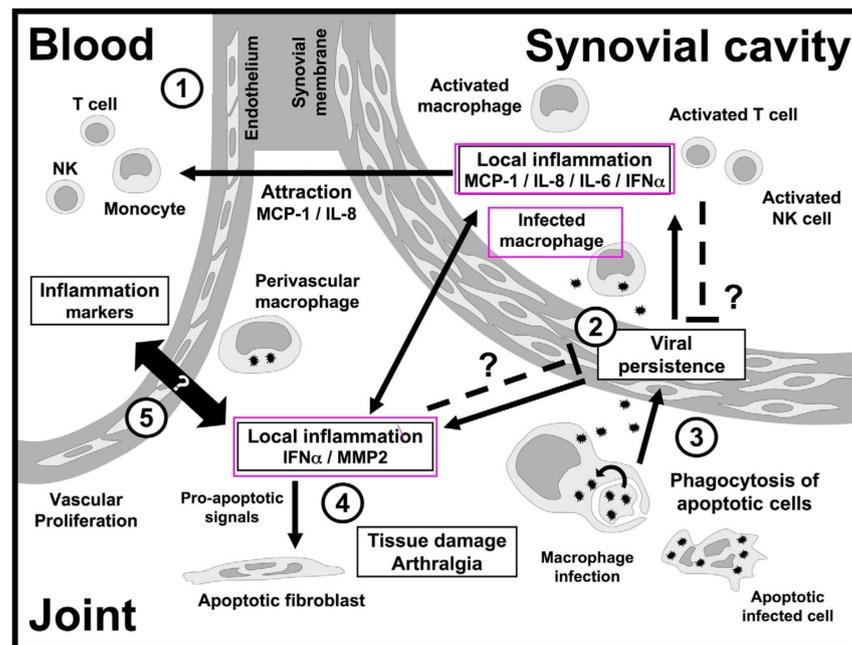
Fonte: Dupuis-Maguiraga *et al.* (2012).

Pouco se sabe atualmente sobre o mecanismo subjacente da persistência dos sintomas musculoesqueléticos. Sugere-se que a persistência do vírus em órgãos-alvo ou o estabelecimento de um mecanismo deletério sustentado leva a dano tecidual, provavelmente de natureza inflamatória. Estudos em modelos animais e investigações clínicas são necessários para abordar este ponto (DUPUIS-MAGUIRAGA *et al.*, 2012).

Nesses estudos, após inoculação do vírus chikungunya nas articulações dos membros inferiores demonstrou-se artrite, tenossinovite e miosite, associados a persistência local do vírus nos tecidos. A infiltração com monócitos e macrófagos também foi observada em tecidos conjuntivos, tecidos peritendíneos subcutâneos e músculos, na análise histológica

(MORRISON *et al.*, 2011; RULLI, N. E. *et al.*, 2011). Na FC sugere-se que haja mecanismos de persistência do CHIKV e inflamação tecidual em pacientes com fase crônica. Meses após a infecção aguda, monócitos, células T e células natural killer (NK) ainda são atraídas para a articulação inflamada, onde são ativados. A infecção de macrófagos nas articulações está associada à inflamação local e à produção de citocinas, quimiocinas e efetores próinflamatórios, como MCP-1/CCL-2, IL-8, IL-6, IFN- α , e MMP2. A fagocitose de corpos apoptóticos de células infectadas provavelmente contribui para a persistência viral. No entanto, o efeito benéfico ou deletério da inflamação local na persistência viral permanece incerto. Quando ocorre a artrite é acompanhada por altas taxas de apoptose de fibroblastos e destruição da cartilagem (Figura 3) (DUPUIS-MAGUIRAGA *et al.*, 2012).

Figura 3 – Mecanismos de persistência e inflamação tecidual do CHIKV em pacientes com doença crônica.

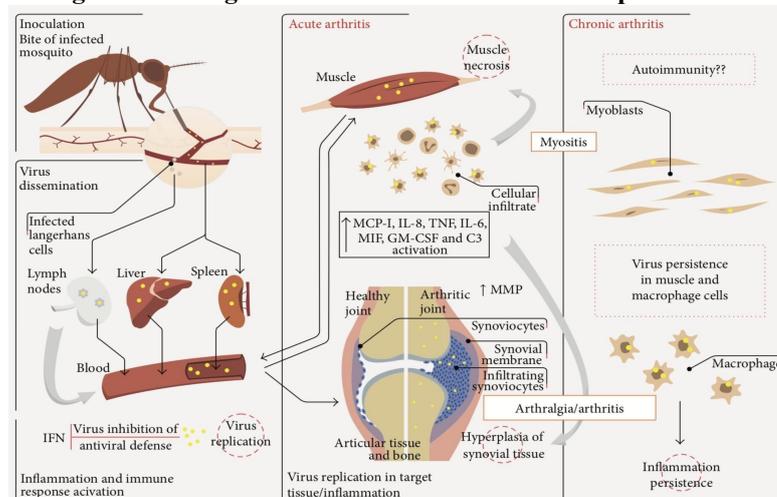


Fonte: Dupuis-Maguiraga *et al.* (2012).

Foi demonstrado que os osteoblastos podem ser infectados pelo CHIKV e conduzir a osteoclastogênese *in vitro* (NORET, M. *et al.*, 2012). Isso foi confirmado por estudos de coorte que altos níveis de RANKL/osteoprotegerina (OPG) detectados em pacientes com CHIKV poderiam estar associados a osteoclastos derivados de macrófagos. A infecção de osteoblastos por CHIKV elevou níveis de receptor ativador do ligante NF- κ B (RANKL) em tornozelo e joelho, com aumento de osteoclastos e perda óssea (CHEN *et al.*, 2015). Os osteoclastos são conhecidos por causar erosão óssea, indicando a importância dessas células na destruição óssea na patologia induzida por alfavírus (CHEN *et al.*, 2014; NORET, M. *et al.*, 2012). Uma questão que permanece incerta é se um processo autoimune está associado à persistência da resposta inflamatória, como observado na artrite reumatoide (Figura 4) (DELBIANCO, 2013). Após

epidemia nas ilhas do Oceano Índico em 2005 foram descritos 21 novos casos de artrite reumatoide onde todos preencheram critérios para o American College Rheumatology (ACR) 1987. Aos 21 meses, 81% apresentavam erosões e estreitamento do espaço articular; fator reumatoide (FR) e anticorpo anti-proteína citrulinada (ACPA) foram positivos em 57 e 28%, respectivamente. A maioria dos pacientes necessitou de metotrexato e quatro pacientes tiveram que mudar para anti-TNF. Assim, os autores sugeriram que a infecção viral teve um papel no início da AR nesses casos (BOUQUILLARD, É.; COMBE, Bernard, 2009). Após epidemia nas ilhas do Oceano Índico em 2005 foram descritos 21 novos casos de artrite reumatoide onde todos preencheram critérios para o American College Rheumatology (ACR) 1987. Aos 21 meses, 81% apresentavam erosões e estreitamento do espaço articular; fator reumatoide (FR) e anticorpo anti-proteína citrulinada (ACPA) foram positivos em 57 e 28%, respectivamente. A maioria dos pacientes necessitou de metotrexato e quatro pacientes tiveram que mudar para anti-TNF. Assim, os autores sugeriram que a infecção viral teve um papel no início da AR nesses casos (BOUQUILLARD, É.; COMBE, Bernard, 2009).

Figura 4 – Patogênese da artrite/miosite induzida por alfavírus.



Fonte: Delbianco (2013).

Em seu estudo Shoefeld et al. identificaram os agentes microbianos como os mais importantes contribuintes ambientais para o desenvolvimento de doenças autoimunes (SHOENFELD *et al.*, 2008). A infecção pelo vírus Epstein-Bar (EBV) é o exemplo mais bem estabelecido de uma relação entre infecção viral e uma doença autoimune. No LES, foi encontrado um mimetismo molecular entre o antígeno-1 nuclear do EBV e os anticorpos antiDNAs, anti-Ro e anti-LA. O EBV também tem sido associado à AR, esclerose múltipla, síndrome de Sjogren (SS), tireoidite autoimune, hepatite autoimune e doença de Kawasaki (SHOENFELD *et al.*, 2008).

A razão de certos pacientes desenvolverem artrite persistente não é clara e as vias imunológicas que controlam ou desencadeiam esses sintomas crônicos permanecem

indefinidas. Pelo menos três hipóteses foram levantadas para explicar esse fenômeno: persistência da infecção viral, persistência de ácidos nucleicos virais, o que poderia desencadear imunopatologia persistente e o desencadeamento de ativação imune persistente em certos indivíduos após a eliminação do vírus infeccioso (BURT *et al.*, 2017). Proteínas virais foram detectadas em macrófagos em macacos infectados com chikungunya muito tempo após a resolução da infecção aguda, sugerindo persistência do vírus infeccioso (LABADIE *et al.*, 2010). No entanto, o vírus infeccioso nunca foi cultivado de pacientes após a primeira semana de infecção, sugerindo que genomas virais replicantes, mas defeituosos – que são incapazes de produzir vírus infecciosos – podem persistir nas articulações de indivíduos infectados (GASQUE *et al.*, 2015).

Modelos animais mostraram que a resposta imune no sangue periférico é diferente do local da inflamação local. E que a artralgia crônica observada em pacientes após a eliminação do vírus permanece um mistério, pois a amostragem de tecidos dentro da articulação e dos músculos é um desafio ético. O entendimento detalhado da interação do CHIKV com o hospedeiro em doenças agudas e crônicas pode auxiliar no desenvolvimento de tratamentos terapêuticos para doenças associadas ao CHIKV (GASQUE *et al.*, 2015).

Os mecanismos imunológicos que causam os sintomas articulares persistentes na FC permanecem obscuros, dada a diversidade clínica e características variáveis das fases da doença que podem indicar diferentes mecanismos imunológicos. Citocinas e quimiocinas pró-inflamatórias tem sido expressas na fase crônica da FC, principalmente as interleucinas (IL)6, IL-8, CCL-2, INF- γ , IL-17A, IL-21, IL-22, IL-29 e o fator de crescimento transformador (TGF)- β . Essas citocinas tem sido implicadas, também, na patogênese de outras doenças articulares inflamatórias (SUHRBIER, 2019).

Em uma análise sistemática de paciente com FC aguda, 14 estudos de coorte foram caracterizados e comparados para determinar uma assinatura de mediadores imunes de citocinas pro-inflamatórias dominantes nesses pacientes. Os autores definiram que essa assinatura foi constituída pelas seguintes citocinas pro-inflamatórias: INF- γ , IL-2, IL-2R, IL-6, IL-7, IL12, IL-15, IL-17 e IL-18 (TENG *et al.*, 2015).

Gualberto et al. avaliaram 45 pacientes com FC sorologicamente confirmados por ensaio imunoenzimático (ELISA) e sem história prévia de doenças reumatológicas inflamatórias. As interleucinas, IL-27, IL-17A e IL-29 apareceram na maioria dos pacientes, mas não nos controles. Os níveis séricos de IL-27 foram maiores em pacientes com sintomas crônicos. Os autores concluíram ter encontrado importante papel das citocinas, o que pode indicar sua importante participação na fisiopatologia da natureza articular inflamatória do CHIKV (GUALBERTO CAVALCANTI *et al.*, 2019).

4.1.4 Diagnóstico

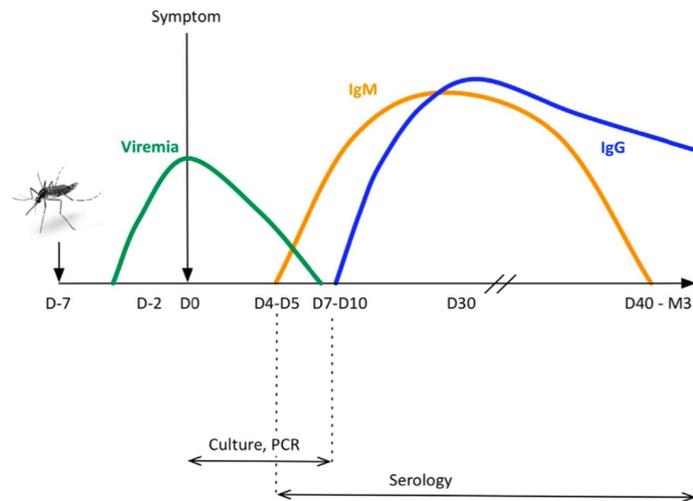
O diagnóstico da Febre Chikungunya (FC) é tipicamente clínico, uma vez que a associação de febre aguda com artralgia e/ou artrite intensa de instalação aguda é altamente sugestiva, com elevada sensibilidade e valor preditivo positivo, em áreas onde a doença é endêmica e onde epidemias ocorram (MARQUES, Claudia Diniz Lopes; DUARTE, Angela Luzia Branco Pinto; RANZOLIN; DANTAS; CAVALCANTI; GONÇALVES; ROCHA JUNIOR; *et al.*, 2017; SISSOKO *et al.*, 2010).

Um estudo avaliou a concordância entre o resultado da sorologia IgM para CHIKV e o diagnóstico clínico. A presença de dor articular em qualquer combinação com febre, mialgia ou exantema produziu uma concordância de 85% com o resultado positivo da IgM ($p < 0,001$), assim os autores sugerem que o uso desses sintomas pode ser útil para definir casos de FC quando o CHIKV é o arbovírus predominante em circulação diante da dificuldade para realização dos testes sorológicos (FIELDS *et al.*, 2016).

Atualmente, no Brasil a recomendação do Ministério da Saúde é usar os critérios clínicoepidemiológicos para definição de caso suspeito de FC (MS, 2015). Alguns casos podem evoluir de forma atípica com manifestações clínicas menos frequentes como: hiperpigmentação cutânea, úlceras aftosas, lesões vasculíticas, nefrite, pneumonia, diarreia e vômitos, encefalite, síndrome de Guillain-Barré, neurite óptica ou trombocitopenia (ECONOMOPOULOU *et al.*, 2009). A frequência dos quadros graves é de 0,3% e estão associados à idade avançada (> 65 anos) e à presença de comorbidades (MARQUES, Claudia Diniz Lopes; DUARTE, Angela Luzia Branco Pinto; RANZOLIN; DANTAS; CAVALCANTI; GONÇALVES; ROCHA JUNIOR; *et al.*, 2017).

O diagnóstico laboratorial envolve a detecção dos anticorpos contra o CHIKV. A imunoglobulina IgM é identificada em média a partir do dia 5 (D5) após o início dos sintomas clínicos; a imunoglobulina IgG aparece entre o D7 e o D10 e atinge um pico em D15. Um diagnóstico mais precoce pode ser obtido pela reação em cadeia da polimerase (RT-PCR) do RNA do CHIKV. Laboratórios especializados em arboviroses podem realizar cultura viral para indicações específicas. Os testes geralmente são realizados da seguinte forma: RT-PCR entre D0 e D5, RT-PCR e sorologia entre D5 e D7, sorologia isolada após D7; a cultura viral não é realizada rotineiramente (Figura 5) (SIMON, F. *et al.*, 2015).

Figura 5 – Testes diagnósticos CHIKV em relação a cronologia.



Fonte: Simon et al. (2015).

4.1.5 Tratamento

A FC tem se tornado um importante problema de saúde pública nos países onde ocorrem as epidemias, visto que metade dos casos evolui com artrite crônica, persistente e incapacitante (MARQUES, Claudia Diniz Lopes; DUARTE, Angela Luzia Branco Pinto; RANZOLIN; DANTAS; CAVALCANTI; GONÇALVES; JUNIOR; *et al.*, 2017). Não existe tratamento antiviral eficaz; o tratamento é sintomático. Deve ser adaptado aos sintomas clínicos, comorbidades e fatores de risco. O objetivo é controlar a febre e a dor, tratar a desidratação e falência de órgãos, prevenir riscos iatrogênicos e comprometimento funcional (SIMON, F. *et al.*, 2015).

Na fase aguda, o objetivo do tratamento é o alívio da dor aguda com o uso de analgésicos e opioides. No entanto, os anti-inflamatórios não esteroides (AINEs) não devem ser prescritos devido ao risco aumentado de sangramento ou dano renal nesses pacientes (BRITO, C. A. A. DE *et al.*, 2020).

Na fase subaguda, uma avaliação clínica e eventualmente métodos de imagem são realizados para definir o padrão clínico predominante: a) dor musculoesquelética não inflamatória localizada ou difusa; b) artrite/tenossinovite (doença articular ou periarticular associada a edema); c) dor neuropática. É importante reforçar a possibilidade de um paciente apresentar artrite ou dor musculoesquelética não inflamatória associada à dor neuropática (BRITO, C. A. A. DE *et al.*, 2020).

Nessa fase, AINEs podem ser usados no tratamento dos sintomas refratários a analgésicos e não há superioridade de efetividade de uma classe em relação à outra, assim, a escolha deve ser feita baseada na experiência do médico e nas condições clínicas do paciente. No caso de

resposta inadequada após o décimo dia de uso, sugere-se a troca de classe do AINE. Há uma concordância entre os estudos sobre a efetividade do corticosteroide após a falha a analgésicos e AINES (MARQUES, Claudia Diniz Lopes; DUARTE, Angela Luzia Branco Pinto; RANZOLIN; DANTAS; CAVALCANTI; GONÇALVES; JUNIOR; *et al.*, 2017). Simon e col. citam que a dose de 10mg/dia de prednisona por 5 dias com escalonamento em 10 dias costuma ser suficiente e a dose de 0,5 mg/kg/dia de prednisona por 5 dias, com desmame gradual por 10 dias é usada para as apresentações mais graves (SIMON, F. *et al.*, 2015).

No Brasil, o Ministério da Saúde recomenda 0,5 mg/kg/dia (dose máxima 40 mg/dia), até a resolução dos sintomas, com retirada gradual, mas sem ultrapassar três semanas de tratamento (BRITO, C. A. A. DE *et al.*, 2016). Resultados preliminares da Coorte ChikBrasil demonstram que o uso dos corticoides (CEs) na fase subaguda levou a uma melhoria clínica considerável, mais significativa com doses acima de 10 mg/dia; no entanto, não houve benefício adicional com o uso de mais de 20 mg/d de prednisona. Desse modo, recomenda-se o uso de doses mais baixas (5 a 20mg/dia) de prednisona ou prednisolona, com redução lenta e progressiva, de acordo com a resolução dos sintomas articulares (MARQUES, Claudia Diniz Lopes; DUARTE, Angela Luzia Branco Pinto; RANZOLIN; DANTAS; CAVALCANTI; GONÇALVES; JUNIOR; *et al.*, 2017).

Apesar das evidências referentes à hidroxicloroquina (HCQ) não serem suficientes para uma recomendação de uso formal na fase subaguda, a experiência dos especialistas integrantes do grupo brasileiro sugere que pode haver um efeito benéfico, particularmente como droga poupadora de CE. Desse modo, recomenda-se o uso de antimaláricos nessa fase, a critério do médico especialista (MARQUES, Claudia Diniz Lopes; DUARTE, Angela Luzia Branco Pinto; RANZOLIN; DANTAS; CAVALCANTI; GONÇALVES; JUNIOR; *et al.*, 2017).

Na presença de um componente neuropático, terapia específica precisa ser instituída. Nesses casos, antidepressivos tricíclicos (amitriptilina, nortriptilina) ou anticonvulsivantes (gabapentina, pregabalina, carbamazepina) devem ser usados. O início de ação é mais lento, ocorrendo após 2 semanas de uso (BRITO, C. A. A. DE *et al.*, 2020).

Nos pacientes que persistem com dor musculoesquelética localizada ou difusa, sem sinais inflamatórios, além de três meses de doença, a recomendação é usar analgésicos simples ou opioides fracos, a depender da intensidade da dor, nas mesmas doses recomendadas para a fase aguda ou subaguda (BLETTY *et al.*, 2016). Os AINES podem ser usados em qualquer paciente com FC que apresente dor refratária ou intolerância ao uso de analgésicos simples e opioides, independentemente dos sintomas serem relacionados com manifestações inflamatórias (MARQUES, Claudia Diniz Lopes; DUARTE, Angela Luzia Branco Pinto; RANZOLIN; DANTAS; CAVALCANTI; GONÇALVES; JUNIOR; *et al.*, 2017).

A Sociedade Brasileira de Reumatologia (SBR), em sua diretriz, recomenda o uso dos CEs nas doses entre 10 e 20 mg/dia, por seis a oito semanas, com retirada lenta e gradual, a depender da resposta clínica. No caso em que não seja possível a retirada do CE após esse período, deve-se introduzir o metotrexato (MTX) e/ou a hidroxicloroquina (HCQ). Apesar de controverso, recomenda-se o uso dos antimaláricos, particularmente da HCQ, no tratamento da fase crônica da FC, para casos leves a moderados, pois além dos efeitos conhecidos no controle da dor e da inflamação articular é uma medicação de mais fácil manuseio para o clínico geral. Não existe um consenso nos diversos estudos sobre qual seria o tempo ideal em que o MTX deve ser usado na fase crônica da FC ou quando deve ser interrompido. Observou-se que um tempo de uso mínimo de três meses pode levar à remissão completa dos sintomas, sem recaídas após a retirada. Ainda na fase crônica da FC pode ser usada a sulfassalazina (SSZ) na dose de 2 a 3 g/dia, isolada ou em associação, especialmente em pacientes com contraindicação ou falha ao MTX. Por esse guia, quando há manutenção da atividade inflamatória articular mesmo após uso de CE, HCQ, MTX e SSZ (MARQUES, Claudia Diniz Lopes; DUARTE, Angela Luzia Branco Pinto; RANZOLIN; DANTAS; CAVALCANTI; GONÇALVES; JUNIOR; *et al.*, 2017).

A terapia biológica com a classe de anti-TNF pode ser prescrita, exclusivamente pelo reumatologista, após rigorosa avaliação clínica. São recomendadas intervenções de reabilitação em todas as fases da FC como medida não farmacológica complementar (MARQUES, Claudia Diniz Lopes; DUARTE, Angela Luzia Branco Pinto; RANZOLIN; DANTAS; CAVALCANTI; GONÇALVES; JUNIOR; *et al.*, 2017).

4.2 ANTICORPO ANTINUCLEAR (FAN)

4.2.1 Conceito

Anticorpos são proteínas produzidas pelos linfócitos B e desempenham um papel fundamental na atividade do sistema imunológico, reconhecem antígenos estranhos ou proteínas de estruturas externas de vírus e bactérias, por exemplo. Depois de reconhecer os antígenos, os anticorpos começam a recrutar células e proteínas especializadas culminando na ativação da cascata de inflamação, uma resposta de defesa do organismo (SUR, L. M. *et al.*, 2018).

Em condições patológicas, alguns anticorpos produzidos pelo indivíduo passam a ser direcionados contra as proteínas próprias, sendo então chamados de autoanticorpos. Eles desencadeiam uma resposta imunológica anormal, um tipo de inflamação sistêmica que leva o organismo a lutar contra si mesmo. Normalmente, o corpo humano produz autoanticorpos, porém em baixos títulos, e não representam um estado patológico. Quando detectados altos títulos de autoanticorpos, pode-se suspeitar de uma doença autoimune, se acompanhados de

sinais e sintomas de autoimunidade. Os anticorpos antinucleares (FANs) são autoanticorpos que combatem diversas estruturas celulares próprias (SUR, L. M. *et al.*, 2018).

O termo FAN encontra-se desatualizado uma vez que eles abrangem anticorpos direcionados contra antígenos também presentes em compartimentos celulares fora do núcleo, como envelope nuclear, aparelho do fuso mitótico, citosol, citoplasma e membranas celulares. Assim, foi sugerida uma mudança para um termo mais apropriado como “anticorpos anticeleulares”, porém tal mudança na nomenclatura requer amplo acordo dentro da comunidade médica e um período de ajuste, uma vez que a maioria dos manuscritos e livros didáticos utilizam o termo FAN (AGMON-LEVIN *et al.*, 2014).

Em 2016, os participantes da elaboração da V diretriz do consenso brasileiro para detecção de autoanticorpos em células Hep-2 recomendaram o uso da terminologia “teste de anticorpos anticeleulares”, porém mantendo a sigla FAN (fator antinuclear). Na opinião dos especialistas estes são os termos mais usados e mais reconhecidos, de acordo com reumatologistas e outros especialistas que comumente solicitam este teste (CRUVINEL *et al.*, 2019).

4.2.2 Métodos de identificação

Em 1950, foi realizado o aprimoramento de um método de imunofluorescência para a detecção de antígenos em células de tecidos (COONS; KAPLAN, 1950). Oito anos depois, foi descrito pela primeira vez um ensaio de imunofluorescência indireta (IFI) para a detecção dos FANs (FRIOU, [s.d.]).

Inicialmente, o teste FAN por IFI baseou-se em substratos de tecido de roedores, porém atualmente são utilizadas linhagens celulares HEp-2, derivadas de carcinoma epidermóide de laringe, produzidos em ratos expostos à radiação (MAHLER *et al.*, 2014). As células HEp-2 são favorecidas por seus grandes núcleos, que facilitam a visualização dos componentes nucleares. Os antígenos alvos estão localizados nos compartimentos nucleares ou citosólicos. Outra vantagem é que essas células são os substratos mais sensíveis utilizados no momento e apresentam melhor especificidade devido à sua origem humana. Além disso, os antígenos produzidos apenas na divisão celular podem ser identificados mais facilmente devido às altas taxas de divisão celular (SUR, L. M. *et al.*, 2018).

O ensaio de IFI é considerado o padrão ouro para a detecção de ANAs (AGUSTINELLI *et al.*, 2019; MAHLER *et al.*, 2014; SUR, L. M. *et al.*, 2018), pois além fácil execução e ser relativamente barato, oferece alta especificidade e sensibilidade ao teste (SUR, L. M. *et al.*, 2018). Um substrato celular, geralmente células HEp-2 ou HEp-2000 permeabilizadas, é incubado com soro do paciente. Os autoanticorpos do soro do paciente ligam-se a um antígeno

alvo, que por sua vez é reconhecido por um anticorpo secundário ligado ao fluorocromo específico para a porção Fc da imunoglobulina humana IgG (MAHLER *et al.*, 2014).

A definição de resultados positivos e negativos do teste de IFI é operador dependente, ou seja, é resultado de uma avaliação por inspeção visual por um profissional e varia de acordo com o ponto de corte utilizado em termos de diluição inicial do soro (PISETSKY, 2017). O teste de IFI para detecção de FAN é descrito por um título, que é a maior diluição do soro do paciente em que a fluorescência ainda detecta os anticorpos (GRYGIEL-GÓRNIAK; ROGACKA; PUSZCZEWICZ, 2018; LING; MURALI, 2019).

As principais limitações para a realização da IFI para a pesquisa desses anticorpos incluem o tempo necessário para o seu desempenho e a necessidade de profissional de laboratório altamente qualificado e habilidoso em realizar a interpretação visual do exame (BOSSUYT *et al.*, 2020). Além disso pode existir uma variabilidade interobservador que pode levar a pequenas diferenças nos títulos relatados (LING; MURALI, 2019).

4.2.3 Interpretação

Os anticorpos antinucleares são marcadores laboratoriais valiosos para o rastreamento e suporte ao diagnóstico (BOSSUYT *et al.*, 2020). Um teste positivo para o FAN pode indicar a presença de uma doença reumatológica autoimune sistêmica (DRAS), como lúpus eritematoso sistêmico (LES), lúpus induzido por drogas (LID), esclerose sistêmica (ES), síndrome de sjögren (SS), doença mista do tecido conjuntivo (DMTC), polimiosite (PM), dermatomiosite (DM), artrite reumatoide (AR), artrite idiopática juvenil (AIJ), poliarterite nodosa (PAN) ou uma doença autoimune órgão específica como doença de Graves, tireoidite de Hashimoto, hepatite autoimune (HAI), cirrose biliar primária (CBP) ou doença inflamatória intestinal (DII) (MAHLER *et al.*, 2014; SUR, L. M. *et al.*, 2018).

Por outro lado, o teste tem uma importante limitação quando se diz respeito à frequência da positividade em indivíduos saudáveis (AGMON-LEVIN *et al.*, 2014; AGUSTINELLI *et al.*, 2019; LEUCHTEN *et al.*, 2018; LING; MURALI, 2019; MARIZ, Henrique A. *et al.*, 2011; PISETSKY, 2017; SUR, L. M. *et al.*, 2018). Dependendo do *kit* de ensaio, a faixa de testes positivos em indivíduos sem doença podem chegar a 20-30% (PISETSKY, 2017).

Sabe-se que a prevalência do FAN é maior entre as mulheres. Os hormônios sexuais, principalmente estrogênios, desempenham um papel significativo no desenvolvimento de doenças autoimunes, pois induzem uma resposta imune contra os linfócitos *T-helper 2* (Th2) e interagem por meio de receptores encontrados em muitas células do sistema imunológico. De modo análogo, a gravidez pode induzir o aparecimento do FAN em mulheres saudáveis (GRYGIEL-GÓRNIAK; ROGACKA; PUSZCZEWICZ, 2018). O envelhecimento também está associado ao desenvolvimento de autoimunidade e a uma maior prevalência de FANs, o

que pode ser explicado pela perda da tolerância das células B com a idade (GRYGIELGÓRNIAK; ROGACKA; PUSZCZEWICZ, 2018).

A detecção do FAN tem uma alta sensibilidade, mas uma baixa especificidade e está sujeito a resultados positivos de baixo título que podem não ser clinicamente relevantes. Um título baixo (1:40) pode ser visto em até 25-45% dos doadores de sangue saudáveis (GRYGIELGÓRNIAK; ROGACKA; PUSZCZEWICZ, 2018; LING; MURALI, 2019), enquanto 15% e 5% podem exibir FAN positivo com título de 1:80 e 1:160, respectivamente (LING; MURALI, 2019). Além disso, o padrão centromérico da IFI tem o maior valor preditivo positivo para doenças reumatológicas associadas ao FAN e está associado à ES (MAHLER *et al.*, 2014; PALAZZI *et al.*, 2012).

Um resultado de teste FAN-HEp-2 positivo em uma diluição de 1:80 foi relatado em até 13,3% dos indivíduos saudáveis (MARIZ, Henrique A. *et al.*, 2011; WATANABE *et al.*, 2004). Um estudo realizado em três grandes cidades do sul e sudeste do Brasil com 918 indivíduos saudáveis e 153 pacientes com DRAS mostrou um resultado positivo para o FAN em 12,9% dos controles saudáveis. Enquanto no grupo de pacientes com DRAS 90,2% apresentaram FAN positivo (MARIZ, Henrique A. *et al.*, 2011). Uma das explicações para os resultados positivos de FAN em indivíduos saudáveis é alta frequência de falsos positivos, em que a ligação do anticorpo a moléculas nucleares representa uma reatividade cruzada acidental (PISETSKY, 2017).

O resultado positivo do teste FAN-HEp-2 em indivíduos aparentemente saudáveis parece ser um fenômeno sustentado em 75% dos casos e em alguns pacientes podem preceder o desenvolvimento de doença autoimune (MARIZ, Henrique A. *et al.*, 2011). Assim, a maior parte dos indivíduos saudáveis portadores de FAN nunca desenvolverão uma doença reumatológica (GRYGIEL-GÓRNIAK; ROGACKA; PUSZCZEWICZ, 2018; MARIZ, Henrique A. *et al.*, 2011; PISETSKY, 2017). Isso é corroborado pelo fato de que doenças autoimunes ocorrem na população geral em uma frequência de 5 a 7% e a ocorrência do LES não excede 0,1% (GRYGIEL-GÓRNIAK; ROGACKA; PUSZCZEWICZ, 2018; ROJAS *et al.*, 2018).

A presença de autoanticorpos pode ser notada no soro dos pacientes muitos anos antes do início dos primeiros sintomas, assim como do diagnóstico da doença autoimune. Isso é observado tanto no LES quanto na SS. Nesses indivíduos que se encontram em estágios pré-clínicos do LES e aparecem em indivíduos aparentemente saudáveis que apresentam o FAN positivo, a medição desses anticorpos muitas vezes pode permitir o diagnóstico precoce dessas patologias (GRYGIEL-GÓRNIAK; ROGACKA; PUSZCZEWICZ, 2018).

Tem sido observado que indivíduos saudáveis podem desenvolver títulos predominantemente baixos (1:160) nos teste FAN-HEp-2. Em contraste, os resultados positivos de FAN em pacientes com DRAS tem títulos predominantemente moderados a altos. No entanto, em sua coorte Mariz et al. encontraram uma fração substancial de indivíduos saudáveis com títulos moderados (1:320 e 1:640) e outra menor com altos títulos (1:1.280) (MARIZ, Henrique A. *et al.*, 2011).

Agmon-Levin et al. concordam que a diluição de rastreamento ideal deve ser definida localmente e o título relacionado ao percentil 95 de controles saudáveis, considerada a diluição de rastreamento ideal (AGMON-LEVIN *et al.*, 2014). Em casos de incerteza, levando em consideração a sensibilidade, especificidade e custo (ou seja, poços nas lâminas, tempo do técnico e outros reagentes), uma diluição de triagem de 1:160 foi frequentemente considerada a mais adequada para a avaliação de pacientes adultos. (LING; MURALI, 2019; SUR, L. M. *et al.*, 2018).

A Iniciativa do Consenso Internacional sobre Padrões do FAN (ICAP) classificou mais de duas dúzias de padrões HEp-2 IFI relevantes, identificados por um código alfanumérico (AC- #) (CHAN *et al.*, 2015). Os principais padrões de coloração do FAN são homogêneos, pontilhados, nucleolares e centromérico (BOSSUYT *et al.*, 2020). Existe alguma associação entre os padrões de coloração e determinados autoanticorpos (BOSSUYT *et al.*, 2020), porém eles não permitem a identificação exata do anticorpo, exceto para o padrão de centrômero que é específico para anticorpos anti-centrômero (MAHLER *et al.*, 2014; PALAZZI *et al.*, 2012).

A identificação de certos padrões de FAN tem associações significativas com algumas doenças autoimunes (Figura 6), porém na prática clínica a diferenciação desses padrões raramente é usada para o estabelecimento do diagnóstico clínico definitivo (BOSSUYT *et al.*, 2020). O padrão pontilhado do FAN é o padrão mais frequente, porém também é o menos específico. Na presença de altos títulos ou diante de forte suspeita clínica de SS, DMTC ou LES, testes adicionais e anticorpos específicos podem ser necessários como o anti-Ro/SSA, anti- La/SSB, anti-RNP ou anti-Sm, respectivamente (LING; MURALI, 2019).

Figura 6 – Padrões do FAN-Hep2 por imunofluorescência indireta e as patologias correlatas.

Most commonly recognised patterns		
Nuclear patterns	Related antigens	Related diagnosis
Homogeneous	dsDNA, histones, chromatin/nucleosomes, HMG	SLE, drug induced SLE/vasculitis, JIA
Coarse speckled	U1-SnRNP, U2–6 snRNP (5m), nuclear matrix	MCTD, SLE, Raynaud, SSC, SS, UCTD
Fine speckled	SSA/Ro, SSB/La, Topo-1, common to many antigens	SLE, SS, SSC, IM, MCTD
Centromere	Kinetochore: CENP-A, B, C, F	SSc (limited), Raynaud's
Nucleolar	PM/ScI, RNA-polymerase, URNP, U3-RNP, To/Th, B23 phosphoprotein/numatrin	SSc, Raynaud's, IM, overlap
Cytoplasmic patterns		
Nuclear patterns	Related antigens	Related diagnosis
Diffuse	RibP, Jo-1, other tRNA synthetases, SRP	SLE, IM
Fine speckled	Jo-1, SRP, PDH (mitochondria)	IM, DM, PBC, interstitial lung disease
Less commonly recognised patterns		
Nuclear patterns	Related antigens	Related diagnosis
Peripheral/rim or nuclear envelope	Lamins, LAP1/2 gp210, nucleoporin p62; nuclear envelope and nuclear pore complex antigens	SLE, RA, PBC, IM autoimmune liver diseases
Dense fine speckled	DF570/LEDGF-P75	Healthy subjects and other inflammatory conditions
Pleomorphic cell cycle speckled (PCNA)	Auxiliary protein proliferating cell nuclear antigen: elongation factor of DNA polymerase delta	SLE, lymphoproliferative diseases, SS
Nucleolar (clumpy)	U3-SnRNP (fibrillar)	SSc
Multiple/few nuclear dots	Sp100, PML bodies, p80-coilin	PBC, CAH, SS
Centrosome/centriole (formerly:spindle apparatus)	Enolase, ninein, pericentrin	SSc, Raynaud's, inflammatory disease
MSA (mitotic spindle)	NuMA/centrophilin	RA, inflammatory conditions; pneumonia (mycoplasma)
Cytoplasmic patterns		
Nuclear patterns	Related antigens	Related diagnosis
Discrete speckled	Endosome (early endosome antigen 1), GW/Processing bodies, multivesicular bodies/lysosomes	Neurological conditions, SS, SLE, RA, PBC, UCTD
Golgi complex	Golgi proteins/golgins: giantin, golgin 245, golgin 110, golgin 97, golgin 95, others	SLE, SS, RA, overlap syndromes, cerebellar ataxia
Cytoplasmic fibres	Actin, cytokeratin, tropomyosin, vimentin	CAH, DM, infections and other inflammatory diseases

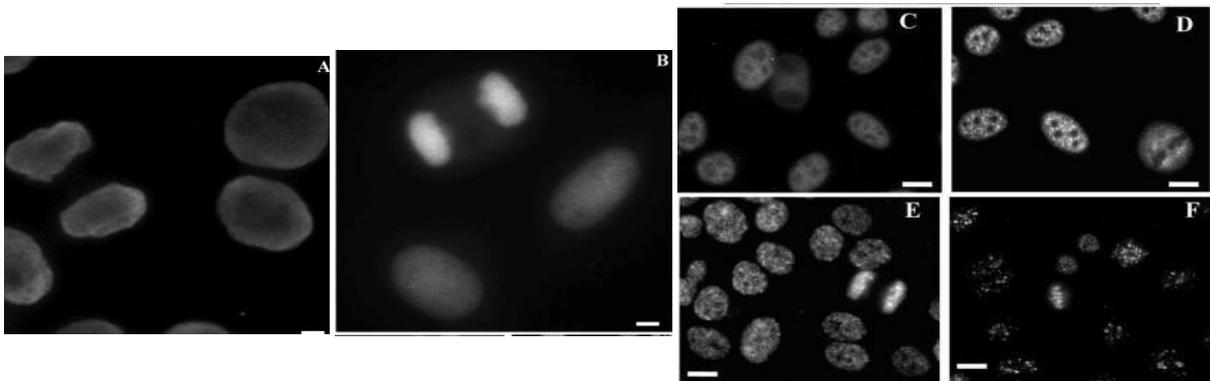
Within the many patterns that can be distinguished the ones specified in the upper part of the table are the most commonly recognised. The relationship between pattern and antigen specificity may differ in certain conditions. Similarly, the specific antigens marked in bold are the most commonly detected by reflex testing, although other antigens may be of importance in different clinical conditions. Less common pattern are specified in the lower part of this table.
 CAH, chronic autoimmune hepatitis; CENP, centromere protein; DFS, dense fine speckled; DM, dermatomyositis; dsDNA, double-stranded DNA; GW, glycine—tryptophan; HMG, high mobility group; IM, inflammatory myopathies; JIA, juvenile idiopathic arthritis; MCTD, mixed connective tissue disease; MSA, mitotic spindle; NuMA, nuclear mitotic apparatus; PBC, primary biliary cirrhosis; PDH, pyruvate dehydrogenase; PM/ScI, polymyositis/scleroderma; RA, rheumatoid arthritis; RibP, ribosomal P protein; RNP, ribonucleoprotein; SLE, systemic lupus erythematosus; SRP, signal recognition particle; SS, Sjögren's syndrome; SSc, systemic sclerosis; Topo-1, topo-isomerase 1; tRNA, transfer RNA; UCTD, undifferentiated connective tissue disease.

Fonte: AGMON-LEVIN et al. (2014).

A detecção do FAN por IFI também pode produzir resultados falsos negativos, mesmo na presença de altos títulos de anticorpos específicos como aqueles direcionados a SS-A/Ro60, Ro52/TRIM21 e Jo-1 (histidil tRNA sintetase) (MAHLER *et al.*, 2014). Assim, quando há alta suspeita clínica de SS, pode ser necessária a quantificação direta do anti-Ro/SS-A por ELISA, mesmo quando o teste para FAN for negativo (LING; MURALI, 2019).

Na coorte de Mariz et al. os autores observaram que o padrão nuclear pontilhado fino (PF) foi o mais frequente tanto em indivíduos saudáveis como em pacientes com DRAS, observado em 45,8% e 42%, respectivamente. No grupo de pacientes com DRAS o padrão nuclear pontilhado grosso (PG) foi o segundo mais comum, observado em 26,1% dos pacientes FAN positivo (MARIZ, Henrique A. *et al.*, 2011). Entre os indivíduos saudáveis, o padrão nuclear pontilhado fino denso (PFD) foi o segundo mais frequente (33,1%). Além disso, nenhum indivíduo saudável apresentou o padrão nuclear PG e nenhum paciente com DRAS apresentou o padrão nuclear pontilhado fino denso (Figura 7) (MARIZ, Henrique A. *et al.*, 2011).

Figura 7 – Características morfológicas dos padrões nucleares mais relevantes encontrados no ensaio de imunofluorescência indireta em células HEP-2, realizado em amostras de indivíduos saudáveis e pacientes com doenças reumáticas autoimunes.



A: homogêneo; B: quase homogêneo; C: nuclear pontilhado fino; D: nuclear pontilhado grosso; E: nuclear pontilhado fino denso; F: nuclear centromérico. Os soros foram diluídos 1:80. Barras: 5 m em A e B; 13 m em C-F.

Fonte: MARIZ, Henrique A. et. al (2011).

O padrão homogêneo de FAN é mais específico para doenças autoimunes quando comparado com o padrão pontilhado e pode estar associado ao LES ou ao LID. Se houver detecção de um padrão homogêneo em títulos elevados ou for observado em pacientes com alta suspeição clínica dessas condições, testes mais específicos como o anti-DNA dupla hélice e anti-histonas devem ser solicitados. Ocasionalmente, múltiplos padrões podem ser observados na mesma amostra (LING; MURALI, 2019).

Além das DRAS e indivíduos saudáveis, as neoplasias também estão associadas à produção de FANs, principalmente: leucemias, linfomas, carcinomas hepatocelulares e melanomas (ŞENER *et al.*, 2018; SUR, L. M. *et al.*, 2018).

Apesar dos anticorpos antinucleares serem amplamente utilizados para o rastreamento e diagnóstico de doenças autoimunes eles também são comumente encontrados em pacientes portadores de infecções crônicas como as virais (parvovírus B19, hepatite B, hepatite C e HIV), parasitárias (esquistossomose), na tuberculose e na endocardite bacteriana (IM *et al.*, 2020; ŞENER *et al.*, 2018; SUR, L. M. *et al.*, 2018).

Foi publicado em 2021 um artigo que descreveu uma paciente com FC subaguda, poliartrite de tornozelos, punhos e erupção cutânea, FAN positivo na diluição 1:640 e presença de anti-Ro/SSA. Após testes de Schirmer, Rosa Bengala e cintilografia salivar positivos, ela teve o diagnóstico de Síndrome de Sjogren. Nesse caso os autores acreditam que a patogênese do desenvolvimento da doença autoimune foi ligada à predisposição genética associada a fatores ambientais como infecções pela FC e que essas interações têm sido referidas como o “mosaico da autoimunidade” (CARVALHO, Jozélio Freire DE *et al.*, 2021).

5 METODOLOGIA

5.1 TIPO E LOCAL DO ESTUDO

Trata-se de um estudo transversal, observacional e descritivo. Este foi realizado no Ambulatório de Chikungunya no Serviço de Reumatologia do Hospital das Clínicas da UFPE em parceria com o Laboratório de Imunomodulação e Novas Abordagens Terapêuticas (LINAT) da UFPE, no período de 2019 e 2022 com interrupções pela epidemia pela COVID19 e afastamento pela licença maternidade.

5.2 AMOSTRA DA PESQUISA

Os pacientes incluídos no estudo foram recrutados por amostra por conveniência como parte do Projeto Replick - Estudo Multicêntrico da História Natural e Resposta Terapêutica de Chikungunya com foco nas Manifestações Musculoesqueléticas Agudas e Crônicas - estudo translacional que tem por finalidade descrever e avaliar a história natural e a resposta terapêutica das manifestações musculoesqueléticas de pacientes afetados pela FC no território brasileiro. Na condução do estudo foram incluídos 73 pacientes após aplicação dos critérios de inclusão e exclusão e Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) (Apêndice A).

5.3 CRITÉRIOS DE ELEGIBILIDADE

Critérios de inclusão:

- Idade acima de 18 anos.
- Caso confirmado pelos critérios de definição de caso de FC (MARQUES, Claudia Diniz Lopes; DUARTE, Angela Luzia Branco Pinto; RANZOLIN; DANTAS; CAVALCANTI; GONÇALVES; ROCHA JUNIOR; *et al.*, 2017) (Anexo B).
- Pacientes na fase aguda ou subaguda da FC.

Critérios de exclusão:

- Diagnóstico conhecido de doença autoimune sistêmica, inflamatória, infecciosa, ou neoplasia com diagnóstico há menos de 5 anos.
- Uso de medicamentos imunossupressores ou antineoplásicos e/ou radioterapia.
- Pacientes com qualquer outra enfermidade febril aguda.
- Pacientes portadores de transtornos mentais que impossibilitem ou que não permitam a coleta de informações por distúrbios de comunicação ou falta de fluência na língua portuguesa ou outro idioma compreendido pelo médico assistente.

5.4 INSTRUMENTO DE COLETA DE DADOS

Dados de fichas clínicas estruturadas contidas no Projeto Replick foram utilizadas para o preenchimento Plataforma Redcap Replick. A partir dos dados coletados da plataforma online elaboramos uma ficha estruturada (Apêndice B) e uma planilha de Excel (Apêndice C), com as variáveis de interesse.

Na ficha estrutura incluímos o valor do *Health Assessment Questionnaire* (HAQ) (Anexo C) e o escore de dor neuropática pelo Questionário DN4 (ANDRADE, Daniel C. DE *et al.*, 2010) (Anexo D).

5.5 PESQUISA DO FAN HEP-2

Coleta e obtenção do soro

A coleta de sangue periférico dos pacientes com chikungunya foi realizada em tubos secos e a vácuo, no ambulatório de reumatologia do HC – UFPE. Em seguida transportados ao Laboratório de Imunomodulação e Novas Abordagens Terapêuticas (LINAT) onde foi realizada a centrifugação (3000 rpm) durante 10 minutos e o soro armazenado em tubos *ependorf* em cinco alíquotas de 1 ml em freezer com temperatura de -80°C até o momento da realização do ensaio.

Realização do FAN Hep-2

A pesquisa do FAN foi realizada através da técnica da IFI em células de HEp-2 (carcinoma de laringe humano) em *kit* comercial do fabricante Hemagen®, EUA.

A titulação utilizada foi de 1:80, valor este adotado nos critérios classificatórios para o Lúpus Eritematoso Sistêmico (EULAR/ACR) de 2019 (ARINGER *et al.*, 2019). Sabe-se que diluição de triagem de 1:160 é considerada a mais adequada para a avaliação de pacientes adultos. (LING; MURALI, 2019; SUR, L. M. *et al.*, 2018), porém utilizamos uma titulação 1:80 uma vez que diluição de rastreio de 1:160 não tem sensibilidade perfeita para a detecção de DRAS e um resultado negativo também não exclui essas doenças (LING; MURALI, 2019).

Após a diluição 20µL das amostras foram aplicados em poços contidos nas lâminas. Em todos os ensaios foram utilizados dois controles positivos (homogêneo e centromérico), o controle negativo e o controle diluente (PBS). As lâminas foram incubadas durante 30 minutos em câmara úmida na geladeira (4°C), em seguida, lavadas 2x em PBS com lavagem inicial de 7 minutos e a subsequente de 8 minutos. Após as lavagens foi adicionado o anticorpo secundário anti-IgG humana conjugada à isotiocianato de fluoresceína (FITC). Em seguida, as lâminas foram novamente incubadas por 30 minutos em câmara úmida na geladeira (4°C), lavadas e montadas com glicerol e lamínula.

As imagens foram obtidas em microscópio de fluorescência biológico invertido (Eclipse TS2-FL–Nikon). Os padrões morfológicos foram analisados independentemente por dois médicos com expertise (ALBPD e HAM), considerando as características descritas pelo ICAP (DAMOISEAUX *et al.*, 2016). Na primeira leitura houve um índice de concordância de 65/73 (89,04%). Após revisão em conjunto dos FANs discordantes, a concordância foi de 100% na releitura.

6 ASPECTOS ÉTICOS

Este projeto foi submetido à avaliação e aprovação do Comitê de Ética em Pesquisas (CEP) em Seres Humanos do Centro de Ciências da Saúde da UFPE, de acordo com a resolução nº 466/2012 do Conselho Nacional de Saúde. Foi aprovado com CAAE: 07936919.8.2010.5208 e número de parecer: 3.555.583 (Anexo A).

Todos os indivíduos participantes do estudo assinaram um Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) (Apêndice A), conforme exigência da referida resolução. Nenhuma coleta foi realizada sem a autorização prévia dos voluntários. As coletas do sangue foram realizadas por profissionais devidamente treinados para reduzir os riscos, minimizando assim o número de tentativas para coleta e complicações como hematoma (área arroxeadada na pele) no local, que desaparece totalmente após alguns dias sem necessidade de tratamento, e sob técnica de assepsia adequada para evitar riscos como flebite, contaminação ou infecção.

7 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Todas as análises estatísticas foram realizadas pelo programa *Statistical Package for the Social Sciences*, versão 20 para *Windows*. As análises estatísticas compreenderam estatística descritiva e inferencial. Frequência absoluta e relativa foram utilizadas para descrever as características demográficas, comorbidades e parâmetros clínicos dos pacientes (variáveis categóricas). Para descrever as variáveis numéricas foi utilizada a média±desvio-padrão.

Para determinar os fatores associados ao fator antinuclear (FAN), recorreu-se as análises bivariadas: teste Qui-Quadrado de Pearson ou Teste Exato de Fisher para as variáveis categóricas e o teste t para amostras independentes. Para analisar os fatores associados aos padrões do fator antinuclear foi utilizado teste Qui-Quadrado de Pearson para as variáveis categóricas e análise de variância de um fator, acompanhado pelo *post-hoc de Tukey* para identificar as diferenças significantes quando observado efeito estatisticamente significativo. Para todas as análises, foi adotado o valor de $p < 0,05$ como estatisticamente significativo.

8 RESULTADOS

8.1 CARACTERIZAÇÃO CLÍNICO-EPIDEMIOLÓGICA DA AMOSTRA DOS PACIENTES COM FC

Foram incluídos 73 pacientes do Estudo Replick que preencheram critérios de definição de Febre Chikungunya (Anexo B). Em relação aos resultados, observamos que 68,5% eram do sexo feminino e a média de idade de 47 ± 15 anos. A maioria (97,2%) era procedente de Recife e Região Metropolitana. Descrevemos pacientes provenientes de Recife, Olinda, Paulista, Jaboatão dos Guararapes, Camaragibe, Abreu e Lima, Gravatá e Escada (Tabela 1).

As comorbidades mais prevalentes foram IMC ≥ 25 (71,4%), hipertensão arterial sistêmica (34,2%), diabetes *mellitus* (13,7%) e doenças reumatológicas prévias (19,2%), não fazendo parte dessas doenças as autoimunes e inflamatórias conforme os critérios de exclusão. A doença reumatológica mais prevalente foi a osteoartrite, encontrada em 11/14 (78,5%) dos pacientes que apresentavam doença reumatológica prévia (Tabela 1).

Observamos que 56,2% dos pacientes encontravam-se na fase subaguda da FC, com média de 31 ± 26 dias do início dos sintomas (Tabela 2).

Tabela 1. Características demográficas de pacientes com Febre Chikungunya (n=73).

Variáveis	Valores
	Média \pm DP
Idade	47 \pm 15
Índice de massa corporal (kg/m ²) (n=69)	27,8 \pm 5,1
	n (%)
Sexo Feminino	50 (68,5)
Masculino	23 (31,5)
Procedência Recife	37 (50,6)
Região Metropolitana	34 (46,6)
Agreste	1 (1,4)
Zona da mata	1 (1,4)
Comorbidades IMC ≥ 25 (n=70)	50 (71,4)
Hipertensão arterial	25 (34,2)
Diabetes	10 (13,7)
Doença Reumatológica (n=14)	14 (19,2)
Osteoartrite	11 (78,5)
Síndrome do Túnel do Carpo	2 (14,2)
Osteoporose	1 (7,1)
Neoplasia	6 (8,2)
Doença arterial coronariana	3 (4,1)
Doença Renal	3 (4,1)

Valores apresentados em média \pm desvio-padrão ou frequência absoluta (frequência relativa).

Tabela 2. Características do tempo de evolução e sintomas gerais da fase aguda da FC (n=73).

Variáveis	Valores
	Média ± desvio-padrão
Início dos sintomas (dias)	31 ± 26
	n (%)
Fase da Chikungunya Aguda	
	32 (43,8)
Subaguda	41 (56,2)
Sintomas	
Artralgia	70 (95,9)
Febre	62 (84,9)
Cefaleia	57 (78,1)
Rash	55 (75,3)
Fadiga	47 (64,4)
Prurido	41 (56,2)
Edema	37 (50,7)
Parestesia	31 (42,5)
Mialgia	30 (41,1)
Diarreia	27 (37,0)
Lombalgia	23 (31,5)
Náusea	15 (20,5)
Vômitos	14 (19,2)
Alterações de Memória	13 (17,8)
Alopecia	7 (9,6)
Depressão	3 (4,1)

Valores apresentados em média ± desvio-padrão ou frequência absoluta (frequência relativa).

Na Tabela 3, são descritas as manifestações musculoesqueléticas, os índices de atividade, capacidade funcional e qualidade de vida dos pacientes com FC. Observamos que 67,1% referiam rigidez matinal, 41,1% apresentaram um moderado a grave impacto na capacidade funcional medido pelo HAQ e a que a maior parte dos pacientes apresentou CDAI alto (47,9%).

Tabela 3. Características das manifestações musculoesqueléticas, índices de atividade da doença, capacidade funcional e qualidade de vida em pacientes com FC (n=73).

Variáveis	Valores
	Média ± desvio-padrão
Dor (0-10)	6,4 ± 2,7
Fadiga (0-10)	5,2 ± 3,3
Avaliação Global de Saúde (0-10)	6,1 ± 2,6
Escala Visual Analógica dor Paciente – EVA _p (0-10)	6,4 ± 2,6
Escala Visual Analógica dor Médico – EVA _m (0-10)	5,0 ± 2,5
Número de articulações dolorosas (0-28)	10,3 ± 9,0
Número de articulações edemaciadas (0-28)	2,0 ± 3,1
<i>Clinical Disease Activity Index</i> – CDAI	23,9 ± 14,1
Dor neuropática - Questionário DN4 (0-10)	4,4 ± 2,8
<i>Health Assessment Questionnaire</i> – HAQ	1,65 ± 0,82
	n (%)

Rigidez Matinal	49 (67,1)
Duração da Rigidez Matinal (n=54) <	
1 hora	34 (68,0)
1 hora	15 (32,0)
<hr/>	
Clinical Disease Activity Index (CDAI)	
Remissão (< 2.8)	5 (6,8)
Baixo (> 2.8 e 10)	12 (16,4)
Moderado (>10 e 22)	21 (28,9)
Alto (>22)	35 (47,9)
Health Assessment Questionnaire (HAQ)	
Leve a moderada (0-1)	16 (21,9)
Moderada a grave (1,1-2)	30 (41,1)
Grave a muito grave (2,1-3)	27 (37,0)

Valores apresentados média±desvio-padrão ou frequência absoluta (relativa). CDAI - *Clinical Disease Activity Index*, HAQ - *Health Assessment Questionnaire*.

8.2 DETERMINAÇÃO DA FREQUÊNCIA DA POSITIVIDADE DO FAN NA FASE AGUDA/SUBAGUDA

Em nosso estudo, encontramos em 39,7% dos pacientes o fator antinuclear (FAN) positivo (Tabela 4).

Tabela 4. Frequência da positividade do fator antinuclear (FAN) e dos padrões na imufluorescência encontrados em pacientes com Febre Chikungunya.

Variáveis	n (%)
Fator antinuclear Positivo	
Negativo	29 (39,7)
Negativo	44 (60,3)
Padrões Fator antinuclear Nuclear	
Pontilhado Grosso	9 (31,1)
Nuclear Pontilhado Fino	8 (27,6)
Nuclear Homogêneo	6 (20,8)
Nucleolar	2 (6,9)
Nuclear Pontilhado Fino e Citoplasmático	1 (3,4)
Nuclear Pontilhado Fino e Membrana Celular	1 (3,4)
Membrana Celular	1 (3,4)
NUMA	1 (3,4)

Valores apresentados em frequência relativa (%).

8.3 IDENTIFICAÇÃO DOS PADRÕES MAIS FREQUENTES DO FAN

Os padrões do FAN pela imunofluorescência indireta (IFI) mais prevalentes foram nuclear pontilhado grosso (31,1%) (Figura 8), nuclear pontilhado fino (27,6%) (Figura 9) e nuclear homogêneo (20,8%) (Figura 10) (Tabela 4).

Figura 8 -

Padrão Nuclear Pontilhado Grosso

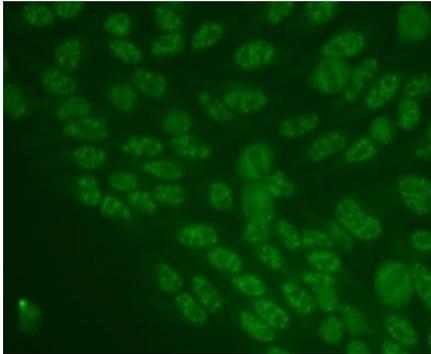


Figura 9 -

Padrão Nuclear Pontilhado Fino

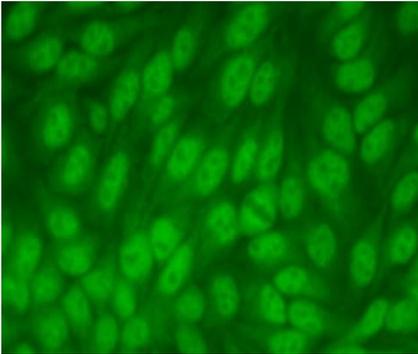
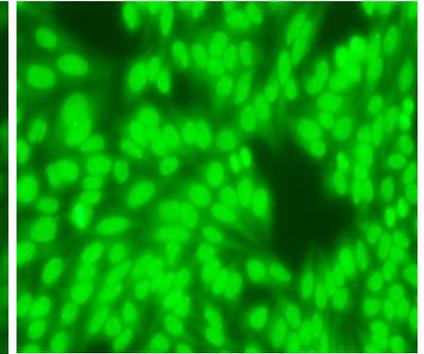


Figura 10 -

Padrão Nuclear Homogêneo



Fonte: Lâminas e fotos realizadas no LINAT.

8.4 CORRELAÇÃO ENTRE A POSITIVIDADE DO FAN E OS INDICADORES DE ATIVIDADE ARTICULAR E COMPROMETIMENTO FUNCIONAL

Encontramos mais pacientes na fase aguda com FAN positivo (68,8%) quando comparamos com pacientes na fase subaguda (53,7%), porém sem significância estatística ($p=0,191$).

A presença de edema na fase aguda correlacionou-se com a ausência de FAN ($p=0,025\%$).

Tabela 5. Avaliação da associação entre a positividade do FAN, tempo do início dos sintomas e as manifestações musculoesqueléticas.

Variáveis	FAN		P
	Negativo (n = 44)	Positivo (n = 29)	
	n (%)		
Sexo			
Masculino	16 (69,6%)	7 (30,4%)	
Feminino	28 (56,0%)	22 (44,0%)	0,271
Fase da FC Aguda			
Subaguda	22 (68,8%)	10 (31,1)	
	22 (53,7%)	19 (46,3)	0,191
Sintomas fase aguda da FC Febre			
	39 (62,9)	23 (37,1)	0,276
Cefaleia	33 (57,9)	24 (42,1)	0,433
Fadiga	28 (59,6)	19 (40,4)	0,870
Náusea	12 (80,0)	3 (20,0)	0,137
Vômito	11 (78,6)	3 (21,4)	0,141
Diarreia	16 (59,3)	11 (40,7)	1,000
Parestesia	20 (64,5)	13 (35,5)	0,525
Artralgia	41 (58,6)	29 (41,4)	0,272
Edema	27 (73,0)	10 (27,0)	0,025
Mialgia	16 (53,3)	14 (46,7)	0,311
Lombalgia	12 (46,2)	14 (53,8)	0,140
Prurido	23 (56,1)	18 (43,9)	0,409
Rash	34 (61,8)	21 (38,2)	0,637
Depressão	2 (66,7)	1 (33,3)	1,000
Alopecia	4 (57,1)	3 (42,9)	1,000
Memória	7 (53,8)	6 (46,2)	0,601

Rigidez Matinal			
Negativo	15 (62,5)	9 (37,5)	
Positivo	29 (59,2)	20 (40,8)	0,786
Duração da Rigidez (n=54)			
< 1 hora	18 (55,9)	15 (44,1)	
1 hora	10 (62,5)	6 (37,5)	0,658
Média ± DP			
Início dos sintomas (dias)	30±27	33±26	0,584
Dor (0-10)	6,4±2,6	6,5±2,7	0,854
Fadiga (0-10)	5,0±3,4	5,4±3,3	0,026
Avaliação Global de Saúde (0-10)	6,1±2,9	6,1±2,1	0,981
Dor neuropática - Questionário DN4 (0-10)	4,4±2,9	4,4±2,6	0,657
Escala Visual Analógica dor Paciente EVAp (0-10)	6,3±2,5	6,6±2,7	0,635
Escala Visual Analógica dor Médico EVAm (0-10)	5,5±2,4	4,7±2,5	0,150
Número de articulações dolorosas (0-28)	12,1±9,6	7,5±7,5	0,935
Número de articulações edemaciadas (0-28)	2,1±3,1	1,8±3,0	0,720
<i>Clinical Disease Activity Index</i> – CDAI	26±15	21±13	0,712
<i>Health Assessment Questionnaire</i> – HAQ	1,6±0,8	1,7±0,8	0,100
n (%)			
CDAI Classificação Remissão			
(2.8)	4 (80,0)	1 (20,0)	
Baixo (> 2.8 e 10) Moderado	6 (50,0)	6 (50,0)	
(>10 e 22)	10 (47,6)	11 (52,4)	0,289
Alto (>22)	24 (65,6)	11 (31,4)	
HAQ Classificação Leve			
(0-1)	11 (68,8)	5 (31,2)	
Moderado (1,1-2)	17 (56,7)	13 (43,3)	0,721
Grave (2,1-3)	16 (59,3)	11 (40,7)	

Valores apresentados em frequência relativa (%) e em média±desvio-padrão.

8.5 CORRELAÇÃO ENTRE OS PADRÕES DO FAN E OS INDICADORES DE ATIVIDADE ARTICULAR E COMPROMETIMENTO FUNCIONAL

Na fase aguda da FC encontramos uma predominância do padrão nuclear pontilhado grosso (66,6%), enquanto na fase subaguda houve prevalência do padrão nuclear pontilhado fino (41,2%) ($p=0,337$) (Tabela 6).

Dentre os pacientes que relatavam rigidez matinal, um menor número de pacientes (18,8%) apresentava o padrão nuclear pontilhado fino quando comparado com o nuclear homogêneo (37,4%) ($p=0,03$).

Não houve relação estatisticamente significativa entre CDAI, HAQ e os padrões do FAN (Tabela 6).

Tabela 6. Avaliação da associação entre os padrões do FAN pela imunofluorescência indireta e as manifestações musculoesqueléticas em pacientes com FC.

Variáveis	Nuclear	Nuclear		p
	Pontilhado Fino	Pontilhado Grosso	Homogêneo Nuclear	
	n (%)			
Fase da Chikungunya				
Aguda				
Subaguda		4 (66,6)	1 (16,7)	0,270
Rigidez Matinal	1 (16,7)	5 (29,4)	5 (29,4)	
Negativo	7 (41,2)			
Positivo			-	0,033
Duração da Rigidez (n=55)	5 (71,4)		6 (37,4)	
< 1 hora	3 (18,8) *	2 (28,6)	5 (41,7)	0,525
1 hora	2 (16,6)	7 (43,8)	1 (20,0)	
CDAI Classificação	2 (40,0)			
Remissão		5 (41,7)	-	
Baixo	1 (33,3)	2 (40,0)	1 (20,0)	0,594
Moderado	2 (40,0) 4		1 (12,5)	
Alto	(50,0)	2 (66,7)	4 (33,33)	
HAQ Classificação	4 (33,33)	2 (40,0)		
Leve (0-1)	1 (25,0)	3 (37,5)	-	0,123
Moderado (1,1-2)	6 (54,5)	4 (33,33)	2 (15,4)	
Grave (2,1-3)	1 (12,5)	3 (75,0) 3 (27,3)	4 (50,0)	
		3 (37,5)		

Valores apresentados em frequência relativa (%). #Nenhum paciente apresentou ausência de Artralgia.

*Diferença estatisticamente significativa do Padrão Homogêneo ($p < 0,05$).

Observamos escores mais altos nas escalas de dor ($8,3 \pm 0,5$), fadiga ($6,7 \pm 3,7$), avaliação global de saúde ($7,8 \pm 1,7$), EVAp ($8,3 \pm 1,0$), EVAm ($6,7 \pm 2,7$), CDAI (28 ± 14) e HAQ ($2,3 \pm 0,6$) associados ao padrão nuclear homogêneo, porém sem relevância estatística (Tabela 7).

Identificamos que o grupo de pacientes com padrão nuclear pontilhado fino possuía um escore médio mais baixo de dor neuropática pelo questionário DN4 ($3,0 \pm 2,4$), quando comparado com o grupo de pacientes com padrão nuclear homogêneo ($6,5 \pm 2,5$) ($p = 0,03$) (Tabela 7).

Tabela 7. Avaliação da associação entre os padrões do FAN pela imunofluorescência indireta e os índices de atividade na FC.

Variáveis	Pontilhado Fino	Pontilhado Grosso	Homogêneo	p
	Média ± DP			
Início dos sintomas (dias)	37±22	33±33	39±18	0,918
Dor (0-10)	5,4±3,5	6,2±2,5	8,3±0,5	0,137

Fadiga (0-10)	4,8±4,0	5,6±3,0	6,7±3,7	0,613
Avaliação Global de Saúde (0-10)	5,6±2,4	5,5±2,9	7,8±1,7	0,142
Escalda Visual Analógica dor – Paciente (EVAp 0-10)	6,0±3,7	6,1±2,7	8,3±1,0	0,266
Escalda Visual Analógica dor – Médico (EVAm 0-10)	4,3±2,4	4,3±2,6	6,7±2,7	0,174
Número de articulações dolorosas (0-28)	7,3±7,1	6,3±6,6	9,8±9,7	0,685
Número de articulações edemaciadas (0-28)	1,4±3,2	1,2±3,0	3,5±3,4	0,355
CDAI (0-28)	19±11	18±13	28±14	0,272
Dor neuropática - Questionário DN4 (0-10)	3,0±2,4 *	4,7±2,1	6,5±2,5	0,035
<u>HAQ (0-10)</u>	<u>1,5±0,6</u>	<u>1,4±1,0</u>	<u>2,3±0,6</u>	<u>0,083</u>

Valores apresentados em média±desvio-padrão. *Diferença estatisticamente significativa do Padrão Homogêneo (p<0,05).

9 DISCUSSÃO

Neste trabalho foi avaliado de forma inédita o perfil de anticorpos antinucleares (FAN) em pacientes com febre Chikungunya (FC), nas fases aguda e subaguda.

Observamos que em 39,7% dos pacientes com FC, o fator antinuclear (FAN) foi positivo pela imunofluorescência indireta (IFI).

A frequência da positividade do FAN em pessoas saudáveis pode chegar a 20-30% (PISETSKY, 2017), na diluição 1:80 encontramos o anticorpo antinuclear em 15% dos doadores de sangue saudáveis (GRYGIEL-GÓRNIAK; ROGACKA; PUSZCZEWICZ, 2018). Em nosso estudo, acreditamos que a FC tenha interferido na identificação de um maior número de pacientes com o FAN positivo, quando comparado com pessoas saudáveis.

Encontramos um percentual significativo de pacientes com FAN positivo quando comparamos com os valores encontrados em pacientes saudáveis na literatura. Porém, um importante fator limitador do nosso estudo foi a ausência de grupos controles que são utilizados a fim de minimizar o efeito de todas as variáveis, exceto a variável independente de interesse.

Albuquerque et al. avaliaram 53 pacientes com neoplasia pancreática e encontraram uma positividade de 41,5% de FAN, dentre os quais 50% apresentavam padrão nuclear pontilhado fino denso. Os autores traçaram associações de resultados de FAN e marcadores tumorais (CA19-9 e CA125), que foram maiores entre os pacientes com FAN negativo, inferindo que ter um FAN positivo indicaria um bom prognóstico (ALBUQUERQUE *et al.*, 2022).

Um estudo descreveu 47 pacientes com tuberculose pulmonar e encontrou o FAN positivo (1:80) em 33% quando comparado com controles saudáveis (20%) (ELKAYAM *et al.*, 2007). Isenberg et al. relataram a presença do FAN em 15-40% dos pacientes com tuberculose, infecção por klebsiella e outras bactérias gram negativas (ISENBERG *et al.*, 1987).

Bayraktar et al. observaram a presença do FAN em 63% dos 162 pacientes com infecção crônica pelo vírus da hepatite C (BAYRAKTAR, Y. *et al.*, [s.d.]).

Assim, observamos em nosso estudo FAN positivo em frequência similar encontrada na literatura em outras patologias como neoplasia de pâncreas e tuberculose pulmonar, por exemplo.

Apesar da frequência do FAN em várias infecções virais estar bem documentadas na literatura mundial, há poucos relatos conflitantes quanto à prevalência de autoanticorpos na FC. Não há descrição na literatura da frequência da positividade desse autoanticorpo na FC aguda e subaguda para comparação. Há descrição de alguns relatos de casos na literatura de pacientes com FC nas fases aguda/subaguda que relataram a presença do FAN e que apresentaram manifestações autoimunes.

Em 2009 houve o primeiro relato de caso de um paciente com FC e FAN na diluição 1:160 com padrão pontilhado que evoluiu com um quadro grave de fraqueza muscular com elevação de enzimas musculares. Houve o desaparecimento do FAN após a resolução do quadro três meses depois, indicando provável ativação imune resultante da inflamação maciça, ativação das respostas imunes celulares virais e ativação policlonal de células B contra o hospedeiro. Nesse caso, a progressão para a deterioração clínica foi desencadeada pela replicação viral através do mimetismo molecular proposto e houve apenas uma associação temporal entre FC e FAN (MAEK-A-NANTAWAT; SILACHAMROON, 2009).

As células B têm um papel importante na iniciação e aceleração de doenças autoimunes, especialmente aquelas mediadas por autoanticorpos (WU *et al.*, 2018). Dessa forma, é proposto que células T autorreativas, ativadas por antígenos externos, escapem dos mecanismos de tolerância imunológica central e periférica e se diferenciarem em células B de memória ou células plasmáticas produtoras de anticorpos, induzindo assim o fenômeno da autoimunidade (ROJAS *et al.*, 2018; WU *et al.*, 2018). Em indivíduos saudáveis, os linfócitos B são mantidos inativos por uma série de mecanismos reguladores e de controle e quando esse equilíbrio é interrompido, esses indivíduos são capazes de desenvolver uma doença autoimune (PAGE *et al.*, 2015).

Na literatura, alguns estudos descreveram a frequência do FAN na fase crônica, porém não foram desenhados especificamente para verificar a prevalência do anticorpo antinuclear na FC e não descreveram a técnica utilizada para realização do FAN. Além disso, a relação temporal entre uma infecção e o desenvolvimento de um processo autoimune pode, em muitos casos, não ser clara devido ao longo tempo entre a percepção do aparecimento dos sintomas clínicos e estabelecimento do diagnóstico (WUCHERPFENNIG, 2001).

Um estudo prospectivo com 42 pacientes com FC, após 36 meses da fase aguda, encontrou 7 pacientes (16,6%) com FAN positivo (SCHILTE *et al.*, 2013). Outro estudo observacional avaliou 30 pacientes com quadro articular inflamatório da FC, 13 anos após o

início dos sintomas e encontrou o FAN positivo em 10% (GUILLOT; RIBERA; GASQUE, 2020).

Em nosso estudo, o padrão do FAN pela imunofluorescência indireta mais frequente foi o nuclear pontilhado grosso, encontrado em 39,7% dos pacientes com FC aguda/subaguda. Sabe-se que na população saudável, o padrão pontilhado do FAN é o mais frequente, porém quando na presença de altos títulos, ou forte suspeita clínica de doença autoimune, há a necessidade da realização de outros autoanticorpos (LING; MURALI, 2019).

Um estudo que avaliou as características do FAN em indivíduos saudáveis e com DRAS observou que o padrão nuclear pontilhado fino foi o mais frequente em ambos os grupos (45,8% e 42%, respectivamente). O padrão nuclear pontilhado grosso foi o segundo mais comum no grupo de DRAS e não foi observado em nenhum indivíduo saudável (MARIZ, Henrique A. *et al.*, 2011).

O padrão nuclear homogêneo foi o terceiro padrão mais frequente de FAN aparecendo em 17,7% dos pacientes. Sabe-se que o padrão homogêneo de FAN é mais específico para doenças autoimunes quando comparado com o padrão pontilhado e pode estar associado ao LES ou ao LID. Quando presente em títulos elevados ou for observado em pacientes com alta suspeição clínica dessas condições, testes mais específicos como o anti-DNA dupla hélice e anti-histonas devem ser solicitados (LING; MURALI, 2019).

Não encontramos associação estatisticamente significativa entre rigidez matinal, escala de dor, escala de fadiga, avaliação global de saúde, número de articulações dolorosas e edemaciadas, EVAp, EVAm, CDAI, HAQ e a positividade do FAN.

Esperávamos encontrar associação estatisticamente significativa entre a presença do anticorpo antinuclear e os índices de atividade, assim como é observado nos estudos que avaliam o FAN na fase crônica da FC. Um fator que pode ter influenciado nesse resultado foi o pequeno número de pacientes e o fato de não ter sido realizado o FAN em maiores diluições.

Na coorte de Guillot *et al.* foi observado que no grupo de pacientes com FC que apresentavam persistência do quadro articular houve uma maior prevalência do FAN (GUILLOT; RIBERA; GASQUE, 2020). Por outro lado, Schilte *et al.* avaliaram dor articular crônica em pacientes com FC, e observaram que três pacientes apresentaram FAN em títulos elevados, um no grupo com dor articular e dois no grupo sem dor articular, concluindo que os sintomas crônicos não foram associados a autoimunidade (SCHILTE *et al.*, 2013).

Muitos fatores inatos, genéticos ou adquiridos (ambientais), são suspeitos de estarem envolvidos no desenvolvimento de doenças autoimunes. Entre os fatores ambientais, os agentes infecciosos constituem peças-chaves nesse processo, principalmente os agentes virais (DOTAN *et al.*, 2021; PAGE *et al.*, 2015; ROJAS *et al.*, 2018)

Em 2012 foi descrito o primeiro relato de caso de infecção grave pela dengue com manifestações autoimunes (serosites e nefropatia) e FAN positivo no padrão fusão mitótico. Foi aventada a possibilidade de que o mimetismo molecular podia estar envolvido na patogênese dessa ativação autoimune (FONTES JARDIM *et al.*, 2012).

Apesar de não haver significância estatística entre CDAI, HAQ e os padrões do FAN, observamos que o padrão nuclear pontilhado fino esteve menos associado a rigidez matinal quando comparado ao padrão nuclear homogêneo, estatisticamente significativo ($p=0,03$).

Observamos ainda que o padrão nuclear pontilhado fino esteve associado a menores valores do escore para dor neuropática pelo DN4, quando comparado ao padrão homogêneo, com significância estatística ($p=0,03$).

Assim, podemos aventar a possibilidade de que pacientes nas fases aguda/subaguda da FC que apresentam o FAN positivo no padrão nuclear pontilhado fino tenham um melhor prognóstico de dor neuropática e rigidez matinal, em relação aos pacientes com padrão nuclear homogêneo.

Uma importante limitação do estudo foi a verificação da positividade do FAN apenas na titulação 1:80, uma vez que a presença do FAN em maiores diluições está mais associada a doenças autoimunes (MARIZ, Henrique A. *et al.*, 2011). Outra limitação foi a ausência da dosagem de autoanticorpos específicos, principalmente nos pacientes com FAN positivo com padrão nuclear homogêneo, a fim de identificar ou não maior associação com manifestações/doenças autoimunes nesses pacientes.

Marcadores biológicos de diagnóstico e prognóstico estão sendo estudados na coorte REPLICK. Pacientes que evoluíram na fase crônica também estão sendo estudados, a fim de poder responder se presença do FAN seria um fator prognóstico de cronicidade musculoesquelética. Além disso O FAN também está sendo avaliado em diluições maiores em pacientes em todas as fases da FC a fim de aumentar a força de associação entre a presença do autoanticorpo e as variáveis de interesse. Neste sentido tivemos a oportunidade de avaliar o FAN de seis pacientes na fase crônica e encontramos que em 5/6 (83,3%) pacientes foi positivo, dos quais três tinham o padrão nuclear pontilhado fino e dois o nuclear pontilhado grosso.

10 CONCLUSÃO

Em nosso estudo, encontramos um percentual significativo de pacientes com FAN positivo (39,7%). O padrão do FAN através da IFI mais frequente foi o nuclear pontilhado grosso.

Não pudemos estabelecer relação estatisticamente significativa entre rigidez matinal, índices de atividade da doença e a positividade do FAN na FC aguda/subaguda. Assim, a presença desse autoanticorpo na FC aguda e subaguda não mostrou ser preditor de maior ou menor gravidade nesses pacientes.

Dentre os pacientes que relatavam rigidez matinal, um menor número de pacientes apresentava o padrão nuclear pontilhado fino quando comparado com o nuclear homogêneo ($p=0,03$).

Identificamos que o grupo de pacientes com padrão nuclear pontilhado fino possuía um escore médio mais baixo de dor neuropática pelo questionário DN4, quando comparado com o grupo de pacientes com padrão nuclear homogêneo ($p= 0,03$).

Dessa forma, acreditamos que quando positivo, o FAN no padrão nuclear pontilhado fino pode ser preditor de menor gravidade dos sintomas da FC nas fases aguda e subaguda.

Observamos escores mais altos nas escalas de dor, fadiga, avaliação global de saúde EVAp, EVAm, CDAI e HAQ associados ao padrão nuclear homogêneo, porém não houve significância estatística.

REFERÊNCIAS

- AGMON-LEVIN, N. *et al.* International recommendations for the assessment of autoantibodies to cellular antigens referred to as anti-nuclear antibodies. **Annals of the Rheumatic Diseases**, 2014. v. 73, n. 1, p. 17–23.
- AGUSTINELLI, R. A. *et al.* Distinctive features of positive anti-cell antibody tests (indirect immunofluorescence on HEp-2 cells) in patients with non-autoimmune diseases. **Lupus**, 2019. v. 28, n. 5, p. 629–634.
- ALBUQUERQUE, A. P. *et al.* ANA-HEp2 pattern evaluation in pancreatic cancer: What can the autoantibodies tell us? **Hepatobiliary & Pancreatic Diseases International**, fev. 2022. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1499387222000145>>.
- ALETAHA, D. *et al.* Remission and active disease in rheumatoid arthritis: Defining criteria for disease activity states. **Arthritis & Rheumatism**, set. 2005. v. 52, n. 9, p. 2625–2636. Disponível em: <<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/art.21235>>.
- ANDRADE, Daniel C. DE *et al.* Chronic pain associated with the Chikungunya Fever: Long lasting burden of an acute illness. **BMC Infectious Diseases**, 2010. v. 10.
- ANDRADE, Daniel Ciampi DE *et al.* Chronic pain associated with the Chikungunya Fever: long lasting burden of an acute illness. **BMC Infectious Diseases**, 19 dez. 2010. v. 10, n. 1, p. 31. Disponível em: <<https://bmcinfectdis.biomedcentral.com/articles/10.1186/1471-23341031>>.
- ARINGER, M. *et al.* 2019 European League Against Rheumatism/American College of Rheumatology classification criteria for systemic lupus erythematosus. **Annals of the rheumatic diseases**, 2019. v. 78, n. 9, p. 1151–1159. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/31383717>>.
- BAYRAKTAR, Y. *et al.* A comparison of the prevalence of autoantibodies in individuals with chronic hepatitis C and those with autoimmune hepatitis: the role of interferon in the development of autoimmune diseases. **Hepato-gastroenterology**, [s.d.]. v. 44, n. 14, p. 417–25. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9164512>>.
- BLETTERY, M. *et al.* Brief Report: Management of Chronic Post-Chikungunya Rheumatic Disease: The Martinican Experience. **Arthritis & Rheumatology**, nov. 2016. v. 68, n. 11, p. 2817–2824. Disponível em: <<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/art.39775>>.
- BORGHERINI, G. *et al.* Outbreak of Chikungunya on Reunion Island: Early Clinical and Laboratory Features in 157 Adult Patients. **Clinical Infectious Diseases**, 1 jun. 2007. v. 44, n. 11, p. 1401–1407. Disponível em: <<https://academic.oup.com/cid/articlelookup/doi/10.1086/517537>>.
- BORGHERINI, Gianandrea *et al.* Persistent arthralgia associated with chikungunya virus: A study of 88 adult patients on Reunion Island. **Clinical Infectious Diseases**, 2008. v. 47, n. 4, p. 469–475.
- BOSSUYT, X. *et al.* Understanding and interpreting antinuclear antibody tests in systemic rheumatic diseases. **Nature Reviews Rheumatology**, 2020. v. 16, n. 12, p. 715–726. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1038/s41584-020-00522-w>>.

- BOUQUILLARD, É.; COMBE, Bernard. A report of 21 cases of rheumatoid arthritis following Chikungunya fever. A mean follow-up of two years. **Joint Bone Spine**, dez. 2009. v. 76, n. 6, p. 654–657. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1297319X09001511>>.
- BRITO, C. A. A. D. *et al.* Reduced Duration of Postchikungunya Musculoskeletal Pain in Rheumatological Patients Treated with Biologicals. **Journal of Tropical Medicine**, 2020. v. 2020.
- BRITO, C. A. A. DE *et al.* Pharmacologic management of pain in patients with Chikungunya: A guideline. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, 2016. v. 49, n. 6, p. 668–679.
- *et al.* Update on the treatment of musculoskeletal manifestations in Chikungunya fever: A guideline. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, 2020. v. 53, n. December 2019, p. 1–8.
- BRUCE, B; FRIES, J F. The Health Assessment Questionnaire (HAQ). **Clinical and experimental rheumatology**, [s.d.]. v. 23, n. 5 Suppl 39, p. S14-8. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16273780>>.
- BRUCE, Bonnie; FRIES, James F. The Stanford Health Assessment Questionnaire: Dimensions and practical applications. **Health and Quality of Life Outcomes**, 2003. v. 1, p. 1–6.
- BURT, F. J. *et al.* Chikungunya virus: an update on the biology and pathogenesis of this emerging pathogen. **The Lancet Infectious Diseases**, 2017. v. 17, n. 4, p. e107–e117.
- CARVALHO, Jozélio Freire DE *et al.* Sjögren's Syndrome Associated with Chikungunya Infection: A Case Report. **Rheumatology and Therapy**, 2021. v. 8, n. 1, p. 631–637.
- CHAN, E. K. L. *et al.* Report of the First International Consensus on Standardized Nomenclature of Antinuclear Antibody HEp-2 Cell Patterns 2014-2015. **Frontiers in immunology**, 2015. v. 6, p. 412. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26347739>>.
- CHEN, W. *et al.* Arthritogenic alphaviral infection perturbs osteoblast function and triggers pathologic bone loss. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, 22 abr. 2014. v. 111, n. 16, p. 6040–6045. Disponível em: <<https://pnas.org/doi/full/10.1073/pnas.1318859111>>.
- *et al.* Bindarit, an Inhibitor of Monocyte Chemotactic Protein Synthesis, Protects against Bone Loss Induced by Chikungunya Virus Infection. **Journal of Virology**, jan. 2015. v. 89, n. 1, p. 581–593. Disponível em: <<https://journals.asm.org/doi/10.1128/JVI.02034-14>>.
- COONS, A. H.; KAPLAN, M. H. Localization of antigen in tissue cells; improvements in a method for the detection of antigen by means of fluorescent antibody. **The Journal of experimental medicine**, 1 jan. 1950. v. 91, n. 1, p. 1–13. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15395569>>.
- CRUVINEL, W. D. M. *et al.* V Brazilian consensus guidelines for detection of anti-cell autoantibodies on hep-2 cells. **Advances in Rheumatology**, 2019. v. 59, n. 1, p. 1–11.

DAMOISEAUX, J. *et al.* International consensus on ANA patterns (ICAP): the bumpy road towards a consensus on reporting ANA results. **Autoimmunity Highlights**, 30 dez. 2016. v. 7, n. 1, p. 1. Disponível em: <<https://autoimmunehighlights.biomedcentral.com/articles/10.1007/s13317-016-0075-0>>.

DELBIANCO, A. Molecular mechanisms involved in the pathogenesis of beet soil-borne viruses. **Journal of Plant Pathology**, 2013. v. 95, n. 4 SUPPL.

DOTAN, A. *et al.* The SARS-CoV-2 as an instrumental trigger of autoimmunity. **Autoimmunity Reviews**, abr. 2021. v. 20, n. 4, p. 102792. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1568997221000550>>.

DRUCE, K. L. *et al.* The Longitudinal Course of Fatigue in Rheumatoid Arthritis: Results from the Norfolk Arthritis Register. **The Journal of Rheumatology**, nov. 2015. v. 42, n. 11, p. 2059–2065. Disponível em: <<http://www.jrheum.org/lookup/doi/10.3899/jrheum.141498>>.

DUPUIS-MAGUIRAGA, L. *et al.* Chikungunya disease: Infection-associated markers from the acute to the chronic phase of arbovirus-induced arthralgia. *In: PLoS Neglected Tropical Diseases*. [S.l.]: [s.n.], 2012. V. 6.

ECONOMOPOULOU, A. *et al.* Atypical Chikungunya virus infections: clinical manifestations, mortality and risk factors for severe disease during the 2005–2006 outbreak on Réunion. **Epidemiology and Infection**, 11 abr. 2009. v. 137, n. 4, p. 534–541. Disponível em: <https://www.cambridge.org/core/product/identifier/S0950268808001167/type/journal_article>.

ELKAYAM, O. *et al.* Auto-antibody profiles in patients with active pulmonary tuberculosis. **International Journal of Tuberculosis and Lung Disease**, 2007. v. 11, n. 3, p. 306–310.

FARIA, N. R. *et al.* Epidemiology of Chikungunya Virus in Bahia, Brazil, 2014-2015. **PLoS Currents**, 1 fev. 2016. Disponível em: <<https://currents.plos.org/outbreaks/article/epidemiology-of-chikungunya-virus-inbahiabrazil-2014-2015/>>.

FIELDS, P. *et al.* Clinical and Serological Insights from the Asian Lineage Chikungunya Outbreak in Grenada, 2014: An Observational Study. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, 5 out. 2016. v. 95, n. 4, p. 890–893. Disponível em: <<https://ajtmh.org/doi/10.4269/ajtmh.16-0122>>.

FONTES JARDIM, D. L. *et al.* Autoimmune features caused by dengue fever: A case report. **Brazilian Journal of Infectious Diseases**, 2012. v. 16, n. 1, p. 92–95.

FRIOU, G. J. Setting the scene: a historical and personal view of immunologic diseases, autoimmunity and ANA. **Clinical and experimental rheumatology**, [s.d.]. v. 12 Suppl 1, p. S23-5. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7768046>>.

GANESAN, V. K.; DUAN, B.; REID, S. P. Chikungunya virus: Pathophysiology, mechanism, and modeling. **Viruses**, 2017. v. 9, n. 12, p. 1–14.

GASQUE, P. *et al.* Chikungunya Virus Pathogenesis and Immunity. **Vector-Borne and Zoonotic Diseases**, 2015. v. 15, n. 4, p. 241–249.

GRYGIEL-GÓRNIAK, B.; ROGACKA, N.; PUSZCZEWICZ, M. Antinuclear antibodies in healthy people and non-rheumatic diseases - diagnostic and clinical implications. **Reumatologia**, 2018. v. 56, n. 4, p. 243–248.

GUALBERTO CAVALCANTI, N. *et al.* IL-27 in patients with Chikungunya fever: A possible chronicity biomarker? **Acta Tropica**, ago. 2019. v. 196, p. 48–51. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0001706X18316139>>.

GUILLOT, X.; RIBERA, A.; GASQUE, P. Chikungunya-induced arthritis in reunion Island: A long-term observational follow-up study showing frequently persistent joint symptoms, some cases of persistent chikungunya immunoglobulin M positivity, and no anticyclic citrullinated peptide seroconversi. **Journal of Infectious Diseases**, 2020. v. 222, n. 10, p. 1740–1744.

IM, J. H. *et al.* Antinuclear antibodies in infectious diseases. **Infectious Diseases**, 2020. v. 52, n. 3, p. 177–185. Disponível em: <<https://doi.org/10.1080/23744235.2019.1690676>>.

ISENBERG, D. A. *et al.* Profile of autoantibodies in the serum of patients with tuberculosis, klebsiella and other gram-negative infections. **Clinical and experimental immunology**, mar. 1987. v. 67, n. 3, p. 516–23. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1542633>>.

JOSSERAN, L. *et al.* Chikungunya Disease Outbreak, Reunion Island. **Emerging Infectious Diseases**, 2006. v. 12, n. 12, p. 1994–1995. Disponível em: <http://wwwnc.cdc.gov/eid/article/12/12/06-0710_article.htm>.

LABADIE, K. *et al.* Chikungunya disease in nonhuman primates involves long-term viral persistence in macrophages. **Journal of Clinical Investigation**, 1 mar. 2010. v. 120, n. 3, p. 894–906. Disponível em: <<http://www.jci.org/articles/view/40104>>.

LAMBALLERIE, X. DE *et al.* Chikungunya virus adapts to tiger mosquito via evolutionary convergence: a sign of things to come? **Virology Journal**, 2008. v. 5, n. 1, p. 33. Disponível em: <<http://virologyj.biomedcentral.com/articles/10.1186/1743-422X-5-33>>.

LEPARC-GOFFART, Isabelle *et al.* Chikungunya in the Americas. **The Lancet**, fev. 2014. v. 383, n. 9916, p. 514. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0140673614601859>>.

LEUCHTEN, N. *et al.* Performance of Antinuclear Antibodies for Classifying Systemic Lupus Erythematosus: A Systematic Literature Review and Meta-Regression of Diagnostic Data. **Arthritis care & research**, 2018. v. 70, n. 3, p. 428–438. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28544593>>.

LING, M.; MURALI, M. Antinuclear Antibody Tests. **Clinics in Laboratory Medicine**, 2019. v. 39, n. 4, p. 513–524.

MAEK-A-NANTAWAT, W.; SILACHAMROON, U. Presence of Autoimmune Antibody in Chikungunya Infection. **Case Reports in Medicine**, 2009. v. 2009, p. 1–4.

MAHLER, M. *et al.* Current concepts and future directions for the assessment of autoantibodies to cellular antigens referred to as anti-nuclear antibodies. **Journal of Immunology Research**, 2014. v. 2014.

MARIZ, Henrique A. *et al.* Pattern on the antinuclear antibody-HEp-2 test is a critical parameter for discriminating antinuclear antibody-positive healthy individuals and patients

with autoimmune rheumatic diseases. **Arthritis and Rheumatism**, 2011. v. 63, n. 1, p. 191–200.

MARQUES, Claudia Diniz Lopes; DUARTE, Angela Luzia Branco Pinto; RANZOLIN, A.; DANTAS, A. T.; CAVALCANTI, N. G.; GONÇALVES, R. S. G.; ROCHA JUNIOR, L. F. Da; *et al.* Recomendações da Sociedade Brasileira de Reumatologia para diagnóstico e tratamento da febre chikungunya. Parte 1 – Diagnóstico e situações especiais. **Revista Brasileira de Reumatologia**, 2017. v. 57, n. S 2, p. 421–437.

_____; _____; _____; _____; _____; JUNIOR, L. F. Da R.; *et al.* Recomendações da Sociedade Brasileira de Reumatologia para diagnóstico e tratamento da febre chikungunya. Parte 2 – Tratamento. **Revista Brasileira de Reumatologia**, 2017. v. 57, n. S 2, p. 438–451.

MORRISON, T. E. *et al.* A Mouse Model of Chikungunya Virus–Induced Musculoskeletal Inflammatory Disease. **The American Journal of Pathology**, jan. 2011. v. 178, n. 1, p. 32–40. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0002944010000647>>.

MS. Febre de Chikungunya manejo clínico. **Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde.**, 2015. p. 28.

NHAN, T.-X. *et al.* Chikungunya Virus Imported into French Polynesia, 2014. **Emerging Infectious Diseases**, out. 2014. v. 20, n. 10, p. 1773–1774. Disponível em: <http://wwwnc.cdc.gov/eid/article/20/10/14-1060_article.htm>.

NORET, M. *et al.* Interleukin 6, RANKL, and Osteoprotegerin Expression by Chikungunya Virus-Infected Human Osteoblasts. **Journal of Infectious Diseases**, 1 ago. 2012. v. 206, n. 3, p. 455–457. Disponível em: <<https://academic.oup.com/jid/articlelookup/doi/10.1093/infdis/jis368>>.

PAGE, C. *et al.* Human parvovirus B19 and autoimmune diseases. Review of the literature and pathophysiological hypotheses. **Journal of Clinical Virology**, 2015. v. 72, p. 69–74.

PALAZZI, C. *et al.* Autoantibodies in patients with chronic hepatitis C virus infection: Pitfalls for the diagnosis of rheumatic diseases. **Autoimmunity Reviews**, 2012. v. 11, n. 9, p. 659–663. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.autrev.2011.11.011>>.

PISETSKY, D. S. Antinuclear antibody testing-misunderstood or misbegotten? **Nature Reviews Rheumatology**, 2017. v. 13, n. 8, p. 495–502. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1038/nrrheum.2017.74>>.

PISTONE, T. *et al.* Cluster of Chikungunya Virus Infection in Travelers Returning From Senegal, 2006. **Journal of Travel Medicine**, 1 jul. 2009. v. 16, n. 4, p. 286–288. Disponível em: <<https://academic.oup.com/jtm/article-lookup/doi/10.1111/j.1708-8305.2008.00294.x>>.

ROBINSON, M. C. An epidemic of virus disease in Southern Province, Tanganyika territory, in 1952–1953. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, jan. 1955. v. 49, n. 1, p. 28–32. Disponível em: <[https://academic.oup.com/trstmh/articlelookup/doi/10.1016/0035-9203\(55\)90080-8](https://academic.oup.com/trstmh/articlelookup/doi/10.1016/0035-9203(55)90080-8)>.

ROJAS, M. *et al.* Molecular mimicry and autoimmunity. **Journal of Autoimmunity**, 2018. v. 95, n. September, p. 100–123. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.jaut.2018.10.012>>.

RULLI, N. E. *et al.* Protection From Arthritis and Myositis in a Mouse Model of Acute Chikungunya Virus Disease by Bindarit, an Inhibitor of Monocyte Chemotactic Protein-1 Synthesis. **The Journal of Infectious Diseases**, 1 out. 2011. v. 204, n. 7, p. 1026–1030. Disponível em: <<https://academic.oup.com/jid/article-lookup/doi/10.1093/infdis/jir470>>.

SCHILTE, C. *et al.* Chikungunya Virus-associated Long-term Arthralgia: A 36-month Prospective Longitudinal Study. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, 2013. v. 7, n. 3.

ŞENER, A. G. *et al.* Investigation of antinuclear antibodies in chronic hepatitis B patients. **Mikrobiyoloji Bulteni**, 2018. v. 52, n. 4, p. 425–430.

SHOENFELD, Y. *et al.* The mosaic of autoimmunity: hormonal and environmental factors involved in autoimmune diseases--2008. **The Israel Medical Association journal : IMAJ**, jan. 2008. v. 10, n. 1, p. 8–12. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18300563>>.

SIMON, F. *et al.* 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. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.medmal.2015.05.007>>.

SISSOKO, D. *et al.* Field evaluation of clinical features during chikungunya outbreak in Mayotte, 2005-2006. **Tropical Medicine & International Health**, fev. 2010. Disponível em: <<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1365-3156.2010.02485.x>>.

SUHRBIER, A. Rheumatic manifestations of chikungunya: emerging concepts and interventions. **Nature Reviews Rheumatology**, 2019. v. 15, n. 10, p. 597–611. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1038/s41584-019-0276-9>>.

SUR, L. M. *et al.* Antinuclear Antibodies: Marker of Diagnosis and Evolution in Autoimmune Diseases. **Laboratory medicine**, 5 jul. 2018. v. 49, n. 3, p. e62–e73. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29868860>>.

TENG, T.-S. *et al.* A Systematic Meta-analysis of Immune Signatures in Patients With Acute Chikungunya Virus Infection. **Journal of Infectious Diseases**, 15 jun. 2015. v. 211, n. 12, p. 1925–1935. Disponível em: <<https://academic.oup.com/jid/articlelookup/doi/10.1093/infdis/jiv049>>.

TRAORE-LAMIZANA, M. *et al.* Vectors of Chikungunya virus in Senegal: current data and transmission cycles. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, 1 fev. 1999. v. 60, n. 2, p. 281–286. Disponível em: <<https://ajtmh.org/doi/10.4269/ajtmh.1999.60.281>>.

VAIRO, F. *et al.* Chikungunya: Epidemiology, Pathogenesis, Clinical Features, Management, and Prevention. **Infectious Disease Clinics of North America**, 2019. v. 33, n. 4, p. 1003–1025.

WATANABE, A. *et al.* Anti-DFS70 antibodies in 597 healthy hospital workers. **Arthritis and rheumatism**, mar. 2004. v. 50, n. 3, p. 892–900. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15022332>>.

WEAVER, S. C.; LECUIT, M. Chikungunya Virus and the Global Spread of a Mosquito Borne Disease. **New England Journal of Medicine**, 2015. v. 372, n. 13, p. 1231–1239.

WU, H. *et al.* Epigenetic regulation in B-cell maturation and its dysregulation in autoimmunity. **Cellular & molecular immunology**, 2018. v. 15, n. 7, p. 676–684. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29375128>>.

WUCHERPFENNIG, K. W. Structural basis of molecular mimicry. **Journal of Autoimmunity**, 2001. v. 16, n. 3, p. 293–302.

APÊNDICE A – TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
SERVIÇO DE REUMATOLOGIA DO HOSPITAL DAS CLÍNICAS
TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO PARA PESQUISA

Título da pesquisa: Estudo Multicêntrico da História Natural e Resposta Terapêutica de Chikungunya com foco nas Manifestações Musculoesqueléticas Agudas e Crônicas

Financiador: Agência de Fomento - Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPQ)

Pesquisador proponente: André Machado de Siqueira

Pesquisador Principal: Moacyr Jesus Barreto de Melo Rêgo

Participante da Pesquisa

Nome: _____

Documento de identidade: _____ **Sexo:** () M () F

Data de nascimento: ____ / ____ / ____

Endereço: _____

Cidade: _____ **Estado:** _____

Telefone: () _____

Testemunha Imparcial (se aplicável):

Nome: _____

Documento de identidade: _____ **Sexo:** () M () F

Data de nascimento: ____ / ____ / ____

Endereço: _____

Cidade: _____ **Estado:** _____

Telefone: () _____

Rubrica do(a) Participante da Pesquisa:

Rubrica do profissional que aplicou o termo:

Rubrica da testemunha (se aplicável):



Este é um convite para que você participe de um protocolo de pesquisa sobre a doença Chikungunya. Este documento, chamado termo de consentimento livre e esclarecido, explica esta pesquisa em detalhes, mas pode conter palavras que você não compreenda. Por favor, peça ao médico ou a outra pessoa da equipe do estudo para lhe explicar o que significa qualquer palavra ou informação que você não entenda. Antes de assinar, você pode levar para casa uma cópia deste documento para pensar a respeito ou conversar com sua família e/ou amigos antes de tomar sua decisão.

OBJETIVOS DO ESTUDO

Gostaríamos de convidar você a participar da pesquisa que irá estudar a história natural da doença Chikungunya e a resposta ao tratamento da doença. Trata-se de um estudo observacional e você não precisará utilizar nenhum medicamento, além dos já utilizados atualmente para o tratamento da doença.

A Chikungunya é uma doença transmitida pela picada do mosquito *Aedes aegypti* contaminado pelo vírus. O quadro clínico é muito semelhante à febre do dengue, com início súbito de febre alta, dor de cabeça, dores nas articulações, dores musculares, manchas vermelhas, enjoo e cansaço. A característica principal da febre Chikungunya é a presença de dores nas articulações em diversas partes do corpo que causa importante limitação física, diminuindo de forma significativa a qualidade de vida dos pacientes acometidos.

Neste estudo, você será avaliado em algumas visitas por uma equipe de saúde. A equipe é composta por médicos (clínicos gerais, infectologistas e reumatologistas), enfermeiros e farmacêuticos que registrarão dados sobre sua vida e o local que você mora, sintomas, atividades, além de informações referentes ao uso de medicamentos e outras formas de tratamento. Caso você apresente dores nos músculos e/ou nas articulações, estas dores serão avaliadas e acompanhadas por reumatologista.

QUEM NÃO PODE PARTICIPAR DO ESTUDO?

Existem algumas condições que podem impossibilitar a sua participação neste estudo, são elas:

- Se você tiver com outra doença febril aguda (febre alta causada por Malária, por exemplo)
- Se você tiver com outra doença que cause febre (por exemplo, celulite e abscesso);
- Se você estiver grávida ou amamentando e;
- Se você tiver algum problema que não permita a coleta de informações por distúrbios de comunicação ou falta de fluência na língua portuguesa ou outro idioma compreendido pelo médico assistente.

Mas não se preocupe, um médico conversará com você e fará uma avaliação para checar estas e outras condições que possam impedir sua participação e você não deixará de ser atendido mesmo que não entre no estudo.

COMO SERÁ SUA PARTICIPAÇÃO NESTE ESTUDO?

Rubrica do(a) Participante da Pesquisa:

Rubrica do profissional que aplicou o termo:

Rubrica da testemunha (se aplicável):

Versão Local 1.0 de 16/08/2019

baseada na Versão 1.3 do Centro Coordenador de 20 de maio de 2019

Página 2 de 8



Você deverá comparecer às **VISITAS** no centro de saúde responsável pelo estudo, e também poderá receber acompanhamento da equipe do estudo através de **CONTATOS por meio eletrônico, telefônico ou pessoal**.

Visitas programadas para consulta médica

Após a assinatura deste Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, você passará por uma avaliação de saúde com um médico e se não houver nenhuma condição que impeça sua participação, será feita coleta de informações, coleta de saliva, sangue, de urina e, se necessário, de líquido sinovial (um líquido retirado da articulação ou do tendão) e/ou biópsia articular (um pedaço de tecido). Todos os exames são feitos para que possamos verificar como está sua saúde.

- **Coleta de Saliva:** a saliva será coletada por você mesmo com auxílio de um kit não invasivo, no qual você esfregará uma esponjinha (parecida com cotonete) no interior da boca, gengiva e/ou dentes.
- **Coleta de Sangue:** o sangue será coletado por um profissional qualificado. A quantidade de sangue total retirada será de 26mL (aproximadamente igual à quantidade de 2 colheres de sopa cheias).
- **Coleta de Urina:** a coleta será realizada por você mesmo em um pote entregue pelo médico do estudo. O volume total de urina coletada será de 60mL (aproximadamente 4 colheres de sopa).
- **Coleta de Líquido Sinovial:** o líquido sinovial poderá ser coletado por um profissional qualificado em situações em que se constate por exame físico ou exame de imagem (exemplo: ultrassonografia e ressonância magnética) a presença de líquido na articulação ou quando for indicado por avaliação médica a realização de infiltração de medicamento intra-articular como forma de reduzir a dor local. O volume total de 2mL (aproximadamente igual à quantidade de ½ colher de chá) será coletado nesses casos.

Na consulta, o médico irá realizar a avaliação e exame físico, incluindo alterações musculoesqueléticas, além da coleta de informações sobre sua vida, onde você mora e de história de doença anterior. O médico solicitará exames para que o diagnóstico da doença seja corretamente definido.

Você será informado de qualquer resultado que possa afetar sua saúde e receberá encaminhamento para avaliação médica especializada, se for necessário.

Após a aceitação em participar do estudo, você será acompanhado por até três anos, em consultas programadas com periodicidade semanal até 21 dias do início dos sintomas, bimensalmente (ou seja, a cada 2 meses) até 360 dias (1 ano) desde o início do acompanhamento e após, a cada 3 meses se houver a persistência dos sintomas. Em todas as consultas programadas o médico realizará avaliação e exame físico e coletará informações relacionadas a sua saúde para acompanhamento, além das coletas citadas anteriormente. O médico também solicitará exames de acordo com a necessidade do caso clínico.

Rubrica do(a) Participante
da Pesquisa:

Rubrica do profissional
que aplicou o termo:

Rubrica da testemunha (se
aplicável):

Versão Local 1.0 de 16/08/2019

baseada na Versão 1.3 do Centro
Coordenador de 20 de maio de 2019

Página 3 de 8



DESCONFORTO E RISCOS ESPERADOS

Por ser tratar de um método simples, rápido e não invasivo, a coleta de saliva não provoca nenhum desconforto ou dor.

No local da coleta de sangue pode ficar roxo e/ou dolorido. Às vezes é necessário realizar mais de uma tentativa para coletar sangue. Desmaio ou infecção no local da coleta pode ocorrer, mas é raro. Para diminuir esses riscos, assim como preconizado, a coleta de sangue sempre será realizada com material descartável por alguém treinado e experiente.

A coleta do xixi é um procedimento que de forma geral é fácil e não causa maior risco, de modo que você vai fazer num potinho. Se você não entender o que está sendo explicado ou ficar com vergonha de fazer xixi no hospital você pode falar com a equipe do estudo que vai tirar as suas dúvidas e vai ajudar você a encontrar um local mais confortável para a coleta.

A coleta do líquido sinovial, quando necessária, é realizada de forma minimamente invasiva, mas pode provocar desconforto tolerável. Assim como a coleta de sangue, para diminuir esses riscos, este procedimento será realizado em condições estéreis e por profissional experiente e treinado.

Caso necessário, o médico do estudo pode solicitar a realização de exames de radiografia e/ou ultrassonografia. Os principais riscos associados com radiografia são a pequena possibilidade de desenvolver, em alguma época posterior da vida, catarata ou câncer induzidos por radiação. Esses riscos são minimizados utilizando-se a proteção de chumbo adequada na hora da realização do exame e essa possibilidade é quase nula no caso do estudo, pois você será exposto apenas uma vez a esse exame. Por utilizar ondas sonoras de baixa potência, a ultrassonografia não apresenta grandes riscos conhecidos para a saúde.

BENEFÍCIOS PARA O PARTICIPANTE

Você não terá nenhum benefício direto por fazer parte deste estudo. Você terá acesso a avaliações médicas e aos laudos dos testes de laboratório sem custo. A sua participação nesta pesquisa pode trazer benefícios para você e para outras pessoas com a mesma doença, pois vai nos ajudar a saber mais sobre como diagnosticar melhor a doença Chikungunya no futuro. Além disso, se você participar poderá receber testes adicionais, além dos que já são realizados de rotina para investigar melhor a sua febre.

Não há nenhum custo para você participar do estudo. Os exames e procedimentos realizados exclusivamente com fins de pesquisa não implicarão qualquer custo para você. Para custear o deslocamento das visitas que serão feitas durante o estudo, você receberá um ressarcimento pelos gastos relacionados à sua participação, como alimentação e transporte.

BIORREPOSITÓRIO

Todas as amostras coletadas (saliva, sangue, xixi e líquido sinovial) serão guardadas durante todo o tempo dessa pesquisa em local próprio chamado de Biorrepositório. Existem várias regras e

Rubrica do(a) Participante
da Pesquisa:

Rubrica do profissional
que aplicou o termo:

Rubrica da testemunha (se
aplicável):

Versão Local 1.0 de 16/08/2019

baseada na Versão 1.3 do Centro
Coordenador de 20 de maio de 2019

Página 4 de 8



normas nacionais para o biorrepositório funcionar e nos comprometemos a seguir todas elas. Este biorrepositório será gerenciado pelo **Laboratório de Doenças Febris Agudas do Instituto Nacional de Infectologia Evandro Chagas, localizado na Av. Brasil, 4365 – Manguinhos, Rio de Janeiro, RJ, CEP 21040-900, telefone (21) 3865-9164**. Os dados coletados nesta pesquisa através de questionários ficarão armazenados em computador pessoal e arquivo físico, sob a responsabilidade do Dr. Moacyr Jesus Barreto de Melo Rêgo no endereço Av. Prof. Moraes Rego S/N - Cidade Universitária, CEP: 50.670-901 Recife – PE, pelo período de mínimo 5 anos.

O material biológico (saliva, sangue, urina, líquido sinovial e biópsia articular, quando coletado) armazenado neste biorrepositório continuará sendo seu, permanecendo, entretanto, sob responsabilidade da instituição. Assim, você pode retirar o consentimento de armazenamento das amostras a qualquer tempo, sem nenhum problema. Para isso, você deverá assinar um documento dizendo isso. A desistência passa a valer a partir desta data e nós destruiremos suas amostras. Você pode desistir de participar do estudo (não querer mais fazer as consultas e/ou receber as ligações telefônicas pelo protocolo) e manter suas amostras armazenadas para o estudo e/ou para estudos futuros, sem nenhum prejuízo a você.

USO DO MATERIAL COLETADO, DADOS E CONFIDENCIALIDADE

Ao assinar este termo de consentimento, você permite ao médico do estudo e à equipe de pesquisa usar informações sobre seu prontuário médico para os objetivos do presente estudo. As enfermeiras e o pessoal médico envolvido no seu cuidado saberão se você participa ou não do estudo.

Ninguém mais saberá que você está participando da pesquisa, não falaremos para outras pessoas, nem daremos a estranhos as informações que você nos der. Algumas informações sobre você (exemplos: onde você nasceu, qual sua raça, idade, sexo, entre outras) e sobre sua saúde serão anotadas pelo médico nas suas consultas, e ficarão guardadas em um sistema de dados. Ninguém saberá quem é você porque usaremos códigos no lugar do seu nome. Os resultados desta pesquisa vão sair em revistas científicas, mas não vamos dizer quem foram as pessoas que participaram. Todo material coletado será mantido em local seguro. Não vamos colocar o seu nome nos tubinhos que vão ser guardados, vamos colocar números, assim podemos guardar as amostras sem identificar você.

Esse estudo tem uma duração prevista de três anos e todas as pesquisas futuras que desejarem utilizar o material deste estudo deverão ser aprovadas pelo Comitê de Ética em Pesquisa e pela Comissão Nacional de Ética em Pesquisa, se necessário, antes de serem iniciadas. Precisamos saber se você aceita que seu material seja guardado. Por favor, marque SIM ou NÃO abaixo:

SIM NÃO

Se acontecer alguma coisa com suas amostras, como por exemplo, se quebrar um tubo ou se precisarmos destruir as amostras ou se acabarmos com o biorrepositório, nós tentaremos te informar, então o seu endereço, telefone e e-mail devem estar atualizados para podermos falar com você. Se houver algum impedimento em contatar você, nós apresentaremos uma justificativa ao Comitê de Ética em Pesquisa.

PARTICIPAÇÃO VOLUNTÁRIA

Rubrica do(a) Participante
da Pesquisa:

Rubrica do profissional
que aplicou o termo:

Rubrica da testemunha (se
aplicável):



A participação nesse estudo é voluntária, você decide se quer ou não participar. Se você escolher não participar ou que seu dependente legal não participe, seus direitos ou os direitos dele serão

Rubrica do(a) Participante
da Pesquisa:

Versão Local 1.0 de 16/08/2019

Rubrica do profissional
que aplicou o termo:

baseada na Versão 1.3 do Centro
Coordenador de 20 de maio de 2019

Rubrica da testemunha (se
aplicável):

Página 6 de 8



preservados e você não sofrerá nenhum tipo de punição. Caso aceite, você pode mudar de ideia e desistir de participar a qualquer momento. Você não precisa explicar porque você não quer mais participar, deve apenas comunicar à equipe do estudo. Você receberá toda assistência e tratamento mesmo que não queira participar do estudo e/ou mesmo que não queira mais manter as suas amostras armazenadas. Além disso, caso você se sinta lesado em qualquer momento do estudo, você poderá recorrer as vias legais para reivindicar os seus direitos.

Caso você tenha lido e entendido as informações neste termo – ou elas tenham sido lidas para você – e caso concorde em participar voluntariamente deste estudo, você e o pesquisador assinarão duas vias originais deste documento. Será também necessário que você e o (a) pesquisador(a) rubricuem (façam uma assinatura abreviada) todas as páginas das duas vias deste documento. Vamos te entregar uma via assinada e rubricada por você e pelo pesquisador. Ao assinar este documento, você não abrirá mão de nenhum direito legal.

DÚVIDAS

Se você tiver qualquer dúvida, ou se qualquer problema aparecer, você pode contatar a equipe do estudo ou o pesquisador responsável do estudo:

INSTITUTO NACIONAL DE INFECTOLOGIA EVANDRO CHAGAS - FIOCRUZ
Médico Responsável: André Machado de Siqueira
Endereço: Av. Brasil, 4365 – Manguinhos, Rio de Janeiro, RJ. 21040-900.
Celulares 24h (21) 96722-2701 ou (21) 3865-9164

Se você tiver alguma consideração ou dúvida sobre a ética da pesquisa, entre em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa (CEP).

CEP (Comitê de Ética em Pesquisa) do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal de Pernambuco – CCS/UFPE
E-mail: cepeccs@ufpe.br.
Telefones: (81) 21268588
Horário de atendimento: 2ª a 6ª f. das 8 às 12h.
Endereço: Av. Das Engenharias, S/N – Prédio do Centro de Ciências da Saúde (CCS), 1º andar, sala 4 - Cidade Universitária, Recife, PE, CEP 50740600

COMISSÃO NACIONAL DE ÉTICA EM PESQUISA – CONEP
 SEPN 510 Norte, Bloco A, 3º andar
 Edifício Ex-INAN – Unidade II – Ministério da Saúde
 CEP: 70750-521 – Brasília – DF
 Telefone: (61) 3315-5877
 Horário de Funcionamento: 08 às 18h.

A CONEP é uma instância colegiada com abrangência nacional, de natureza consultiva, deliberativa, no âmbito da emissão de pareceres sobre protocolos de pesquisas, normativa, no âmbito propositivo de Resoluções do CNS, educativa, autônoma, vinculada ao Conselho Nacional de Saúde - CNS, criada pela Resolução CNS 196/96, de 10/10/96. Tem por finalidade o acompanhamento das pesquisas envolvendo

Rubrica do(a) Participante
da Pesquisa:

Rubrica do profissional
que aplicou o termo:

Rubrica da testemunha (se
aplicável):



seres humanos em todo o país, e dos Comitês de Ética em Pesquisa institucionais, preservando os aspectos éticos primariamente em defesa da integridade e dignidade dos sujeitos da pesquisa, individual ou coletivamente considerados, levando-se em conta o pluralismo moral da sociedade brasileira.

Rubrica do(a) Participante
da Pesquisa:

Versão Local 1.0 de 16/08/2019

Rubrica do profissional
que aplicou o termo:

baseada na Versão 1.3 do Centro
Coordenador de 20 de maio de 2019

Rubrica da testemunha (se
aplicável):

Página 8 de 8



TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Acredito ter sido suficientemente informado (a) a respeito das informações que li ou que foram lidas para mim sobre o estudo “Estudo Multicêntrico da História Natural e Resposta Terapêutica de Chikungunya com foco nas Manifestações Musculoesqueléticas Agudas e Crônicas”.

Eu discuti com os pesquisadores responsáveis sobre a minha decisão de participar ou autorizar que meu dependente legal participe do estudo. Ficaram claros para mim quais são os propósitos do estudo, os procedimentos a serem realizados, quais são seus desconfortos e riscos, e a garantia de confidencialidade dos dados. Ficou claro também que minha participação, ou a participação do meu dependente legal, é livre de despesas e que existe garantia do acesso a tratamento hospitalar quando necessário. Tive oportunidade de fazer perguntas e esclarecer minhas dúvidas sobre o estudo e entendo que sempre que eu tiver dúvidas elas serão esclarecidas.

Concordo voluntariamente em fazer parte deste estudo, ou que meu dependente legal faça parte deste estudo, entendo que poderei retirar o meu consentimento a qualquer momento, antes ou durante o estudo, sem penalidades ou prejuízo ou perda de qualquer benefício no atendimento neste Serviço.

Nome do participante:	<i>Como escrito no documento de identidade</i>
Assinatura do participante:	Data . / / .

Testemunha imparcial (para casos de participantes analfabetos, semi-analfabetos ou portadores de deficiência auditiva ou visual)

Nome da testemunha:	<i>Como escrito no documento de identidade</i>
Assinatura da testemunha:	Data . / / .

Declaro que obtive de forma apropriada e voluntária o Consentimento Livre e Esclarecido deste participante ou de seu representante legal para a sua participação neste estudo ou de seu filho(a) ou da pessoa que ele representa e forneci uma via ao participante deste Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

Nome e assinatura do profissional que obteve consentimento:	Data . / / .
--	-----------------

Rubrica do(a) Participante da Pesquisa:

Versão Local 1.0 de 16/08/2019

Rubrica do profissional que aplicou o termo:

baseada na Versão 1.3 do Centro
Coordenador de 20 de maio de 2019

Rubrica da testemunha (se aplicável):

Página 9 de 8

APÊNDICE B – FICHA ESTRUTURADA COM AS VARIÁVEIS ESTUDADAS

- Sexo (feminino ou masculino):
- Idade (em anos):
- IMC (kg/m²):
- Comorbidades (hipertensão arterial sistêmica, diabetes *mellitus*, doença arterial coronariana, doença renal, passado de neoplasia > 5 anos e doença reumatológica):
- Fase clínica da FC (aguda: 0-14 dias ou subaguda: 15 dias a 3 meses):
- Rigidez matinal/pós repouso: mensurada pelo tempo de rigidez até melhora máxima (em minutos) e pela intensidade, através de escala analógica de 0 a 10 cm:
- Escala Visual Analógica (EVA) de dor (0-10) (ALETAHA *et al.*, 2005):
- Fadiga: mensurada através de escala analógica de 0 (sem fadiga) a 10 cm (fadiga extrema) (DRUCE *et al.*, 2015):
- Avaliação Global de Saúde (AGS) pelo paciente (0-10) (ALETAHA *et al.*, 2005):
- Número de articulações dolorosas - contagem do número absoluto de articulações dolorosas através de avaliação clínica (ALETAHA *et al.*, 2005):
- Número de articulações edemaciadas - contagem do número absoluto de articulações edemaciadas através de avaliação clínica (ALETAHA *et al.*, 2005):
- CDAI (*Clinical Disease Activity Index* 28 articulações) – índice composto de atividade da doença; leva em consideração a contagem de articulações edemaciadas e dolorosas (ombros, cotovelos, punhos, metacarpofalangeanas, interfalangeanas proximais e joelhos) e a avaliação global de atividade da doença pelo paciente (VASp 0-10) e avaliação global de atividade da doença pelo médico (VASm 0-10). Após a soma dessas 4 variáveis o resultado é classificado como remissão ($\leq 2,8$), baixa atividade ($> 2,8$ e ≤ 10), moderada atividade (> 10 e ≤ 22) e alta atividade (> 22) (ALETAHA *et al.*, 2005):
- Questionário de avaliação de saúde (*Health Assessment Questionnaire* – HAQ) questionário com 20 perguntas sobre a vida cotidiana do paciente, que avaliam oito áreas de atividades funcionais habituais. Os pacientes respondem à pergunta: “Com que dificuldade você é capaz de realizar determinada tarefa?”. Quatro respostas são possíveis a cada pergunta: com nenhuma dificuldade (escore 0), com alguma dificuldade (escore 1), com muita dificuldade (escore 2) e incapaz de realizar (escore 3). Calcula-se a média aritmética do maior escore de cada uma das oito áreas avaliadas e o resultado final é o escore do HAQ. Pontuações de 0 a 1 são consideradas como representando dificuldade leve a moderada, 1 a 2 incapacidade moderada a grave e 2 a 3 incapacidade

grave a muito grave (BRUCE, B; FRIES, J F, [s.d.]) (Anexo C):

- Avaliação de dor neuropática pelo Questionário DN4 (ANDRADE, Daniel C. DE *et al.*, 2010) (Anexo D):

APÊNDICE C – DADOS TABELADOS NA PLANILHA EXCEL

REC	Genero	Idade	Procedencia	Fase CHIK	s do início sinton HAS	DM	Coronaria	Renal	Neoplasia	Reumato	HAQ	
Coluna1	Coluna3	Coluna4	Coluna4	Coluna6	Coluna7	Coluna14	Coluna15	Coluna16	Coluna17	Coluna18	Coluna19	Coluna21
4	2	48	1	1	4	0	0	0	0	0	1	2
5	2	47	1	2	43	0	0	0	0	0	0	1,5
6	2	23	2	2	24	0	0	0	0	0	0	0,5
7	1	45	1	2	49	0	0	0	0	0	0	0,625
8	2	56	2	2	30	1	0	0	0	1	0	1,5
9	2	58	3	1	6	0	1	0	0	1	0	0,625
10	1	71	3	1	2	0	0	0	0	0	0	1,125
11	2	33	1	2	23	0	0	0	0	0	0	1,75
12	2	50	2	2	17	0	0	0	0	0	0	2,375
13	1	32	1	2	52	1	0	0	0	0	0	1,25
16	2	43	5	1	8	0	0	0	1	0	0	2,5
17	1	39	1	2	31	0	0	0	0	0	0	1
18	1	28	4	2	40	0	0	0	0	0	0	0,125
19	2	79	2	2	60	1	0	0	0	0	1	0,75
21	2	75	2	2	62	1	0	0	0	0	1	2,125
29	2	50	1	2	21	0	0	0	0	1	0	2,5
30	1	47	1	1	4	0	0	0	0	1	0	1,125
39	2	49	7	2	60	1	0	0	0	1	0	1,375
40	2	31	7	3	96	0	0	0	0	0	0	0,75
44	2	39	1	2	33	0	0	0	0	0	0	1,125
47	2	61	1	1	5	1	0	0	0	0	1	1,375
51	2	25	1	1	3	0	0	0	0	0	0	1,25
54	1	31	1	1	1	0	0	0	0	0	0	2,125
55	2	50	8	2	16	1	0	0	0	0	0	1,875
65	1	23	2	1	3	0	0	0	0	0	0	1,375
75	1	40	2	1	3	0	0	0	0	0	0	2,25
81	1	50	1	1	13	0	0	0	0	0	0	1,625
82	1	56	2	1	4	1	1	0	0	0	0	1
83	2	58	2	1	5	1	0	0	0	0	1	2,625
84	2	38	1	2	65	1	0	0	0	0	0	1,625
88	2	75	1	1	9	1	1	0	0	1	0	2,125

ANEXO A – PARECER DO COMITÊ DE ÉTICA E PESQUISA



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: REPLICK - estudo multicêntrico da história natural e resposta terapêutica de chikungunya com foco nas manifestações musculoesqueléticas agudas e crônicas

Pesquisador: Moacyr Jesus Barreto de Melo Rêgo

Área Temática:

Versão: 1

CAAE: 07936919.8.2010.5208

Instituição Proponente: Universidade Federal de Pernambuco - UFPE

Patrocinador Principal: CNPQ

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 3.555.583

Apresentação do Projeto:

Trata-se de estudo multicêntrico envolvendo 11 centros em 9 diferentes estados englobando todas as 5 regiões do Brasil que representam diferentes cenários do país englobando o acompanhamento da história natural da infecção pelo vírus Chikungunya (CHIKV), coordenado pelo Instituto Nacional de Infectologia Evandro Chagas - INI/FIOCRUZ

A febre chikungunya (CHIK) é uma arbovirose causada pelo vírus Chikungunya (CHIKV) que atinge regiões tropicais e subtropicais, responsável por grandes epidemias regionais, tornando-se um notável problema de saúde no Brasil e no mundo. Dentre as diversas manifestações clínicas da doença, destaca-se o quadro articular debilitante que pode comprometer a qualidade de vida e a capacidade laboral dos indivíduos acometidos pela doença. Embora o Brasil tenha promovido ações de controle vetorial e diretrizes para guiar o manejo desses pacientes, ainda existem muitas lacunas do conhecimento que precisam ser preenchidas, principalmente pela escassez de evidências científicas de boa qualidade, no que diz respeito à taxa de cronificação, fatores de risco para gravidade e persistência da doença e avaliação das melhores estratégias de manejo, nos diferentes estágios da CHIK. Neste contexto, a realização de um estudo multicêntrico envolvendo centros de diferentes estados englobando o acompanhamento da história natural da infecção por CHIKV, o estudo de fatores de risco e a avaliação da efetividade terapêutica, bem como o

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: 3.555.583

detalhamento do acometimento musculoesquelético, o impacto na qualidade de vida e os aspectos funcionais dos indivíduos acometidos, além de análises translacionais de pesquisa, análises da resposta imunológica e do perfil genético desses pacientes para definição de biomarcadores e alvos terapêuticos, faz-se necessária a fim de aprimorar e guiar futuras estratégias de manejo desta enfermidade. Para isto, o presente projeto tem como objetivo principal descrever e avaliar a história natural e resposta terapêutica das manifestações musculoesqueléticas de pacientes afetados por CHIK no território brasileiro a partir da estruturação e harmonização de uma coorte do tipo prospectiva de pacientes infectados pelo vírus provenientes de diferentes regiões do país.

Objetivo da Pesquisa:

O projeto tem por objetivo primário descrever e avaliar a história natural e resposta terapêutica das manifestações musculoesqueléticas de pacientes afetados por CHIK no território brasileiro.

São objetivos específicos:

- (1) descrever as manifestações clínicas da infecção por CHIKV e sua evolução em pacientes acompanhados em diferentes UFs do território brasileiro;
- (2) investigar fatores de risco e prognósticos associados à gravidade e persistência das manifestações clínicas, com foco nas alterações musculoesqueléticas e taxas de cronificação;
- (3) descrever e estimar o impacto socioeconômico, laboral e psicossocial da infecção por CHIKV;
- (4) investigar a fisiopatologia da infecção por CHIKV em casos agudos e, nesses, (a) realizar diagnóstico diferencial entre CHIKV, ZIKV e DENV por reação em cadeia da polimerase multiplex em tempo real (mRT-PCR) em casos agudos; (b) avaliar as taxas de positividade para CHIKV por RT-PCR no sangue total, plasma e soro em diferentes estágios da infecção para estabelecimento de protocolos baseados nas melhores taxas de positividade; (c) estabelecer a prevalência, a carga viral e a duração da infecção por CHIKV nos diferentes fluidos corporais em diferentes estágios da infecção, contribuindo na elucidação da cinética viral (fisiopatologia ou história natural) nos diferentes fluidos corporais; (d) Avaliar possíveis "janelas" de possibilidades diagnósticas e de acompanhamento da infecção em diferentes fluidos biológicos; (e) estabelecer possíveis linhagens celulares cujo CHIKV possa apresentar tropismo celular, tomando como base as análises em saliva e urina.
- (5) correlacionar aspectos imunológicos e virológicos com as manifestações clínicas dos pacientes com CHIKV; VI. Utilizar marcadores moleculares e genéticos no âmbito da medicina personalizada que possam estabelecer as correlações moleculares da evolução da doença e padrões de

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: 3.555.583

cronificação;

(6) constituir um biorrepositório de amostras bem caracterizadas clinicamente que possam ser compartilhadas para a avaliação de testes diagnósticos e biomarcadores que avancem no entendimento e melhor manejo clínicoterapêutico de pacientes com infecção por CHIKV.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Os riscos esperados por este estudo estão relacionados as coletas previstas em protocolo: - Coleta de Sangue - No local da coleta de sangue pode ficar roxo e/ou dolorido. Às vezes é necessário realizar mais de uma tentativa para coletar sangue. Desmaio ou infecção no local da coleta pode ocorrer, mas é raro. Para diminuir esses riscos, a coleta de sangue será realizada com material descartável por alguém treinado e experiente. - Coleta de urina - A coleta de urina é um procedimento que de forma geral é fácil e não causa maior risco. Se o participante não entender o que está sendo explicado ou ficar com vergonha de fazer xixi no hospital, poderá falar com a equipe do estudo que vai tirar as dúvidas possíveis. Coleta do líquido sinovial - Quando necessária, a qual será realizada de forma minimamente invasiva, mas pode provocar desconforto tolerável. Assim como a coleta de sangue, para diminuir esses riscos, este procedimento será realizado em condições estéreis e por profissional experiente e treinado. Caso necessário, o médico do estudo pode solicitar a realização de exames de radiografia e/ou ultrassonografia. Os principais riscos associados com radiografia são a pequena possibilidade de desenvolver, em alguma época posterior da vida, catarata ou câncer induzidos por radiação. Esses riscos são minimizados utilizando-se a proteção de chumbo adequada na hora da realização do exame e essa possibilidade é quase nula no caso do estudo, pois você será exposto apenas uma vez a esse exame. Por utilizar ondas sonoras de baixa potência, a ultrassonografia não apresenta grandes riscos conhecidos para a saúde.

Em relação aos benefícios, a realização do presente estudo, não trará nenhum benefício direto aos participantes do mesmo, mas, os participantes terão acesso a avaliações médicas e aos laudos dos testes de laboratório sem custo. No entanto, a participação nesta pesquisa pode trazer benefícios para os que serão incluídos no estudo e para outras pessoas com a mesma doença, pois vai ajudar a saber mais sobre como diagnosticar melhor a doença Chikungunya no futuro. Além disso, os participantes poderão receber testes adicionais, além dos que já são realizados de rotina para investigar melhor a febre. Não haverá nenhum custo adicional. Os exames e procedimentos realizados exclusivamente com fins de pesquisa não implicarão qualquer custo. Para custear o

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: 3.555.583

deslocamento das visitas que serão feitas durante o estudo, os participantes receberão um ressarcimento pelos gastos relacionados à sua participação, como alimentação e transporte.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Trata-se de uma pesquisa relevante e consoante às necessidades atuais de saúde pública brasileira. O desenho do estudo é adequado, explorando recrutamento em diferentes regiões do país para contemplar nuances de apresentação clínica, diversidade genética populacional e particularidades regionais de hábitos de vida.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Os documentos de apresentação obrigatória foram anexados à Plataforma Brasil (cartas de anuência da institucional coordenadora, bem como as declarações de participação de cada responsável das demais instituições participantes; TCLE completo e claro. Anuência de suporte da Vice-Presidência de Pesquisa e Coleções Biológicas (VPPCB) da Fiocruz, Termo de Compromisso e Confidencialidade e Lattes dos pesquisadores envolvidos).

Recomendações:

Sem recomendações.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Protocolo aprovado.

Considerações Finais a critério do CEP:

O Protocolo foi avaliado na reunião do CEP e está APROVADO para iniciar a coleta de dados. Informamos que a APROVAÇÃO DEFINITIVA do projeto só será dada após o envio da Notificação com o 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/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 N° 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

Endereço: Av. da Engenharia s/n° - 1° 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: 3.555.583

Resolução CNS/MS Nº 466/12).

O CEP/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_1366829.pdf	18/08/2019 18:34:05		Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_ADAPTADO.pdf	18/08/2019 18:32:58	Moacyr Jesus Barreto de Melo Rêgo	Aceito
Folha de Rosto	FOLHA_DE_ROSTO.pdf	07/08/2019 21:46:18	Moacyr Jesus Barreto de Melo Rêgo	Aceito
Outros	CARTA_DE_ANUENCIA.pdf	07/08/2019 21:45:54	Moacyr Jesus Barreto de Melo Rêgo	Aceito
Outros	carta_ao_CEP.pdf	01/08/2019 17:57:02	Moacyr Jesus Barreto de Melo Rêgo	Aceito
Outros	termo_de_compromissoe_confidencialidade.pdf	01/08/2019 17:56:37	Moacyr Jesus Barreto de Melo Rêgo	Aceito
Outros	Lates_Maira.pdf	01/08/2019 17:40:57	Moacyr Jesus Barreto de Melo Rêgo	Aceito
Outros	Lattes_Amanda.pdf	01/08/2019 17:40:06	Moacyr Jesus Barreto de Melo Rêgo	Aceito
Outros	Lattes_Ana.pdf	01/08/2019 17:39:28	Moacyr Jesus Barreto de Melo Rêgo	Aceito
Outros	Lattes_Angela.pdf	01/08/2019 17:39:01	Moacyr Jesus Barreto de Melo Rêgo	Aceito
Outros	Lattes_Moacyr.pdf	01/08/2019	Moacyr Jesus	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: 3.555.583

Outros	Lattes_Moacyr.pdf	17:38:23	Barreto de Melo Rêgo	Aceito
Outros	Lattes_Lays.pdf	01/08/2019 17:33:53	Moacyr Jesus Barreto de Melo Rêgo	Aceito
Outros	Questionarios.docx	28/07/2019 20:57:36	Moacyr Jesus Barreto de Melo Rêgo	Aceito
Outros	3_termo_equivalencia.pdf	16/07/2019 13:43:21	Moacyr Jesus Barreto de Melo Rêgo	Aceito
Orçamento	Orcamento.pdf	16/07/2019 13:41:04	Moacyr Jesus Barreto de Melo Rêgo	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Protocolo_maio2019.pdf	22/05/2019 13:34:07	GISELLE DA SILVA DUARTE	Aceito
Outros	plano_gestao_dados.PDF	08/02/2019 11:06:21	GISELLE DA SILVA DUARTE	Aceito
Outros	justificativa.PDF	05/02/2019 09:05:18	GISELLE DA SILVA DUARTE	Aceito
Outros	lista_centros.PDF	04/02/2019 15:30:59	GISELLE DA SILVA DUARTE	Aceito
Outros	termo_equivalencia.PDF	04/02/2019 15:28:02	GISELLE DA SILVA DUARTE	Aceito
Outros	declaracao_publicados.PDF	04/02/2019 15:24:45	GISELLE DA SILVA DUARTE	Aceito
Declaração de Manuseio Material Biológico / Biorepositório / Biobanco	declaracao_amostras.PDF	04/02/2019 15:22:30	GISELLE DA SILVA DUARTE	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

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: 3.555.583

RECIFE, 05 de Setembro de 2019

Assinado por:
Gisele Cristina Sena da Silva Pinho
(Coordenador(a))

Endereço: Av. da Engenharia s/n° - 1° 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

ANEXO B - Definição de caso de chikungunya (MS, 2015).

Critério Clínico:

Caso suspeito: Febre de início súbito maior de 37.5 ou 38,5°C (a depender do método de aferição) e artralgia ou artrite intensa com início agudo, não explicada por outras condições, podendo estar associados a cefaleia, mialgia e exantema, OU

Caso confirmado: Um caso suspeito com um dos seguintes testes específicos para diagnóstico de CHIKV:

- Isolamento viral.
- Detecção de vírus de RNA por RT-PCR.
- Detecção de IgM em uma única amostra de soro (coletada durante a fase aguda ou convalescente).
- Aumento de quatro vezes no título de anticorpos específicos anti-CHIKV (amostras coletadas com pelo menos 2-3 semanas de diferença).

ANEXO C - QUESTIONÁRIO DE AVALIAÇÃO DE SAÚDE (HEALTH ASSESSMENT QUESTIONNAIRE- HAQ (BRUCE, Bonnie; FRIES, James F., 2003).

1. Vestir-se, inclusive amarrar os cordões dos sapatos e abotoar as roupas					
2. Lavar sua cabeça e seus cabelos					
3. Levantar-se de maneira ereta de uma cadeira de encosto reto e sem braços					
4. Deitar-se e levantar-se da cama					
5. Cortar pedaços de carne					
6. Levar à boca um copo ou xícara cheio de café, leite ou água					
7. Abrir um saco (caixa) de leite comum					
8. Caminhar em lugares planos					
9. Subir 5 degraus					
10. Lavar e secar seu corpo após o banho					
11. Tomar banho de chuveiro					
12. Sentar-se e levantar-se de um vaso sanitário					
13. Levantar os braços e pegar um objeto de aproximadamente 2,5 quilos que está posicionado pouco acima da cabeça					
14. Curvar-se para pegar roupas no chão					
15. Segurar-se em pé no ônibus ou metrô					
16. Abrir potes ou vidros de conservas que tenham sido previamente abertos					
17. Abrir e fechar torneiras					
18. Fazer compras nas redondezas onde mora					
19. Entrar e sair de um ônibus					
20. Realizar tarefas tais como usar vassoura para varrer e ou rodo para a água					
ESCORE TOTAL = SOMATÓRIO DO MAIOR NÚMERO DE CADA GRUPO DIVIDIDO POR 8					

0=Sem dificuldade; 1=Pouca dificuldade; 2=Muita dificuldade; 3=Incapaz

Score total: 0 a 1= dificuldade leve a moderada; 1 a 2 incapacidade moderada a severa; 2 a 3 incapacidade grave a muito grave.

ANEXO D - AVALIAÇÃO DE DOR NEUROPÁTICA (QUESTIONÁRIO DN4)

(ANDRADE, Daniel Ciampi DE *et al.*, 2010)

Interview questions for the patient:

Question 1: Does your pain have one or more of the following characteristics?

	Yes (1)	No (0)
1. Burning		
2. Cold is painful		
3. Electric shocks		

Question 2: Is the pain associated with one or more of the following symptoms in the same area?

	Yes (1)	No (0)
4. Tingling		
5. Pins and needles		
6. Numbness		
7. Itching		

Examination of the patient:

Question 3: Is the pain located in an area where the physical examination had one or both of the following characteristics?

	Yes (1)	No (0)
8. Hypoaesthesia to touch		
9. Hypoaesthesia to pinprick		

Hypoaesthesia: decreased sensitivity

Question 4: In the painful area, can the pain be caused or increased by:

	Yes (1)	No (0)
10. Brushing		
Total score =		

Total score \geq 4: 90% probability of neuropathic pain.