



**UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA**  
**FACULDADE DE MEDICINA DA BAHIA**  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS  
DA SAÚDE



Dissertação de Mestrado

**Caracterização das lesões orais e da resposta imunológica local  
durante infecção aguda por Chikungunya Vírus**

Paula Milena Melo Casais

Salvador (Bahia), 2019

## VI. RESULTADOS

### VI.1. Seleção dos pacientes com CHIKD

Foram coletadas 204 amostras de sangue, saliva e urina de pacientes com suspeita de arboviroses com menos de 10 dias de evolução. Desses, 105 apresentaram positividade apenas para Chikungunya no RT-qPCR e/ou IgM, sendo que 36 deles apresentaram lesões orais. Após 3 a 5 meses de início dos sintomas, 93 pacientes foram reavaliados e 62 apresentaram persistência de sintomas de artropatia (Figura 1).

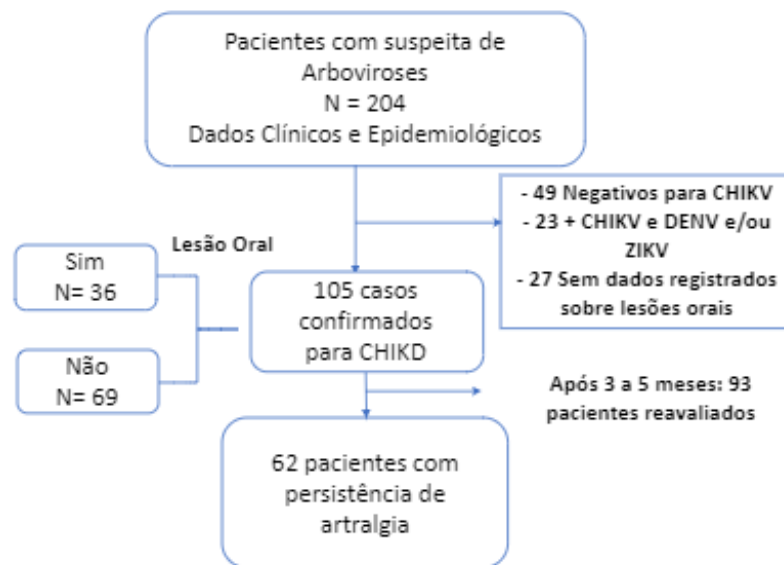


Figura 1. Fluxograma da seleção dos pacientes com suspeita clínica de arboviroses aguda. Pacientes foram submetidos a avaliação clínica-laboratorial com análise da cavidade oral, e reavaliados para persistência dos sintomas, após 3 a 5 meses.

### VI.2. Diagnóstico laboratorial dos pacientes via RTq-PCR, de amostras de sangue, urina e saliva, e sorologia

Dos 105 pacientes com CHIKD, cerca de 40% apresentaram positividade nos testes de ELISA ou de RT-qPCR e aproximadamente 20% testaram positivo nos dois métodos. Das amostras positivas no RT-qPCR, a maioria foi detectada no plasma. Apenas dois casos foram positivos exclusivamente na saliva (Figura 2)

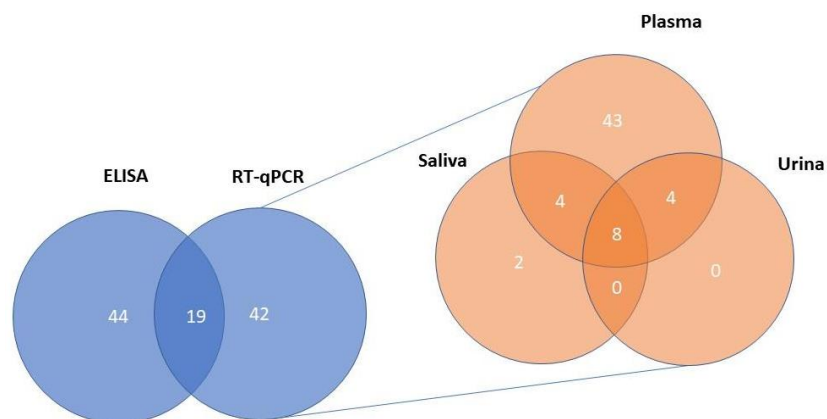


Figura 2. Diagnóstico dos 105 casos de CHIKD, através das técnicas de ELISA e RT-qPCR

### VI.3. Características clínicas e epidemiológicas dos pacientes com diagnóstico conclusivo de CHIKD, baseado na presença de lesões orais

As lesões orais foram observadas em 34% dos pacientes com CHIKD, sendo mais frequente no sexo feminino (Odds Ratio – OR- 3,2,  $p < 0,05$ ). As lesões surgiram em uma mediana de 5 dias após o início dos sintomas e tiveram duração mediana de 3 dias (Tabela 1).

Tabela 1. Características clínicas e epidemiológicas dos 105 pacientes com Chikungunya, de acordo com a presença da lesão oral

	Lesão Oral		p*
	SIM n=36 (34%)	NÃO n= 69 (66%)	
Sexo Feminino - n (%)	28 (77,8)	36 (52,2)	0,01
Idade em anos – mediana (IIQ)	47 (28 - 57)	42 (27 - 60)	0,95
Duração da lesão oral em dias <sup>†</sup> - mediana (IIQ)	3 (2 - 4,75)	NA	NA
Tempo de doença até desenvolvimento da lesão oral, em dias– mediana (IIQ)	5 (2 – 7)	NA	NA
Persistência de artralgia de 3 a 5 meses <sup>‡</sup> - (%)	71%	65%	0,534

\* Teste de U Mann-Whitney , † n = 13 , ‡ n = 93

(IIQ)= Intervalo interquartil

#### VI.4. Sinais, sintomas e localização das lesões orais nos pacientes com CHIKD

Foram avaliados dados de sinais e sintomas e localização das lesões orais de 32 dos 36 pacientes com CHIKD. A maioria dos pacientes com CHIKD apresentaram dor na boca (72%) e dificuldade de alimentar-se (59%), e cerca de 16% apresentaram sangramento. As lesões tinham aspecto de úlceras orais em cerca de metade dos casos, mas também foram observadas vesículas e edema (Figura 3). As lesões orais ocorreram em diferentes sítios da boca, com maior frequência na língua, gengiva e lábios (Figura 4).

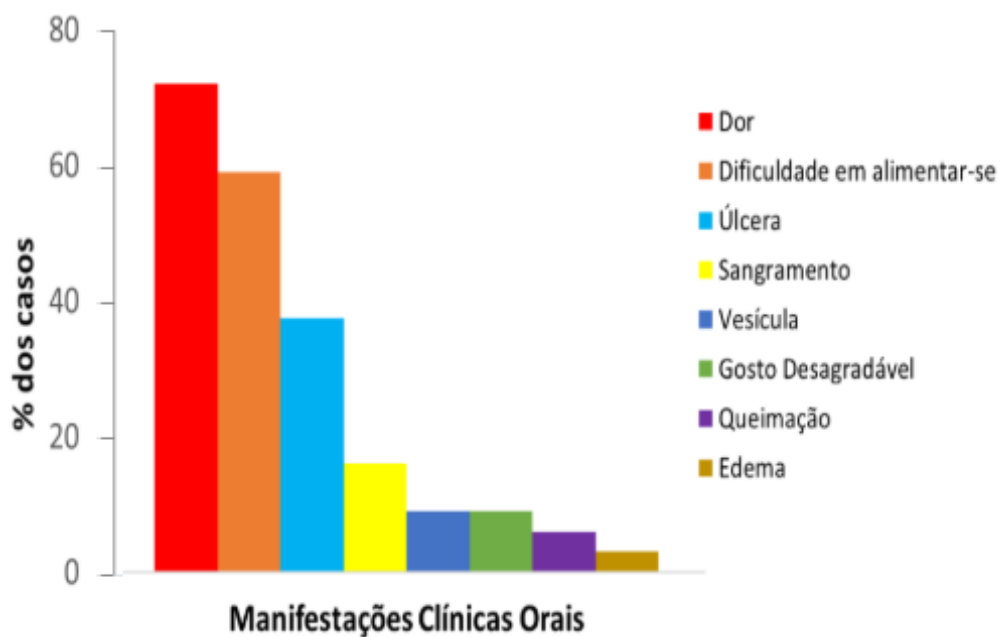


Figura 3. Manifestações clínicas orais de 32 pacientes com CHIKD aguda

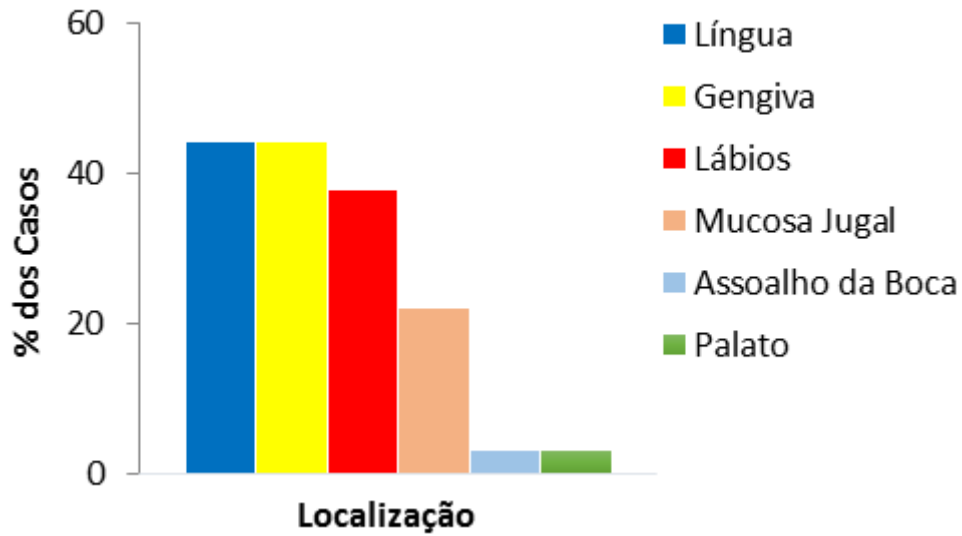


Figura 4. Local da lesão oral de 32 pacientes com infecção aguda por Chikungunya Vírus

#### VI.5. Apresentação clínica das lesões orais identificadas nos pacientes com CHIKD

As lesões da mucosa foram clinicamente caracterizadas como úlceras arredondadas com margens circunscritas e halo-eritematoso, além da presença de regiões edematosas e eritematosas na gengiva marginal (Figura 5).

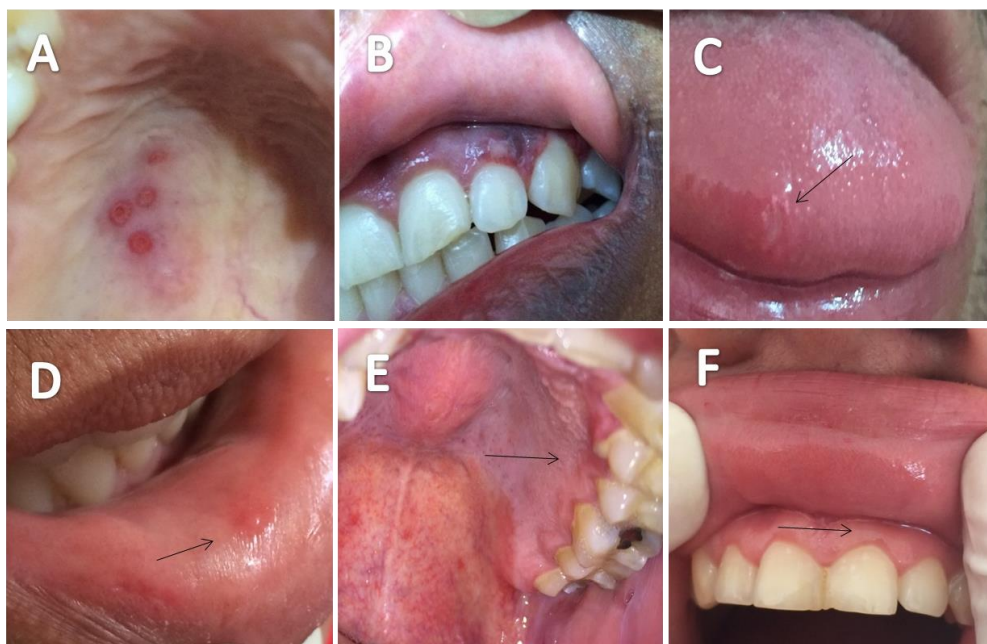


Figura 5. Aspecto clínico e localização das lesões orais em pacientes com CHIKD. A-C) Lesões ulceradas arredondadas, com margens circunscritas e halo-eritematoso, em regiões de palato duro (A),

gingiva marginal na vestibular do incisivo lateral superior esquerdo (B), língua (C), e lesão vesículo-bolhosa em lábio superior (D). E-F) Regiões edematosas e eritematosas em gengiva marginal lingual dos pré molares superiores esquerdos (E), e vestibular do incisivo superior esquerdo (F).

## VI.6. Associação entre as lesões orais e as manifestações sistêmicas nos pacientes com CHIKD

A presença de lesão oral esteve associada a outras manifestações sistêmicas na fase aguda da doença, como rash cutâneo, prurido, mialgia, edema e dor retro-ocular ( $p < 0,05$ ). Em uma análise de regressão logística ordinal, na qual as variáveis com significância estatística foram testadas em uma análise multivariada, apenas o rash apresentou significância estatística em relação à presença de lesão oral (Odds Ratio - OR - 7.817,  $p=0,01$ ), ou seja, a lesão oral apresentou maior probabilidade de ocorrência em indivíduos com rash maculopapular (Figura 6).

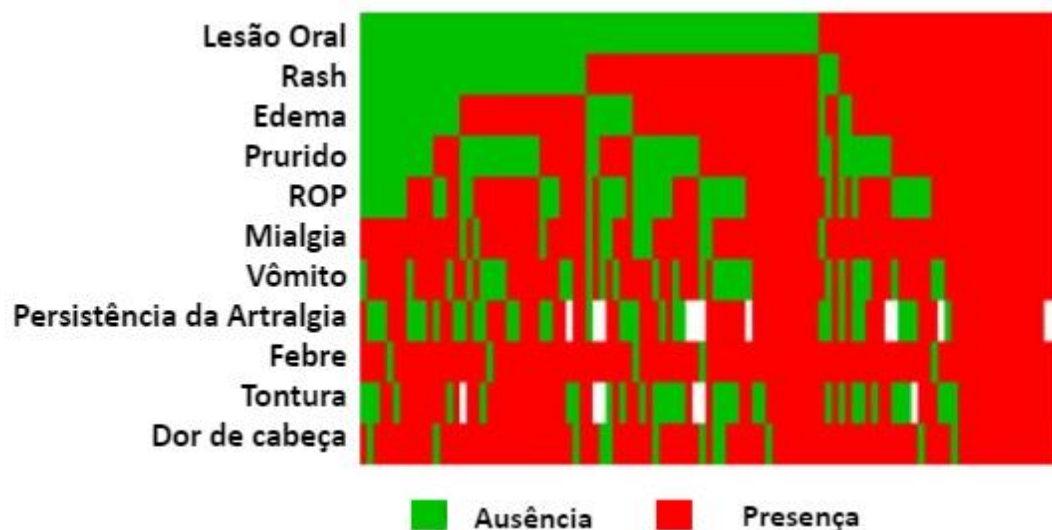


Figura 6. Heatmap com sinais e sintomas de Chikungunya na fase aguda de acordo com a presença (vermelho) ou ausência (verde) de lesão oral dos 105 pacientes avaliados. Aplicou-se teste qui quadrado para avaliar a associação entre as variáveis relacionadas aos sintomas sistêmicos com a variável lesão oral. Rash, edema, prurido, dor retroocular e mialgia apresentaram significância estatística em relação à presença de lesão oral ( $p < 0,05$ ). Rash apresentou valor de  $p < 0,01$  e Odds ratio=7,817 em análise de regressão logística.

## VI.7. Análise da expressão de citocinas, quimiocinas e RNA viral na saliva dos pacientes, de acordo com a presença da lesão oral

A resposta imune local nos indivíduos com lesão oral foi avaliada através da quantificação de citocinas e quimiocinas nas amostras de saliva (Figura 7).

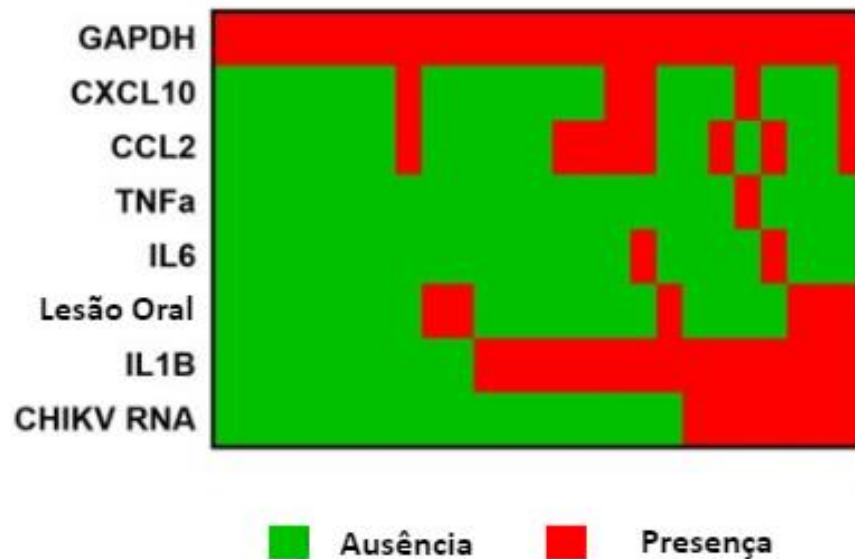


Figura 7. Heatmap da análise da expressão de citocinas, quimiocinas e RNA viral da saliva de pacientes com e sem lesão oral. Em verde destacam-se as ausências e em vermelho as presenças. saliva. Amostras de saliva de 25 pacientes (6 pacientes com lesões orais e 19 sem lesões orais), foram submetidas a RT-qPCR para realização destas detecções. Teste exato de Fischer foi realizado para avaliar a associação estatística entre as citocinas e quimiocinas com lesão orais e RNA viral.

Amostra de saliva de 6 pacientes com lesão oral (todos com lesão ulcerada, localizadas principalmente na língua e na gengiva) foram testadas para avaliar a presença de IL-1 $\beta$ , IL-6, TNFa, CCL2, CXCL10 e do vírus. Não houve relação entre a presença de lesão oral e de RNA viral. Dos 19 casos sem lesão oral, 21% tinham vírus na saliva, enquanto dos 6 casos com lesão oral, 50% detectaram CHIKV na saliva. Entretanto, observou-se que dos 7 casos positivos para o vírus, 7 apresentaram IL-1 $\beta$  detectável na saliva ( $p < 0,05$ ). No total de 25 amostras de saliva de pacientes com CHIKD aguda, o vírus foi detectado em 7. Todos os 7 tinham IL-1 $\beta$  detectável na amostra. As demais citocinas e quimiocinas avaliadas, IL-6, TNFa, CCL2 e CXCL10, não apresentaram associação com a presença de RNA viral ou com a presença das manifestações oral.