

**Mônica Alcantara de Oliveira Santos**

**ESTUDO PROSPECTIVO DA FREQUÊNCIA DOS VÍRUS  
HERPES SIMPLES E VARICELA ZOSTER, PELA TÉCNICA DE  
REAÇÃO DE POLIMERASE EM CADEIA, EM SALIVA DE  
INDIVÍDUOS COM PARALISIA FACIAL PERIFÉRICA DE BELL**

Tese apresentada ao curso de Pós-graduação da Faculdade de Ciências Médicas da Santa Casa de São Paulo para obtenção do título de Mestre em Medicina.

São Paulo

2009

# **Livros Grátis**

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.



**Mônica Alcantara de Oliveira Santos**

**ESTUDO PROSPECTIVO DA FREQUÊNCIA DOS VÍRUS  
HERPES SIMPLES E VARICELA ZOSTER, PELA TÉCNICA DE  
REAÇÃO DE POLIMERASE EM CADEIA, EM SALIVA DE  
INDIVÍDUOS COM PARALISIA FACIAL PERIFÉRICA DE BELL**

Tese apresentada ao curso de Pós-graduação da Faculdade de Ciências Médicas da Santa Casa de São Paulo para obtenção do título de Mestre em Medicina

Área de concentração: Otorrinolaringologia  
Orientador: Prof. Dr. Paulo Roberto Lazarini

São Paulo

2009

**FICHA CATALOGRÁFICA**  
**Preparada pela Biblioteca Central da**  
**Faculdade de Ciências Médicas da Santa Casa de São Paulo**

Santos, Mônica Alcantara de Oliveira

Estudo prospectivo da frequência dos vírus herpes simples e varicela zoster, pela técnica de reação de polimerase em cadeia, em saliva de indivíduos com paralisia facial periférica de Bell./ Mônica Alcantara de Oliveira Santos. São Paulo, 2009.

Tese de Mestrado. Faculdade de Ciências Médicas da Santa Casa de São Paulo – Curso de Pós-Graduação em Medicina.

Área de Concentração: Otorrinolaringologia

Orientador: Paulo Roberto Lazarini

1. Paralisia facial 2. Paralisia de Bell 3. Reação em cadeia da polimerase 4. Herpes simples 5. Herpes Zoster 6. Estudos prospectivos

BC-FCMSCSP/50-09

À toda minha família, segredo  
de meus sucessos e verdadeira  
importância de minha vida.

## **AGRADECIMENTO ESPECIAL**

Ao Professor Doutor Paulo Roberto Lazarini, Professor do Programa de Pós-graduação e Professor Instrutor do Departamento de Otorrinolaringologia da Santa Casa de Misericórdia de São Paulo, orientador e amigo.

## **AGRADECIMENTOS**

À Faculdade de Ciências Médicas da Santa Casa de São Paulo e à Irmandade da Santa Casa de Misericórdia de São Paulo, meu amado berço na medicina e na otorrinolaringologia.

Ao Prof. Dr. José Eduardo Lutaif Dolci, Diretor do Departamento de Otorrinolaringologia da Santa Casa de São Paulo, um líder dentro de nossa especialidade.

Ao Prof. Dr. Fernando Quintanilha Ribeiro, Coordenador do Programa de Pós-Graduação em Otorrinolaringologia da Faculdade de Ciências Médicas da Santa Casa de São Paulo, verdadeiro pesquisador.

Ao Prof. Dr. Otacílio Lopes Filho, Professor Titular do Departamento de Otorrinolaringologia da Santa Casa de São Paulo, um exemplo infundável.

Ao Prof. Dr. Lidio Granato, Professor Adjunto do Departamento de Otorrinolaringologia da Santa Casa de São Paulo, sempre disposto a compartilhar seu conhecimento.

Ao Prof. Dr. Ney Penteado de Castro Júnior, Professor Adjunto do Departamento de Otorrinolaringologia da Santa Casa de São Paulo, que muito me incentivou.

Ao Prof. Dr. Carlos Alberto Herrerias de Campos, Professor Adjunto do Departamento de Otorrinolaringologia da Santa Casa de São Paulo, que me estimulou a escolher a Otorrinolaringologia.

Ao Prof. Dr. Ivo Bussoloti Filho, Professor Adjunto do Departamento de Otorrinolaringologia da Santa Casa de São Paulo, por acreditar em mim.

Ao Prof. Dr. Osmar Mesquita de Sousa Neto, Professor Adjunto da Faculdade de Ciências Médicas da Santa Casa de SP, por compreender minha ausência e incentivar meu mestrado.

Aos Profs. Drs. Ana Cristina Kfoury Camargo, Celina Siqueira Barbosa Pereira, Leonardo da Silva e Alessandro Murano Ferre Fernandes, membros de minha banca de qualificação, por enriqueceram este trabalho.

Ao Prof. Dr. Hélio Hehl Caiaffa Filho, Diretor Técnico de Serviço de Saúde Laboratório de Biologia Molecular - Divisão de Laboratório Central - Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo e às biólogas Eliana Schneider e Suzethe Matiko Sasagawa, por possibilitarem a execução deste trabalho no Departamento de Biologia Molecular da Faculdade de Ciências Médicas da Santa Casa de Misericórdia de São Paulo.

Aos amigos Dr. Cristiano Ricardo Siqueira de Souza e Dra. Elaine Stabenow, pelo inestimável auxílio na análise estatística.



Aos amigos Dra. Melissa Ferreira Vianna, Dra. Sylvia Heloisa Arantes Cruz e Dr. Rodolfo Alexander Scalia, por me nortear em diversas etapas do mestrado.

Aos residentes do Departamento de Otorrinolaringologia, em especial à Dra. Andressa Guimarães do Prado Almeida, ex-residente do Departamento, pelo auxílio indispensável na realização deste estudo.

À secretária da pós-graduação, Sonia Alves, disponível desde minha inscrição no mestrado.

A todos os assistentes, colegas e funcionários do Departamento de Otorrinolaringologia da Santa Casa de São Paulo, em especial às secretárias Maria Zélia Cirino Vieira, Telma Vieira Arlindo e Ana Lúcia de Oliveira, pela amizade e apoio.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pelo suporte financeiro concedido.

## ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

bp	Pares de bases
CMV	Citomegalovírus
DNA	Ácido desoxirribonucleico
EBV	Vírus Epstein-Barr
HB	House- Brackmann
HIV	“Human immunodeficiency virus” = Vírus da imunodeficiência humana
Ig	Imunoglobulina
LCR	Líquido cefalorraquidiano
M	Molar
mA	Miliamperes
mg	Miligrama
ml	Mililitro
μl	Microlitro
p	Significância estatística
PB	Paralisia facial periférica de Bell
PCR	“Polymerase Chain Reaction” = Reação de Polimerase em Cadeia
PFP	Paralisia facial periférica
qsp	Quantidade suficiente para
rpm	Rotações por minuto
SRH	Síndrome de Ramsay Hunt
V	Volt

VHH-6	Virus herpes humano tipo 6
VHS	Virus herpes simples
VHS-1	Virus herpes simples tipo I
VHS-2	Virus herpes simples tipo II
VVZ	Virus varicela zoster
ZSH	“Zoster sine herpate”

# SUMÁRIO

1 - INTRODUÇÃO .....	1
1.1 – Revisão da Literatura .....	6
2 – OBJETIVOS.....	23
3 – MATERIAL E MÉTODO .....	24
3.1 – Seleção dos casos clínicos.....	24
3.1.1 – Critérios de inclusão .....	24
3.1.2 – Critérios de exclusão .....	24
3.2 – Grupo controle.....	25
3.3 – Método .....	25
3.3.1 – Acompanhamento médico .....	25
3.3.2 – Coleta de material.....	25
3.3.3 – Exame laboratorial .....	26
3.4 – Análise estatística.....	26
3.5 – Levantamento bibliográfico.....	27
4 – RESULTADOS .....	29
4.1 – Análise descritiva do grupo caso .....	29
4.2 – Análise descritiva do grupo controle .....	33
4.3 – Análise comparativa dos grupos caso e controle.....	33
4.4 – Análise comparativa dos resultados do PCR nos grupos caso e controle.....	34
4.5 – Análise comparativa entre casos com PCR positivo e negativo para VHS .....	35
4.5.1 – Idade.....	35
4.5.2 – Sexo .....	35
4.5.3 – Lado da paralisia .....	36
4.5.4 – Grau de paralisia no momento da admissão .....	36
4.5.5 – Evolução.....	37
4.6 – Descrição dos casos com PCR positivo para VVZ.....	38
5 – DISCUSSÃO.....	40
5.1 – Sobre os dados epidemiológicos da amostra .....	40

5.2 – Sobre a metodologia .....	42
5.2.1 – Sobre a amostra e técnica de coleta.....	42
5.2.2 – Sobre o método de PCR.....	43
5.2.3 – Sobre o tratamento com drogas antivirais.....	45
5.3 – Sobre o mecanismo de etiopatogenia viral .....	47
5.4 – Sobre o diagnóstico viral .....	48
5.4.1 – VHS .....	48
5.4.2 – VVZ .....	53
5.5 – Sobre os pacientes com PCR positivo.....	55
5.5.1 – VHZ .....	55
5.5.1.1 – Sobre a idade.....	55
5.5.1.2 – Sobre o grau de paralisia na admissão .....	55
5.5.1.3 – Sobre a evolução .....	56
5.5.2 – VVZ .....	56
5.6 – Considerações finais .....	57
6 – CONCLUSÕES.....	60
7 – ANEXOS.....	61
Anexo 1 .....	61
Anexo 2.....	63
Anexo 3.....	67
Anexo 4.....	68
Anexo 5.....	69
8 – REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	70
FONTES CONSULTADAS.....	77
RESUMO.....	78
ABSTRACT .....	79
APÊNDICES.....	80

# 1 – INTRODUÇÃO

A paralisia facial periférica (PFP) foi descrita por Sir Charles Bell (1774-1842) em 1821 (Bell, 1821). Inicialmente, todos os quadros de paralisia do nervo facial passaram a ser chamados de Paralisia de Bell (PB). Entretanto, com a descoberta de causas da doença, apenas os quadros idiopáticos mantiveram esta denominação.

Em pesquisas sobre a PFP, a PB é a forma clínica mais comum (Adour, 1982; Morgan et al, 1995; Takahashi et al, 2001). Sua incidência foi estimada em 20 a 30 casos em cada 100.000 pessoas (Davis, 1981; Hadar et al, 1983; Linder et al, 2005). Embora seja o tipo mais frequente de PFP, a causa da PB ainda é objeto de inúmeras teorias e questionamentos.

O vírus varicela zoster (VVZ) foi um dos primeiros vírus a serem relacionados à PFP. Tryde<sup>\*</sup>, em 1872, foi o primeiro a descrever esta afecção e, apenas em 1904, Koerner<sup>†</sup> passou a chamá-la de *herpes zoster oticus*.

Foi James Ramsay Hunt<sup>‡</sup> (1872-1937) que, em 1907, descreveu sistematicamente manifestações de PFP e lesões cutâneas típicas (vesículas e bolhas) na pele das conchas auriculares, associadas frequentemente a zumbido e vertigem. Este quadro passou a ser chamado Síndrome de Ramsay Hunt (SRH), em homenagem ao autor.

Estudos estimam que a SRH represente sete a 16% do total das PFPs não traumáticas (Hato et al, 2000; Peitersen, 2002).

---

\* Tryde C. (1872) apud Tschiasny K. The site of the nerve lesion in cases of Ramsay Hunt's Syndrome. Ann. Otol. 1946; 55: 152-74.

† Koerner O. (1904) apud Crabtree JA. Herpes Zoster Oticus. Laryngoscope 1968; 78:1853-78.

‡ Hunt JR. (1907) apud Peitersen E. Bell's palsy: the spontaneous course of 2,500 peripheral facial nerve palsies of different etiologies. Acta Otolaryngol Suppl 2002; (549):4-30.

Geralmente, a aparição das lesões cutâneas é anterior à PFP; entretanto, em 14% dos casos, esta erupção é posterior, podendo inexistir em alguns indivíduos (Martínez Oviedo et al, 2007).

Em 1933, Aitken e Brain<sup>§</sup> publicaram estudo de nove pacientes com SRH e observaram a presença de anticorpos específicos em todos eles. Da mesma forma, estudaram 22 pacientes com PFP aguda, não traumática, de causa não definida e encontraram quatro com os mesmos anticorpos. Este fato levantou a hipótese de que o VVZ poderia, em alguns casos, determinar a PFP sem que houvesse manifestações cutâneas e, portanto, o quadro seria erroneamente caracterizado como PB.

Estes casos de PFP causados por VVZ e sem manifestação cutânea têm sido denominados *zoster sine herpete* (ZSH).

Em 1991, Dlugosch et al descreveram a técnica de detecção do VVZ pelo teste de reação de polimerase em cadeia (PCR). Esta técnica impulsionou novas publicações que vieram a confirmar a presença de vírus da família herpes em casos de PFP, entre elas as de: Furuta et al (1997), que utilizaram swab de orofaringe; Murakami et al (1998), PCR em exsudato de pele de região auricular; Pitkäranta et al (2000), PCR na lágrima; Furuta et al (1998) e Lazarini et al (2006b), PCR em saliva.

Ainda antes do advento da técnica de PCR, diversas pesquisas clínicas, sorológicas, imunológicas e morfológicas começaram a indicar que o vírus herpes simples (VHS) seria o principal vírus envolvido, de forma direta ou indireta, nos

---

<sup>§</sup> Aitken RS, Brain RT. (1933) apud Peitersen E, Caunt AE. The incidence of herpes zoster antibodies in patients with peripheral facial palsy. J Laryngol Otol. 1970; 84(1):65-70.

mecanismos de agressão ao nervo facial, levando à PB (Adour et al, 1975; Davis, 1981; Furuta et al, 1992; Takahashi et al, 2001).

Experimentos em animais também foram capazes de demonstrar que a infecção pelo VHS pode acometer o nervo facial (Giancoli, 2006) e causar paralisia facial (McCormick, 1972; Kristensson et al, 1978; Ishii et al, 1988; Murakami et al, 1996a; Wakisaka et al, 2002).

McCormick (1972) foi o primeiro a sugerir o envolvimento do VHS na PB e a propor a teoria da reativação viral, que explicaria a relação da PFP não apenas com o VHS, como também com o VVZ e outros vírus. De acordo com esta teoria, após um contágio inicial, o vírus seguiria por via sanguínea ou axonal retrógrada até os gânglios sensitivos e nestes, permaneceria latente, como demonstrado pelos estudos de Bastian et al (1972), Furuta et al (1992) e Takasu et al (1992).

A reativação viral ocorreria por uma diminuição da atividade imune que poderia ser desencadeada por alterações metabólicas (McCormick, 1972), procedimentos cirúrgicos ou odontológicos (Furuta et al, 2000a; Safdar et al, 2006) ou mesmo situações de estresse ou imunossupressão (Tomishima et al, 2001).

Os vírus, quando reativados, sofreriam replicação e difundir-se-iam pelo nervo facial e seus ramos, levando ao processo inflamatório que acarretaria a PFP.

Um dos ramos do nervo facial, o nervo corda do tímpano, responsável pela inervação das glândulas submandibular e sublingual, também receberia estes vírus reativados e, ao estimular a salivação, possibilitaria a passagem destes agentes para a saliva. Neste fluido salivar, seria possível identificar o DNA viral por meio da técnica do PCR, como descrito por Lazarini et al (2006b).



Outros agentes virais foram relacionados à PB a partir desta teoria. É o caso do vírus Epstein-Barr (EBV) (Kaygusuz et al, 2004; Diedler et al, 2006), do citomegalovírus (CMV) (Kaygusuz et al, 2004), do vírus da caxumba (Endo et al, 2001; Kaygusuz et al, 2004) e do vírus da imunodeficiência humana (HIV) (Fortes, 2005; Abboud e Saliba, 2008; Yeo et al, 2008).

Aoyagi, em 2005, descreve a importância de diversos fatores no prognóstico da PFP e cita: a causa da doença, o local da lesão e o grau de injúria, como importantes fatores. O autor afirma que o diagnóstico etiológico é o passo mais importante para o tratamento, sendo, o mais significativo, estabelecer o diagnóstico diferencial entre a PB e a SRH, uma vez que, nesta última, a paralisia facial costuma apresentar pior evolução.

Na prática clínica, pacientes com quadros que podem ser caracterizados como PB, teriam o VHS como possível causa, muito embora alguns deles possam ser decorrentes da reativação do VVZ e não do VHS (Furuta et al, 2000b, Ohtani et al, 2000). Este diagnóstico diferencial torna-se importante, pois se acredita em um pior prognóstico em pacientes com PB causada pelo VVZ (Aburto et al, 1990; Peitersen, 2002; Martínez Oviedo et al, 2007).

Certamente, conhecer o agente agressor, identificando a causa da PB, nortearia tanto a conduta como um tratamento mais adequado aos pacientes com PFP. Infelizmente, a grande maioria dos trabalhos que estudam a prevalência do VHS e do VVZ na saliva, como agente etiológico da PB, o fazem na população japonesa, o que determina um grupo populacional e características geográficas bastante díspares de nossa população.

De modo geral, a prevalência dos vírus da família herpes não é a mesma em todo o mundo, apresentando variações entre países (Kang et al, 2008; Looker et al, 2008) e regiões (Mahnert et al, 2007). Esta prevalência sofre, também, influência de fatores externos, como programas de educação (Tassiopoulos et al, 2007) e vacinação (Yih et al, 2005; Chaves et al, 2007; Yawn et al, 2007; García Cenoz et al, 2008).

A prevalência da própria PFP já foi estudada em diferentes regiões do mundo. Em Madri, a incidência anual foi estimada em 24,1 por 100 mil habitantes (De Diego et al, 1999). Na Sicília (Savettieri et al, 1996), a prevalência foi de 642,8 por 100 mil habitantes, trinta vezes maior. Em Laredo, cidade do Texas, determinou-se incidência de 23,5 por 100 mil homens e 32,7 por 100 mil mulheres (Brandenburg, Annegers, 1993).

Estas variações epidemiológicas na manifestação viral podem acarretar um diferente perfil etiológico da PB em nosso meio; fato ainda não estudado.

Diante desta realidade, reconhecemos, no presente trabalho, a importância de estudar a relação da PB com os vírus herpes simples e varicela zoster, descrevendo sua frequência e suas características em nosso meio.

## 1. 1 - Revisão da Literatura

McCormick, em 1972, publicou sua hipótese de reativação viral como causa da PB, na qual afirmou que grande porcentagem dos casos de PB poderiam ser causados pelo VHS. O vírus, segundo sua teoria e observações, ficaria latente, de forma a proteger-se de anticorpos e células mononucleares. A PB ocorreria quando o vírus fosse reativado, migrando pelo nervo facial e levando a uma neurite compressiva dentro do seu canal ósseo no osso temporal.

Adour et al, em 1975, verificaram a presença de anticorpos anti-VHS em 41 amostras sanguíneas de indivíduos com PB (100%) e em 35 dos 45 controles sadios (85%). Os autores afirmaram que, como os anticorpos não indicaram infecção aguda, ratificava-se a hipótese de que o vírus ficaria latente nos gânglios sensitivos e, após reativação, levaria à neurite e, conseqüentemente, à PFP.

Shigeta et al, em 1986, realizaram pesquisa em que foram utilizados testes de imunofluorescência para verificar a titulação de anticorpos anti-VVZ em pacientes com PFP. Encontraram títulos maiores que 1/10 em nove de 31 pacientes (29%) com PB e oito de 12 pacientes (75%) com SRH. Nenhum dos controles saudáveis apresentou este valor. Os autores concluíram que o teste de imunofluorescência poderia ser útil no diagnóstico do VVZ em pacientes com PFP.

Tomita et al, em 1988, publicaram um estudo com 352 pacientes, sendo 53 com SRH, 287 com PB e 12 com PFP causada pelo VVZ, sem vesículas (ZSH) - estes últimos diagnosticados pelo teste de fixação do complemento. Os 352 pacientes foram submetidos ao teste de ELISA. Além dos 12 casos já diagnosticados como ZSH, o teste de ELISA foi capaz de diagnosticar mais 28 casos sugestivos de PFP causada por VVZ dentre os pacientes com PB. O teste

diagnosticou 94,3% dos casos de SRH. Observou-se que a positividade para o VVZ está presente até a sexta semana após o início do quadro clínico. Os autores consideraram o teste de ELISA um método eficiente no diagnóstico do VVZ em casos de PFP, além de apresentar resultados mais rápidos que os do teste de fixação do complemento.

Aburto et al, em 1990, avaliaram 21 pacientes com SRH, na primeira semana de evolução, sendo que oito não receberam tratamento, dez foram tratados com aciclovir oral e três foram submetidos à descompressão do nervo facial, sendo, estes últimos, excluídos da análise comparativa. Dos oito pacientes que não receberam tratamento, apenas um teve recuperação completa da mobilidade facial, sendo que, dos sete restantes, quatro apresentaram sequelas acentuadas. Do grupo que recebeu aciclovir, cinco recuperaram-se completamente e, dos demais, apenas três evoluíram com sequelas importantes. Os autores concluíram que, apesar da pequena amostra envolvida no estudo, o aciclovir parece uma boa alternativa no tratamento da PFP.

Bento et al, em 1991, acompanharam 79 pacientes com PB, atendidos no Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, de fevereiro de 1989 a outubro de 1990. Estes indivíduos foram divididos aleatoriamente em dois grupos - um deles com uso de dexametasona e outro com placebo - para estudo da evolução e do tempo de recuperação. O tempo de evolução foi de 61,45 dias (variando de 7 a 240 dias) para o grupo que utilizou a dexametasona e de 40,95 dias (variando de 8 a 70 dias) para o grupo que utilizou o placebo. Os autores concluíram que não houve diferença

estatisticamente significativa entre os dois grupos quanto à qualidade e ao tempo de recuperação da paralisia.

Dlugosch et al, em 1991, consagrou o uso do PCR, ao publicar estudo descrevendo o uso deste método de detecção viral em 31 amostras de fluido de vesículas de pacientes com catapora ou herpes zoster. A técnica detectou o DNA de VVZ em 30 das 31 amostras (97%). A única amostra negativa era proveniente de um indivíduo que havia feito uso de medicamento antiviral. O autor concluiu que a técnica de PCR seria útil para detecção viral de VVZ, possuía taxa de positividade muito maior que o isolamento viral, seria fácil de ser realizada e permitiria diagnóstico em até algumas horas.

Burgess et al, em 1994, relataram o caso de um paciente com PFP idiopática, falecido por causa não relacionada à paralisia, do qual foi retirado o gânglio geniculado. Realizou-se estudo por PCR, encontrando-se DNA de VHS neste gânglio sensitivo. Os autores consideraram que o PCR seria um poderoso e revolucionário método de detecção do DNA viral e que poderia ser utilizado em uma amostra maior na tentativa de estabelecer se o VHS seria a causa da PB.

Tateishi et al, em 1994, avaliaram a presença do VHS em amostras de saliva de 1000 pacientes ambulatoriais do departamento de cirurgia oral e maxilofacial, pelas técnicas de PCR e cultura. O PCR teve 4,7% de positividade para o vírus e a cultura, 2,7%. Todos os pacientes diagnosticados pela cultura foram também diagnosticados pelo PCR. Assim, os autores concluíram que o PCR é aproximadamente duas vezes mais sensível que a cultura para detecção deste vírus na saliva.

Morgan et al, em 1995, examinaram duas amostras de sangue, com diferença média de 14 dias entre as coletas, de 62 pacientes com PFP e 50 controles. Observaram que mais pacientes que controles apresentaram anticorpo IgM anti-VVZ e anti-VHS positivo no teste de ELISA, com significância estatística, assim como, no teste de fixação do complemento, apenas para VVZ. Não houve diferença significativa em soropositividade por ELISA para CMV, EBV e imunofluorescência para vírus herpes humano tipo 6 (VHH-6). Também não houve diferença estatisticamente significativa em relação à evidência de infecção recente, pelo teste de ELISA, para: vírus da rubéola e *Borrelia burgdorferi* e, por meio do teste de fixação do complemento, para: vírus influenza A e B, adenovírus, vírus sincicial respiratório, vírus da parotidite e do sarampo, *Mycoplasma pneumoniae*, *Coxiella burnetii* e *Chlamydia sp.* Os autores também descreveram um caso de PFP associada à pneumonia por *Mycoplasma pneumoniae*. Os autores concluíram que o VVZ seria o principal agente etiológico da PB.

Murakami et al, em 1996b, estudaram 14 pacientes com PB e nove pacientes com SRH que foram submetidos à descompressão do nervo facial entre 12 e 87 dias após o início da paralisia. Durante a cirurgia, foi retirada parte do músculo auricular posterior e amostras do fluido endoneural do nervo facial. Nestes materiais, pesquisou-se a presença dos vírus VHS e VVZ pela técnica de PCR. Os controles foram pacientes submetidos à timpanoplastia, cirurgia de tumores e descompressão do nervo facial em pacientes com PFP por fratura do osso temporal ou otite média. Os autores encontraram DNA de VHS em 11 (79%) de 14 pacientes com PB e em nenhum paciente com SRH. O DNA de VVZ foi observado em oito (89%) de nove pacientes com SRH e em nenhum paciente com

PB. Como todos os controles foram negativos, os autores concluíram que, assim como o VVZ seria o agente etiológico da SRH, o VHS seria o agente da PB.

Furuta et al, em 1997, publicaram estudo com 36 pacientes com PFP aguda, os quais foram submetidos à pesquisa de VVZ em swab de orofaringe pela técnica de PCR e à dosagem sérica de IgG e IgM anti-VVZ. Os pacientes foram acompanhados por duas semanas, sendo que, dos 36 pacientes, foram coletadas 84 amostras de swab. O número de amostras não foi igual para todos os pacientes, variando de uma a quatro amostras por indivíduo. Os controles positivos foram quatro pacientes com SRH e dois pacientes com VVZ no nervo trigêmeo e os controles negativos foram 15 voluntários sadios. O VVZ foi detectado por PCR em seis pacientes (17%). Em três deles, o exame foi positivo no momento da admissão e negativo nas duas (dois pacientes) ou três consultas (um paciente) subsequentes. Dois pacientes não retornaram para acompanhamento e, portanto, só têm um exame inicial positivo. Um paciente realizou quatro exames, sendo os dois primeiros (quatro e 11 dias) positivos. Em relação à sorologia, a presença de IgM foi detectada em apenas um paciente na primeira consulta e alterações na titulação de IgG e IgM foram encontradas em outros dois pacientes. Os autores concluíram que a detecção de DNA de VVZ em swab de orofaringe seria superior aos métodos sorológicos, para a pesquisa de ZSH, em pacientes com PB.

Gonçalves-Coelho et al, em 1997, realizaram um estudo retrospectivo de dez anos no Hospital do Servidor Público Estadual, em São Paulo, descrevendo aspectos epidemiológicos de 239 pacientes com PB. A avaliação mostrou predominância do sexo feminino (70,71%), da faixa etária de 31 a 60 anos

(40,59%) e de ocorrência nos meses de outono (31,38%) e inverno (30,13%). Os autores afirmaram que esta distribuição temporal predominante nos meses frios reforçaria a hipótese de que a origem da PB seria infecciosa, uma vez que nestes meses haveria um aumento das infecções de vias aéreas superiores.

Furuta et al (1998) estudaram pacientes com até duas semanas de evolução de PFP sendo 47 pacientes com PB, 24 pacientes com SRH e 16 voluntários sadios com anticorpos IgG anti-VHS. A sorologia mostrou que 42 (89%) dos 47 pacientes com PB eram soropositivos para VHS e 16 (67%) de 24 pacientes com SRH eram soropositivos para VHS. Foram coletadas amostras de saliva dos indivíduos para detecção de DNA do VHS pela técnica de PCR. Não foi detectado DNA viral nos pacientes com sorologia negativa. Nos pacientes soropositivos foi observada positividade de 42% nos pacientes com PB, 25% nos pacientes com SRH e 19% nos controles. Os autores verificaram que a frequência de amostras positivas com até sete dias de evolução da PFP foi significativamente maior que a positividade naquelas coletadas com oito dias ou mais de paralisia, concluindo que a reativação do VHS teria provável relação com a PB.

Schulz et al (1998) avaliaram a presença do DNA do VHS latente, pela técnica do PCR, em gânglios espiral, facial e vestibular de 18 ossos temporais de seres humanos. O objetivo foi comprovar a relação desta infecção latente com as desordens clínicas isoladas ou combinadas que poderiam ocorrer. O vírus foi detectado em 56% dos gânglios geniculados, em 61% dos vestibulares e em 50% dos espirais. Os autores concluíram que as alterações encontradas eram compatíveis com uma possível reativação herpética nos gânglios e inferiram uma associação deste agente com a etiopatogenia da neurite vestibular. Relataram,



ainda, que tais achados sugeririam diferentes vias de disseminação do vírus pelo sistema nervoso.

Antunes et al, em 2000, estudaram 46 pacientes com PB que foram divididos em três grupos de tratamento: placebo, deflazacort e valaciclovir mais deflazacort. O grupo de foi submetido ao uso de valaciclovir mais deflazacort apresentou resultados mais satisfatórios em relação às alterações no teste elétrico (com o estimulador Hilger), ao tempo de recuperação do reflexo estapediano e da PFP e em relação à presença ou ausência de sequelas. Estes resultados, porém, não foram estatisticamente significantes. Os autores concluíram que a terapia instituída não alterou o prognóstico da PB.

Furuta et al (2000b) publicaram um estudo com 142 pacientes, dos quais foi coletada saliva para pesquisa de VHS e VVZ, pela técnica de PCR, no momento da admissão e duas a três semanas após, sendo quatro a dez amostras em cada consulta. Os pacientes foram submetidos a coleta de sangue para verificar a presença de anticorpos contra os mesmos vírus. Em 21 pacientes com diagnóstico clínico de SRH, os autores encontraram VVZ por PCR em 11 de 19 pacientes e alterações de imunoglobulinas anti-VVZ em 15 de 17 casos. Nos demais 121 pacientes, diagnosticados como PB, a análise por PCR detectou VVZ em 20 pacientes, sendo que 11 também apresentaram alterações nas imunoglobulinas e 15 apresentaram apenas alteração sorológica. O VHS foi diagnosticado por PCR em 23 de 75 pacientes (32%) e alterações sorológicas estavam presentes em 116 de 142 pacientes (82%). Os autores observaram que o VVZ foi detectado em 23 dos 26 pacientes (88%) que foram soronegativos para VHS. Os autores verificaram também uma maior prevalência de VHS em pacientes com mais de 55

anos e, de VVZ, em menores de 24 anos. Os autores concluíram que VVZ seria um dos mais importantes agentes etiológicos da PB e que a reativação deste vírus causaria PFP principalmente em pacientes sem anticorpos para VHS.

Ohtani et al, em 2000, propuseram um novo teste de detecção de anticorpos anti-VHS, baseado na modificação da técnica convencional de Western-blot, de forma a torná-la mais rápida. Os autores avaliaram 100 amostras de sangue de pacientes com PFP, comparando os resultados desta técnica e do exame convencional, tendo encontrado uma sensibilidade maior que 95% e uma especificidade de 100%. Os autores concluíram que, como trabalhos anteriormente publicados indicaram que a ausência de anticorpos anti-VHS seria um marcador sorológico sugestivo de reativação do VVZ em pacientes com PB, esta nova técnica, nomeada *rapid strip assay*, seria aplicável na predição de reativação do VVZ em pacientes com PB.

Pitkäranta et al, em 2000, publicaram um estudo com 20 pacientes portadores de PFP idiopática, com até uma semana de evolução da doença. Nestes, realizou-se detecção do DNA dos vírus VHH-6 e VVZ, pela técnica de PCR, em amostras de secreção lacrimal. Os autores detectaram o VHH-6 em sete pacientes (35%) e o VVZ em dois (10%). Dentre os casos controle (20 voluntários saudáveis), apenas um indivíduo apresentou resultado positivo para VHH-6 e nenhum foi positivo para VVZ. Os resultados sugeriram uma associação entre os vírus da família herpes e a PB.

Furuta et al (2001a) submeteram 176 pacientes com PFP a sorologia e PCR em saliva para pesquisa de VHS e VVZ. Os autores encontraram o DNA de VHS em 16 de 90 pacientes (18%) testados na admissão e em 15 de 86 pacientes

(17%) testados tardiamente (os autores não especificam o tempo decorrido até este segundo teste). Quarenta e cinco pacientes foram diagnosticados como ZSH e 100 pacientes como PB. Os autores compararam o pior grau de paralisia encontrado nestes três grupos. O grupo com ZSH teve pior grau se comparado ao grupo com PB. As demais diferenças não foram estatisticamente significantes. Os pacientes do estudo foram tratados com prednisona e, quando o PCR era positivo, o aciclovir era também prescrito. Não houve diferença na taxa de cura entre os pacientes que usaram, ou não, o medicamento antiviral. Os autores concluíram que o uso do aciclovir não melhoraria a taxa de recuperação dos pacientes.

Neste mesmo ano, Furuta et al (2001b) avaliaram 25 pacientes com SRH e 31 com ZSH diagnosticados por PCR ou sorologia. Estes pacientes foram submetidos à coleta de saliva seriada, na qual foi verificada a quantidade de vírus presente nas amostras pela técnica de PCR. Os autores observaram que o número de cópias virais atingia um pico próximo ao dia da manifestação das lesões em pele e, portanto, alguns casos de PCR negativo para VVZ em pacientes com ZSH poderiam corresponder à queda da carga viral. Os resultados sugeriram que a carga viral de VVZ na saliva teria relação com a reativação viral em pacientes com SRH. Como não houve diferença significativa entre os valores de carga viral nos pacientes com SRH e ZSH, os autores concluíram que a carga viral não seria a causa das diferentes manifestações do VVZ.

Valença et al, em 2001, avaliaram 180 casos de PFP atendidos em serviços de Pernambuco, de 1993 a 1999, com o objetivo de descrever aspectos epidemiológicos e evolutivos da doença. Os autores descreveram a amostra com predomínio do sexo feminino (66,7%), lado esquerdo ligeiramente mais acometido

(55,6%) e faixa etária com dois picos de maior incidência: terceira e quarta década e outro na sexta década de vida. Dos 180 pacientes acompanhados, 22,8% apresentaram sequelas após a paralisia.

Abiko et al, em 2002, estudaram 16 pacientes com PB ainda não tratada, dos quais coletaram 72 amostras de saliva das glândulas submandibulares, 96 amostras de parótidas e 76 amostras de lágrimas, de ambos os lados, a fim de examinar quantitativamente a presença do VHS, pelas técnicas de PCR e de hibridização *in situ*. A secreção lacrimal foi coletada com a utilização de papel de filtro e a secreção salivar, com tubos finos inseridos nas aberturas dos ductos de drenagem das glândulas analisadas. Os resultados foram comparados com 36 amostras de um grupo controle de seis pacientes saudáveis. Todos os pacientes apresentaram positividade para anticorpo anti-VHS no teste sorológico, mas nenhuma amostra dos indivíduos saudáveis evidenciou a presença do VHS-DNA. O VHS foi detectado por PCR em cinco dos 16 pacientes (31%), sendo 16,7% em lágrima; 18,4% em saliva da glândula parótida; 11,1% em submandibular. A presença do VHS foi confirmada pela técnica de hibridização. Os autores encontraram maior detecção viral nas amostras coletadas em até duas semanas de PFP, observando decréscimo significativo após três semanas de evolução. Em relação ao lado, a detecção do VHS foi significativamente maior em amostras ipsilaterais à PB. Concluíram que a reativação do VHS, no lado afetado, está relacionada à patogênese da PB; porém nem todos os casos foram causados por esta reativação, visto que em 11 dos 16 pacientes com PFP não se identificou a presença do vírus.

Peitersen (2002) acompanhou 2570 pacientes com PFP por um período de 25 anos. Esta amostra incluiu 1701 indivíduos com PB, sendo 51,9% do sexo masculino e predomínio da faixa etária de 15 a 45 anos. A incidência da PB foi significativamente menor abaixo dos 15 anos e acima dos 60 anos. O acompanhamento revelou que 85% dos pacientes apresentaram melhora nas primeiras três semanas, sendo que 71% recuperaram totalmente a função da musculatura facial.

Wakisaka et al (2002), utilizando-se da técnica da imunofluorescência para anticorpo anti-VHS, observaram a propagação e os sítios de replicação do VHS no nervo facial. Após a inoculação deste vírus em região retroauricular direita de 120 ratos pela técnica de escarificação, sacrificou-se diariamente seis ratos para análise de seus nervos faciais e gânglios geniculados, pela técnica de microscopia eletrônica. Estes autores concluíram que a paralisia facial, que apareceu no 7º dia após a inoculação em mais de 60% dos animais neste modelo, era causada, principalmente, pela desmielinização das fibras nervosas do nervo facial e que o transporte do vírus seria intra-axonal, não somente nos nervos sensoriais, como também no nervo motor.

Furuta et al, em 2004, avaliaram a presença do VVZ em saliva de 37 pacientes com SRH, pela técnica de PCR. O DNA viral foi encontrado em seis de sete pacientes com lesões de orofaringe (86%) e em 17 de 30 pacientes com lesões apenas na pele (57%). Os autores não encontraram o VVZ em um paciente com uma lesão única e pequena de orofaringe, sugerindo que a menor manifestação de lesões poderia corresponder a uma menor reativação viral e,

portanto, menos vírus em saliva. Os resultados sugeriram que a presença do DNA viral na saliva refletiria a reativação do VVZ em pacientes com SRH.

Schmutzhard et al, em 2004, avaliaram a detecção dos vírus herpes simples tipo 1 (VHS-1), vírus herpes simples tipo 2 (VHS-2) e VVZ em 110 amostras de lesões de pele. Os autores utilizaram três técnicas: PCR tradicional, PCR *real-time* e isolamento viral. Em relação ao VHS-1, 24 amostras (22%) foram positivas por isolamento viral e PCR tradicional e 26 (24%) pelo PCR *real-time*. O VHS-2 foi detectado em 28 amostras (25%) por isolamento viral, 41 (37%) por PCR tradicional e 40 (36%) por PCR *real-time*. O VVZ foi encontrado em 15 amostras (14%) por isolamento viral e 51 amostras (46%) tanto pelo PCR tradicional como pelo PCR *real-time*. Os autores concluíram que o PCR *real-time* seria mais rápido, possuiria menor risco de contaminação e seria adequado no diagnóstico de VHS e VVZ em lesões de pele.

Cruz et al, em 2005, avaliaram 1521 pacientes com PB do ambulatório de Otologia do Hospital São Paulo. Destes, 58,8% (894) eram pacientes do sexo feminino e 41,2% (627) do sexo masculino. A maior incidência da paralisia se deu entre os 11 e 31 anos de idade, sendo menor a incidência nas faixas etárias extremas: de zero a dez anos e maiores de 61 anos. Em relação à evolução, 69% dos pacientes evoluíram para grau I de paralisia pela classificação de House-Brackmann (HB).

Furuta et al, em 2005, avaliaram 30 crianças com PFP, sendo duas delas com SRH. As mesmas foram submetidas a testes sorológicos e PCR em amostras de saliva para pesquisa de VVZ, tendo sido encontrados 11 casos de suposta

reativação viral (37%). Os autores concluíram que a reativação do VVZ seria uma causa importante de PFP em crianças.

Linder et al, em 2005, biopsiaram o músculo orbicular do olho de 13 pacientes com PB, realizando, por meio de PCR, testes para VHS-1, VHS-2 e VVZ. Como controles, foram usados os gânglios geniculados e os gânglios vestibulares de pacientes com doença de Ménière. Observaram 86% de VHS-1 e 43% de VVZ nos gânglios geniculados dos pacientes controle, não tendo sido observada presença de VHS-1, VHS-2 ou VVZ nos gânglios vestibulares ou nas biópsias dos pacientes com paralisia. No mesmo estudo, os autores pesquisaram a presença de VHS-1, VHS-2 e VHH-6 (subtipos A e B), por PCR, em amostras de lágrimas de dez pacientes com PFP aguda e dez controles, tendo encontrado positividade apenas para VHH-6 subtipo A em 40% dos controles e 30% dos pacientes com PFP. Os autores concluíram que o trabalho não explicou a causa da PB e, portanto, seriam necessários estudos que observassem não apenas a presença do DNA, mas também avaliassem a presença da atividade viral.

Camargo, em 2006, avaliou 22 pacientes com surdez súbita idiopática quanto à presença do VHS, em amostras de saliva e lágrima. Estes pacientes receberam tratamento com altas doses de corticóide, mas sem drogas antivirais. A saliva foi coletada no momento da admissão, uma e duas semanas após, para detecção viral pela técnica de PCR. O DNA viral do VHS não foi encontrado em nenhuma amostra. A autora concluiu que os mecanismos patogênicos da surdez súbita permaneciam desconhecidos e que seriam necessários estudos que realizassem a detecção viral diretamente na orelha média - método clinicamente inviável.

Lazarini et al (2006b) estudaram 38 portadores de PB durante a primeira semana de evolução, comparando-os com um grupo controle de dez indivíduos saudáveis. Supondo ser o VHS um dos possíveis agentes etiológicos desta doença, os autores tiveram como objetivo avaliar a prevalência deste vírus na saliva dos pacientes pela técnica de PCR, relacionando-a, inclusive, com a evolução clínica dos casos (grau de paralisia e eletroneurografia). O DNA do VHS foi detectado em 29% dos pacientes com PB e em nenhum caso do grupo controle. Quanto ao acometimento axonal, embora não houvesse diferença estatística entre os resultados da eletroneurografia dos grupos com PCR positivo ou negativo, a evolução clínica mostrou-se pior nos pacientes em que o VHS foi detectado na saliva. Os autores concluíram que a presença do VHS na saliva dos portadores de PB indicaria uma reativação viral e, assim, possível causa da afecção.

Stjernquist-Desatnik et al, em 2006, avaliaram 20 pacientes com PFP idiopática, os quais foram submetidos a uma biópsia do músculo auricular posterior e, em 19 deles, realizou-se coleta de líquido cefalorraquidiano (LCR). Estes materiais foram analisados pela técnica de PCR para VHS-1 e VVZ. Também se realizou coleta de sangue para avaliar a presença de IgG anti-VHS-1 e IgG anti-VVZ em 19 pacientes na fase aguda e em 16 pacientes após três semanas. Os controles foram pacientes operados com otite média crônica. O VHS-1 foi encontrado em uma biópsia e não foi encontrada no LCR. O VVZ foi encontrado na biópsia e no LCR, de um mesmo paciente. Todos os controles foram negativos. Em relação aos títulos de IgG anti-VHS-1 não foram observadas alterações e apenas um paciente apresentou elevação dos títulos de IgG anti-VVZ. Os autores concluíram que, diante da baixa positividade dos resultados, o



uso de pesquisa viral por PCR em biópsia de músculo auricular posterior e LCR não pareceu ser o método de escolha para diagnóstico etiológico da PB.

Hato et al, em 2007, em estudo prospectivo, multicêntrico, randomizado, avaliaram 221 pacientes com PB, excluindo os casos de ZSH (diagnosticados por PCR). Estes pacientes foram tratados com prednisona isolada ou associada ao valaciclovir. O grupo tratado com droga antiviral teve evolução significativamente melhor (96,5%) que o grupo sem medicação antiviral (89,7%). Concluiu-se que o uso da associação da prednisona ao valaciclovir no tratamento da PB, excluindo os casos de ZSH, foi mais eficaz que apenas a prednisona.

Kawaguchi et al, em 2007, observaram 150 pacientes com PB que foram divididos, de forma randomizada, em dois grupos: tratamento com prednisona e tratamento com prednisona associada ao valaciclovir. Pesquisou-se a presença de VHS e VVZ por sorologia e PCR em amostras de saliva. A presença do VHS foi verificada em quatro dos 150 pacientes (4,6%) pela sorologia e em 19 pacientes (12,6%) pelo PCR. O VVZ foi diagnosticado em 11 dos 150 pacientes (7,3%) pela sorologia, em sete (4,6%) pelo PCR e em quatro (2,6%) por ambas as técnicas. Não houve diferença na evolução dos grupos de diferentes tratamentos. Os autores concluíram que a reativação viral (de VHS ou VVZ) ocorreu em 34% dos pacientes com PB e que a terapia combinada de prednisona e valaciclovir não levou a uma melhor recuperação em relação aos pacientes que utilizaram apenas a prednisona.

Sullivan et al, em 2007, realizaram estudo duplo-cego, randomizado, com 496 pacientes com PB, submetidos a quatro tipos de tratamento: prednisona, prednisona associada a aciclovir, aciclovir ou placebo. Após nove meses de

acompanhamento, o grupo com prednisona apresentou taxa de melhora de 94,4% e o grupo sem prednisona, 81,6%. O grupo com aciclovir, 85,4% de melhora e o grupo sem aciclovir, 90,8%. Os pacientes tratados com ambas as drogas apresentaram taxa de melhora de 92,7%. Os autores concluíram que o uso da prednisona aumentou a taxa de melhora dos pacientes com PB e que o uso do aciclovir, sozinho ou em combinação com a prednisona, não trouxe benefícios ao paciente.

Yamakawa et al, em 2007, realizaram pesquisa de VVZ em saliva de pacientes com PFP utilizando dois tipos de PCR: *LightCycler* PCR e *TaqMan* PCR. Em 28 pacientes com SRH, o vírus foi detectado pelo *LightCycler* PCR em um paciente e, pelo *TaqMan* PCR, em sete pacientes. Em 171 pacientes com PB, o vírus não foi detectado em nenhum paciente pelo *LightCycler* PCR e em dois pacientes pelo *TaqMan* PCR. Os resultados mostraram que existiu diferença de sensibilidade para detecção do VVZ entre os dois tipos de exame, sendo que o *LightCycler* foi mais sensível que o *TaqMan*.

Khine et al, em 2008, estudaram a relação entre VHS-1 e PFP em crianças e adolescentes, tendo realizado coleta de sangue para sorologia e coleta de saliva e lágrima para pesquisa do vírus pela técnica de PCR. Os autores observaram que 33 (79%) de 42 pacientes apresentaram sorologia positiva contra 16 (39%) de 41 controles. No estudo de saliva e lágrima, dez (21%) dentre 47 pacientes com PFP apresentaram PCR positivo para o vírus, contra quatro (9%) de 45 controles. O trabalho sugeriu que existiria uma associação do VHS com PFP em crianças.

Lazarini et al, em 2009, acompanharam 18 pacientes com PB, realizando coleta de saliva por três semanas consecutivas para detecção de VHS pela

técnica de PCR. Os autores encontraram cinco pacientes com PCR positivo para o VHS na primeira semana. Na segunda semana, três pacientes mantiveram o resultado positivo e um paciente que apresentara resultado negativo, apresentou resultado positivo na segunda amostra. Na terceira semana, dos quatro pacientes com resultado positivo na segunda semana, dois mantiveram a positividade. Três pacientes que até o momento eram considerados negativos para o VHS, apresentaram PCR positivo apenas na terceira semana. A positividade para o vírus que era de 28% na avaliação inicial, passou a 50% com o seguimento de três semanas. Os autores concluíram que a avaliação seriada dos pacientes com PB mostrou a existência de uma dinâmica viral, fazendo com que o vírus pudesse ser detectado na saliva não apenas na primeira semana de evolução da doença e que, portanto, estudos que avaliassem a eficácia de drogas antivirais deveriam considerar a presença do vírus em diferentes estágios da doença.

Salinas et al, em 2009, realizaram metanálise para avaliar o efeito da terapia com esteroides em pacientes com PB. Os autores incluíram estudos randomizados que comparavam diferentes vias de administração e dosagem de corticosteroides com terapias consideradas não efetivas para o tratamento da PB. Quatro estudos foram incluídos, totalizando 179 pacientes. Treze de 59 pacientes que foram submetidos a tratamento com esteroide (22%) e 15 de 58 pacientes do grupo controle (26%) apresentaram recuperação incompleta da movimentação facial. Os autores concluíram que os estudos disponíveis não evidenciam benefício significativo do tratamento da PB com esteroides, sendo necessários trabalhos com um maior número de indivíduos.

## **2 - OBJETIVOS**

Verificar a frequência dos vírus herpes simples e varicela zoster em saliva de indivíduos com paralisia facial periférica de Bell, pela técnica de PCR.

### **3 - MATERIAL E MÉTODO**

Estudo prospectivo realizado na Santa Casa de Misericórdia de São Paulo, o qual foi submetido e aprovado pelo Comitê de Ética e Pesquisa em seres humanos desta instituição (apêndices 1, 2 e 3).

#### **3.1 - Seleção dos casos clínicos**

Foram avaliados, prospectivamente, 120 pacientes (considerados grupo caso) atendidos no Departamento de Otorrinolaringologia da Santa Casa de Misericórdia de São Paulo e diagnosticados clinicamente como portadores de PB, no período de agosto de 2002 a outubro de 2007, de acordo com os critérios de inclusão e exclusão predeterminados e descritos a seguir:

##### **3.1.1 - Critérios de Inclusão**

- a) PFP aguda;
- b) Início dos sintomas de até uma semana antes da data do primeiro atendimento;
- c) Exame clínico e otorrinolaringológico sem evidências de outros fatores causais para a paralisia;
- d) Sem tratamento com drogas antivirais.

##### **3.1.2 - Critérios de Exclusão**

- a) Início dos sintomas há mais de uma semana do primeiro atendimento;

- b) Uso de drogas antivirais;
- c) Causa conhecida (otite, tumor, gestação, trauma, drogas, doenças neurológicas, entre outras).

### **3.2 - Grupo Controle**

O grupo controle foi composto de 20 adultos sem alterações otológicas, neurológicas ou vigência de infecção aguda. Nestes indivíduos, foram coletadas três amostras de saliva em três semanas consecutivas, de acordo com o método a ser descrito.

### **3.3- Método**

#### **3.3.1 - Acompanhamento médico**

No primeiro atendimento, os pacientes foram submetidos a anamnese e exame físico geral e otorrinolaringológico (anexo 1). Todos eles foram encaminhados para retornos semanais para os procedimentos do estudo e para avaliação da evolução do quadro de paralisia, até que apresentassem melhora satisfatória. O grau de PFP foi mensurado de acordo com a classificação de House-Brackmann (House, Brackmann, 1985; Lazarini et al, 2006a) - apêndices 4 e 5.

#### **3.3.2 - Coleta de material**

A saliva foi coletada de região do soalho da boca do paciente utilizando-se uma seringa descartável de 5 ml, estéril e sem agulha. O fluido salivar foi

armazenado em recipiente adequado para realização de PCR (Ependorf). A coleta foi realizada no momento da admissão e nos retornos - uma e duas semanas após.

### **3.3.3 - Exame laboratorial**

Foram realizados testes para detecção do DNA viral do VHS e VVZ pela técnica de PCR tradicional, com a utilização de *primers* específicos previamente descritos, para estes vírus (anexos 4 e 5).

Os testes foram realizados no Departamento de Biologia Molecular da Faculdade de Ciências Médicas da Santa Casa de São Paulo, por equipe especializada. A mesma equipe acompanhou o estudo, durante todo o período de realização.

O protocolo utilizado para extração de DNA corresponde ao anexo 2. As fórmulas dos tampões empregados estão no anexo 3. Os *primers* e o programa de ciclos estão nos anexos 4 (VHS) e 5 (VVZ).

### **3.4 - Análise estatística**

Os resultados obtidos tanto sob os aspectos clínicos como laboratoriais foram submetidos à análise estatística, com auxílio dos softwares Epi Info e SPSS 9.0 para Windows, supervisionada por um profissional.

Na análise descritiva, as variáveis qualitativas foram apresentadas em termos de frequências absolutas e relativas. Para as variáveis quantitativas foram calculadas medidas resumo.

Para testar a associação entre as variáveis qualitativas, utilizamos os testes de qui-quadrado de Pearson ou exato de Fisher. Para comparar as variáveis quantitativas utilizamos os testes t de Student ou de Mann-Whitney.

Realizou-se análise comparativa dos casos que apresentaram PCR positivo com os casos que apresentaram PCR negativo, com o objetivo de observar se existiam características que diferenciavam estes dois grupos. Com este fim, foram comparados os casos que apresentaram algum resultado positivo para o VHS com os pacientes que apresentaram resultado negativo nas três semanas de observação. Desta forma não foram incluídos no grupo com resultado de PCR negativo aqueles indivíduos que perderam acompanhamento e que, portanto, não se pode afirmar que seriam realmente negativos em todas as amostras.

Na análise da evolução dos pacientes, ou seja, para avaliar a variação do grau da paralisia durante as semanas de seguimento, utilizou-se o modelo ANOVA com medidas repetidas.

O nível de significância adotado foi de 0,05.

### **3.5- Levantamento bibliográfico**

O levantamento bibliográfico foi realizado através dos *sites*: [www.bireme.br](http://www.bireme.br), que permite acesso a LILACS, MEDLINE, Biblioteca Cochrane e Scielo; [www.pubmed.com](http://www.pubmed.com) ou [www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed); [www.google.com](http://www.google.com) e <http://scholar.google.com.br>.

As palavras utilizadas para acesso aos artigos foram: herpes, zoster, varicela / varicella, paralisia facial / “facial palsy”, reação em cadeia de polimerase



/ PCR / “polymerase chain reaction”, diagnóstico / “diagnosis”, tratamiento / “treatment”.

## 4 – RESULTADOS

### 4.1 – Análise descritiva do grupo caso

Foram avaliados 171 pacientes que apresentaram o diagnóstico de PFP, no período de agosto de 2002 a outubro de 2007. Destes pacientes, 120 adequaram-se aos critérios de inclusão e exclusão predeterminados.

Dentre os pacientes excluídos, oito apresentaram paralisia facial acompanhada de lesões vesiculares em pele, sugestiva de SRH e receberam tratamento incluindo medicação antiviral. Um paciente apresentava otite média aguda que foi identificada como causa da PFP e tratada com antibioticoterapia. Doze pacientes tinham história, na primeira consulta, de mais de uma semana de evolução da paralisia, sendo excluídos pelos critérios do trabalho. Dois pacientes foram excluídos do estudo por extravio de material coletado ou por suspeita de contaminação do mesmo. Cinco pacientes eram gestantes. Nove pacientes não aceitaram o termo de consentimento livre e esclarecido por dificuldade de retornar para as outras consultas programadas. Os demais foram excluídos por armazenamento da saliva em temperaturas inadequadas.

Dos 120 pacientes estudados, 64 (53,3%) eram do sexo feminino e 56 (46,7%), do sexo masculino. A idade variou de três a 80 anos, com uma média de 37,55 ( $\pm 17,36$ ) anos. A figura 1 apresenta a distribuição dos indivíduos por idade.

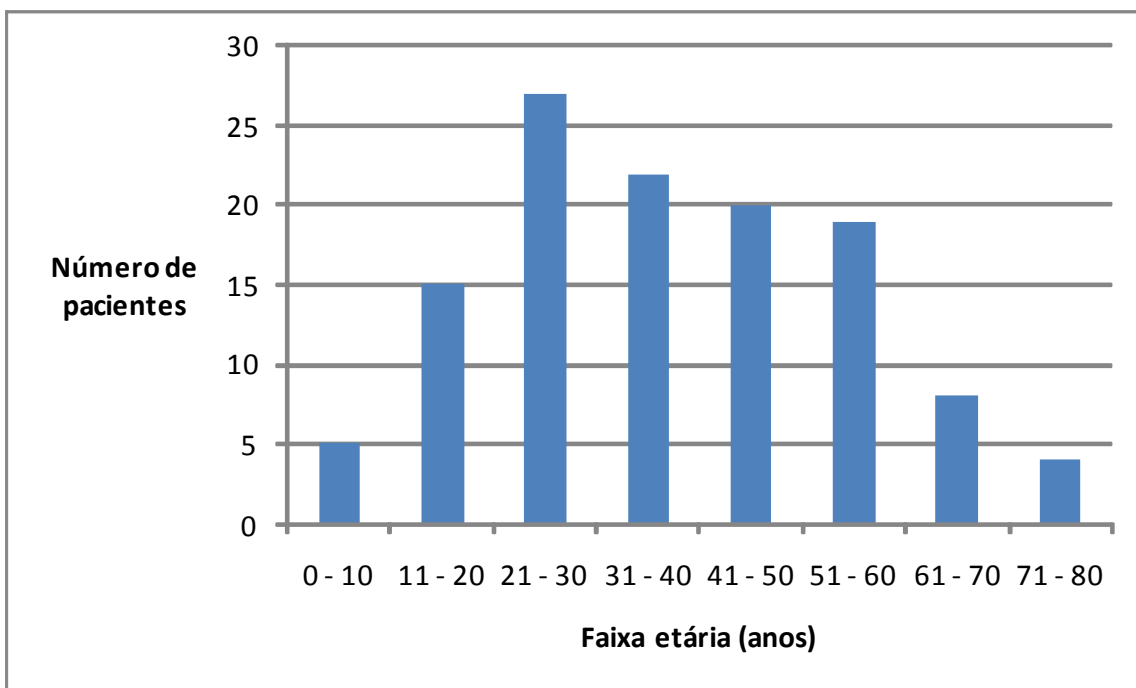
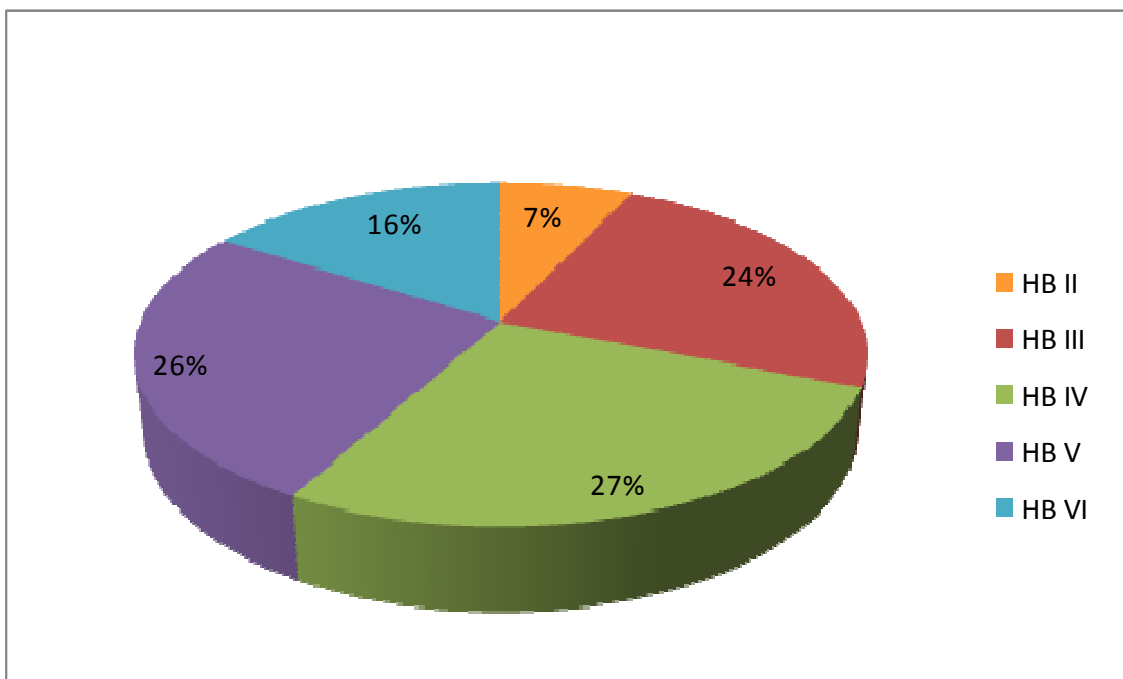


Figura 1: Distribuição por faixa etária de 120 pacientes com paralisia de Bell.

Um paciente (0,8%) apresentou paralisia bilateral. Dos demais, 51 indivíduos (42,5%) apresentaram PFP à direita e 68 (56,7%), à esquerda. O tempo decorrido do início da paralisia até o momento da admissão teve uma média de 2,2 dias e moda de um dia.

O grau de paralisia na primeira consulta, de acordo com a classificação de House-Brackmann (1985), utilizando-se o esquema de figuras por Lazarini et al (2006a) pode ser verificado na figura 2.



**Figura 2: Grau de paralisia de 120 pacientes com paralisia de Bell na primeira consulta, de acordo com a classificação de House-Brackmann.  
HB = House-Brackmann**

Todos os 120 pacientes estudados foram submetidos à coleta de saliva na primeira consulta. Setenta e quatro retornaram após uma semana para acompanhamento e nova coleta de material e 51 retornaram em uma terceira consulta (terceira semana de evolução da doença). O número total de amostras foi de 245.

Estas amostras foram analisadas para pesquisa do DNA viral pela técnica de PCR. Em relação ao VHS foram encontrados, conforme demonstrado na figura 3, dezessete casos positivos na primeira semana de coleta, seis novos casos na segunda semana e quatro pacientes que mantiveram positividade. Na terceira semana, quatro pacientes que até então eram considerados negativos para presença do VHS tiveram exame positivo e dois pacientes mantiveram a positividade já verificada anteriormente.

Ao final das três semanas de observação, o DNA do VHS foi encontrado em 33 amostras, totalizando 27 pacientes (22,5%, com intervalo de confiança de prevalência variando de 15,4% a 31,0%) com positividade para este vírus.

O VVZ também foi pesquisado pela técnica de PCR, sendo encontrados dois pacientes com positividade na primeira semana e um paciente que manteve esta positividade na segunda semana. Na terceira semana não foi detectado DNA viral de VVZ em nenhum paciente.

Ao final das três semanas de observação, o DNA do VVZ foi encontrado em três amostras, totalizando dois pacientes (1,7%, com intervalo de confiança de prevalência variando de 0,2% a 5,9%) com positividade para o VVZ (figura 3).

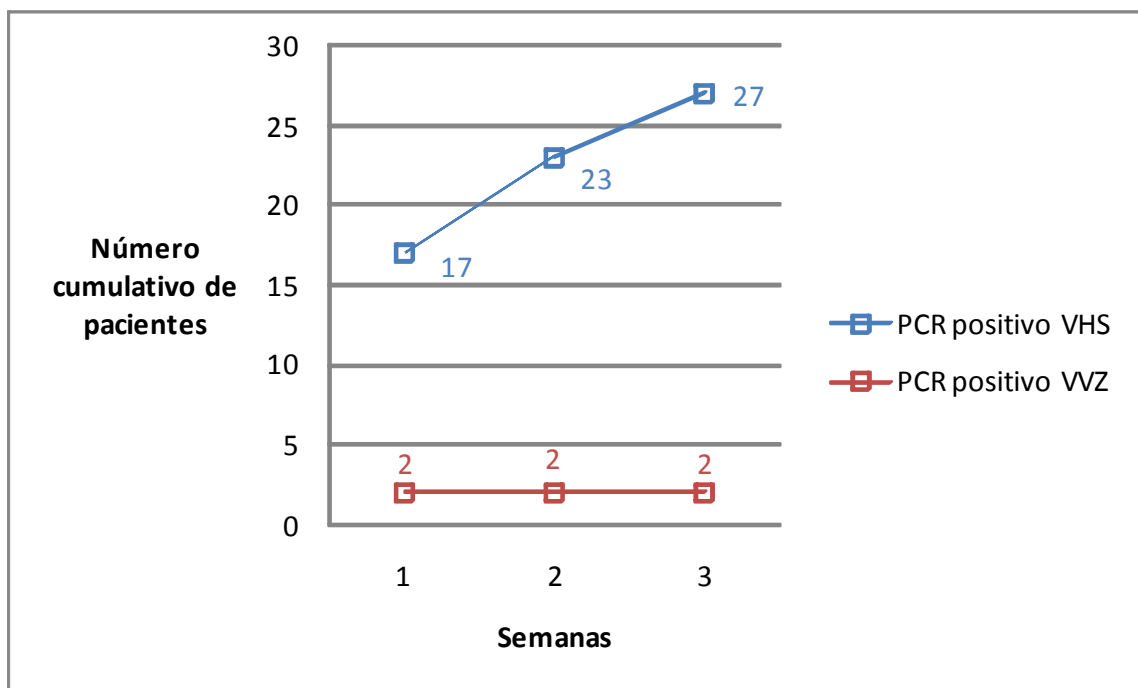


Figura 3: Número cumulativo de indivíduos com presença de DNA viral de vírus herpes simples e vírus varicela zoster em amostras de saliva coletadas de 120 pacientes com paralisia de Bell.

PCR = reação de polimerase em cadeia

VHS = vírus herpes simples

VVZ = vírus varicela zoster

## 4.2 – Análise descritiva do grupo controle

O grupo controle foi composto de 20 adultos sem alterações otológicas ou vigência de infecção aguda, sendo 12 (60%) do sexo masculino e oito (40%) do sexo feminino. A idade variou de 23 a 59 anos com média de 35,55 ( $\pm 11,28$ ) anos.

Todos os controles foram submetidos à coleta de saliva por três semanas consecutivas, totalizando 60 amostras. Não foi encontrado DNA de VHS ou VVZ em nenhuma amostra do grupo controle.

## 4.3 – Análise comparativa dos grupos caso e controle

As médias das idades dos dois grupos foi analisada pelo teste Mann-Whitney, que apresentou resultado de  $p = 0,749$  e, portanto, não rejeita a hipótese de igualdade entre as amostras, ou seja, os grupos caso e controle são similares.

A distribuição do sexo nos dois grupos é homogênea pelo teste qui-quadrado ( $p = 0,269$ ). Novamente a hipótese de igualdade entre as amostras não é rejeitada, tornando o grupo controle similar ao grupo caso.

Na tabela 1 observa-se as características do grupo controle e do grupo de pacientes portadores de PB.

**Tabela 1: Caracterização do grupo controle e do grupo de pacientes portadores de paralisia de Bell, de acordo com idade e sexo.**

	idade média	sexo	
	(anos)	M	F
PB	37,55	46,7%	53,3%
controles	35,55	60,0%	40,0%
	$p = 0,749$		$p = 0,269$

**PB = Paralisia de Bell**

**M = sexo masculino**

**F = sexo feminino**

#### 4.4 – Análise comparativa dos resultados do teste de PCR nos grupos caso e controle

Em relação ao VHS, 27 de 120 pacientes com PB foram positivos (22,5%, com intervalo de confiança variando de 15,4% a 31,0%). No grupo controle, todas as amostras de saliva foram negativas. Esta diferença é estatisticamente significativa, como demonstrado pelo teste exato de Fisher ( $p = 0,009$ ). A tabela 2 mostra estes resultados.

**Tabela 2: Resultados da pesquisa de DNA viral de VHS, pela técnica de PCR, em saliva de 120 pacientes com paralisia de Bell e 20 casos controle.**

	VHS		Total
	PCR positivo	PCR negativo	
PB	27	93	120
controles	0	20	20
Total	27	113	140

$p = 0,009$

**PB = Paralisia de Bell VHS = vírus herpes simples PCR = reação de polimerase em cadeia**

Em relação ao VVZ, dois dos 120 pacientes com PB apresentaram exame positivo para o DNA viral (1,7%, com intervalo de confiança variando de 0,2% a 5,9%). Os controles foram todos negativos. Esta diferença quanto à positividade do PCR entre os grupos caso e controle, embora presente, não foi estatisticamente significativa, como demonstrado pelo teste exato de Fisher com  $p = 0,734$  (Tabela 3).

**Tabela 3: Resultados da pesquisa de DNA viral de VVZ, pela técnica de PCR, em saliva de 120 pacientes com paralisia de Bell e 20 casos controle.**

	VVZ		Total
	PCR positivo	PCR negativo	
PB	2	118	120
controles	0	20	20
Total	2	138	140

**p = 0,734**

**PB = Paralisia de Bell VVZ = vírus varicela zoster PCR = reação de polimerase em cadeia**

#### **4.5 – Análise Comparativa entre casos PCR positivo e negativo para VHS.**

##### **4.5.1 – Idade**

Em relação à idade, a média no grupo de pacientes com PB, com PCR positivo para VHS foi de 36,48 ( $\pm 18,87$ ) anos e a média do grupo com PCR negativo para VHS, foi de 40,97 ( $\pm 16,02$ ) anos. A análise comparativa pelo teste t de Student mostrou  $p = 0,315$ , mostrando que não há diferença estatisticamente significativa entre os dois grupos (Tabela 4).

##### **4.5.2 – Sexo**

O grupo de pacientes que apresentaram PCR positivo para VHS era composto por 13 mulheres (48,1%) e 14 homens (51,9%). O grupo com PCR negativo era constituído de 16 mulheres (45,7%) e 19 (54,3%) homens.

A distribuição por sexo não apresentou diferença estatisticamente significativa (Teste qui-quadrado com  $p = 0,849$ ). Os resultados estão apresentados na tabela 4.



**Tabela 4: Caracterização dos pacientes com paralisia de Bell que apresentaram pesquisa do vírus herpes simples (VHS) positiva e negativa, de acordo com idade e sexo.**

		idade média	sexo	
		(anos)	M	F
PCR VHS	positivo	36,48	51,9%	48,1%
	negativo	40,97	54,3%	45,7%
		<b>p = 0,315</b>	<b>p = 0,849</b>	
VHS = Vírus Herpes Simples		PCR = reação de polimerase em cadeia		
M = sexo masculino		F = sexo feminino		

#### 4.5.3 – Lado da paralisia

O lado afetado também não apresentou diferença estatisticamente significativa entre os grupos. Teste do Qui-quadrado com  $p = 0,469$ . No grupo que apresentou PCR positivo, 64,7% dos casos apresentava acometimento do lado esquerdo e, no grupo que apresentou PCR negativo, 60,9%. No grupo com PCR positivo, um indivíduo apresentou paralisia facial bilateral.

#### 4.5.4 – Grau de paralisia no momento da admissão

Em relação ao grau de paralisia encontrado na primeira semana, ou seja, no momento da admissão, os pacientes com PCR positivos e negativos para VHS distribuíram-se conforme exposto na figura 4. Observa-se uma tendência dos pacientes com PCR positivo a apresentarem um maior grau de paralisia, porém a avaliação estatística não mostrou diferença significativa ( $p = 0,381$ ).

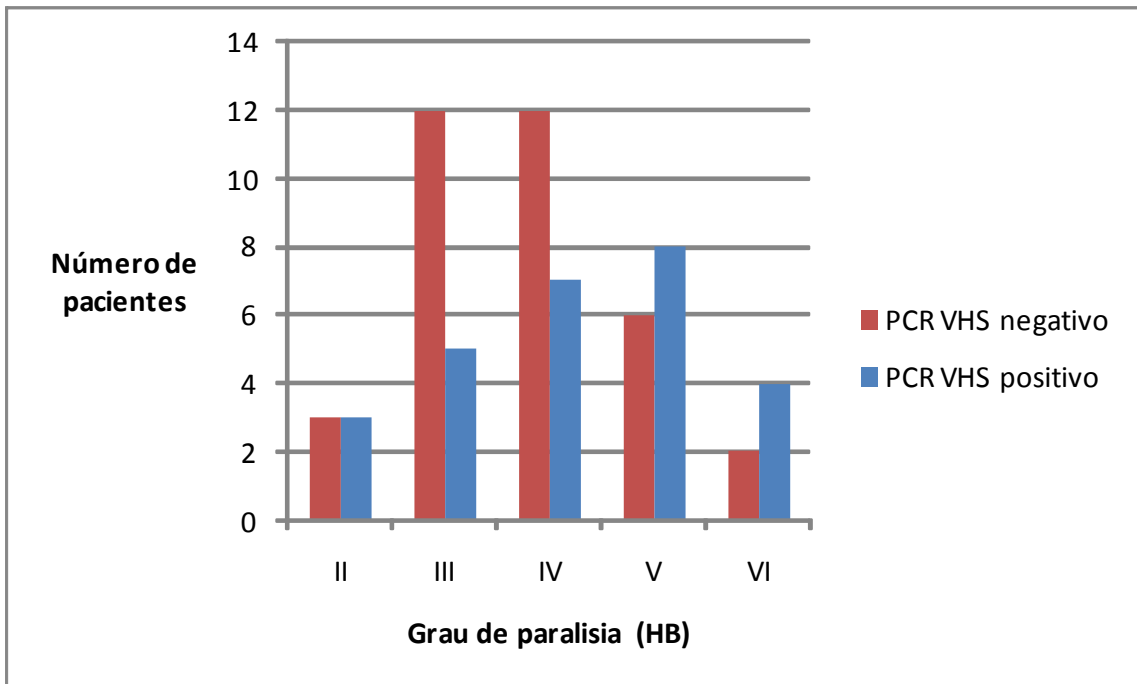


Figura 4: Comparação do grau de paralisia encontrado na primeira semana entre os grupos com PCR positivo e negativo para vírus herpes simples.

HB = House-Brackmann

PCR = reação de polimerase em cadeia

#### 4.5.7 – Evolução

Observou-se que, tanto no grupo com PCR positivo, como no grupo PCR negativo, houve melhora do grau de paralisia facial, estimada pela classificação de HB, ao longo do tempo de seguimento ( $p < 0,001$ ). Além disso, a intensidade da melhora foi semelhante entre os grupos (modelo ANOVA com medidas repetidas,  $p = 0,454$ ). Esta tendência de melhora é representada na figura 5.

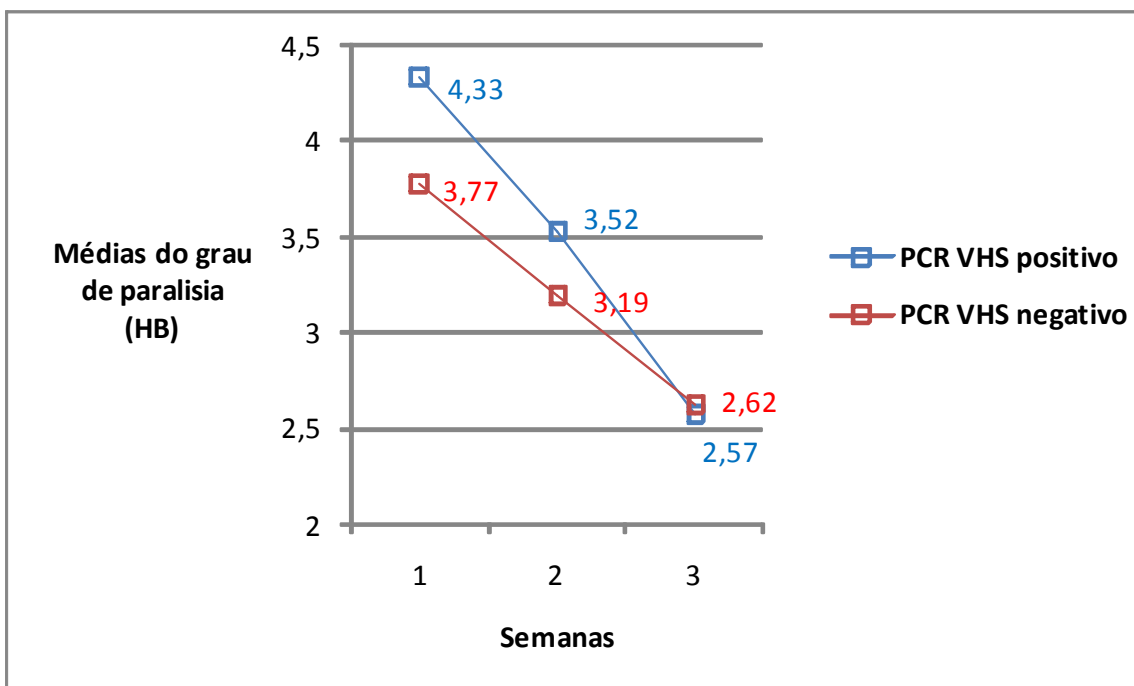


Figura 5: Comparação das médias dos valores obtidos, pela classificação de House-Brackmann, para o grau de paralisia, de acordo com a evolução temporal da paralisia facial, entre os grupos com PCR positivo e negativo para vírus herpes simples.  
 HB = House-Brackmann      PCR = reação de polimerase em cadeia  
 VHS = Vírus herpes simples

#### 4.6 – Descrição dos casos com PCR positivo para VVZ

Como encontrou-se apenas dois casos de pacientes com positividade para o VVZ no PCR de saliva, a análise estatística comparativa dos grupos positivo e negativo para o vírus fica muito prejudicada.

Optou-se por descrever os casos positivos para VVZ:

- 1) Paciente do sexo masculino, 62 anos, com PFP à esquerda há um dia da admissão. O grau de paralisia nesta consulta era HB VI. Nesta primeira avaliação, foi coletada saliva dos pacientes na qual foi detectado o VVZ. O paciente não retornou mais a nosso serviço para as demais consultas.

- 2) Paciente do sexo masculino, 62 anos, com PFP à direita há 12 horas da admissão. O grau de paralisia na primeira consulta era HB IV. Foi coletada saliva do paciente nesta primeira consulta na qual foi detectado o VVZ. O paciente retornou em uma segunda consulta, após uma semana de evolução, na qual foi coletada novamente a saliva. Esta segunda amostra também apresentou DNA viral de VVZ. O paciente não retornou para a terceira consulta após mais uma semana. Após quatro semanas o paciente retornou sendo observado grau de paralisia de HB III.

## 5 - DISCUSSÃO

Em 12 de julho de 1821, quando Charles Bell tornou públicos seus estudos e teorias sobre a PFP, ainda não se discutia os fatores causais da doença. Ao nervo facial era atribuído o nome de “nervo respiratório da face”, o que demonstra o conhecimento embrionário da época.

O advento de técnicas de detecção viral, somado à observação dos casos da, atualmente chamada, SRH, iniciou uma nova era no estudo da PFP. Diversos autores embrenharam-se em estudos clínicos e experimentais que elucidassem a causa e a fisiopatogenia das paralisias faciais idiopáticas, ou PB.

Após a pesquisa bibliográfica sobre o tema aqui apresentado, acredita-se que este seja, provavelmente, dos primeiros trabalhos prospectivos do Ocidente a estudar a relação entre VHS e VVZ em saliva e a PB, empregando a técnica de PCR.

### 5.1 – Sobre os dados epidemiológicos da amostra

O predomínio do sexo feminino encontrado nos pacientes acometidos pela PB no presente estudo concorda com a observação de Gonçalves-Coelho et al (1997) e Valença et al (2001), que encontraram 66,7% e 70,7% de mulheres, respectivamente. Os autores, entretanto, apresentaram a prevalência de PFP como um todo, não excluindo os casos de paralisia com causa conhecida.

Cruz et al (2005) descrevem apenas pacientes com PB e, da mesma forma, encontram predomínio do sexo feminino (58,8%), concordando com o presente trabalho, onde os valores foram de 53,3% de indivíduos do sexo feminino e 46,7% do sexo masculino.

Em grande estudo prospectivo, Peitersen, em 2002, acompanhou 1701 pacientes com PB e encontrou predomínio de indivíduos do sexo feminino (51,9%), igualmente aos outros autores citados.

A idade encontrada nos pacientes acometidos pela PB, neste estudo, é semelhante às descritas por Gonçalves-Coelho et al (1997), Valença et al (2001) e Stjernquist-Desatnik et al (2006), sendo que, a faixa de pacientes dos 21 aos 40 anos também foi a mais prevalente nas pesquisas destes autores. Este fato também foi observado por Cruz et al, em 2005, cujo trabalho enfatiza a menor incidência nas faixas etárias extremas.

Peitersen (2002) igualmente descreve uma maior incidência entre 15 e 45 anos e incidência significativamente menor abaixo de 15 e acima de 60 anos.

Khine et al (2008) pesquisaram a presença de VHS em crianças, utilizando como amostras a lágrima e a saliva. O resultado de 21% de positividade com o uso do PCR mostra que mesmo na infância, a reativação viral pode ocorrer. No presente estudo, observaram-se cinco casos positivos para VHS entre 20 indivíduos na faixa etária de zero a vinte anos.

A idade média nos grupos com PCR positivo para VHS e VVZ foi muito discrepante da encontrada por Furuta et al (2000b), que descrevem a presença do VHS principalmente em pacientes com mais de 55 anos e, do VVZ, em menores de 24 anos.

Outro achado discrepante é descrito por Furuta et al, em 2005, ao avaliarem a presença de VVZ em saliva de crianças, tendo encontrado 37% de positividade. Neste trabalho, nenhuma criança apresentou PCR positivo para VVZ.

Estes dados corroboram a idéia de que as diferenças populacionais, geográficas e culturais possam levar a distintas manifestações epidemiológicas da PB, sendo necessária a realização de estudos regionais.

## **5.2 – Sobre o método**

### **5.2.1 – Sobre a amostra e técnica de coleta**

O presente estudo pesquisou a presença do DNA viral em saliva de indivíduos com PB. A coleta de saliva foi considerada indolor pelos pacientes e não se observou qualquer alteração clínica em decorrência deste procedimento.

Estudos como o de Murakami et al (1996b) apresentaram uma positividade muito superior de VHS em músculo auricular posterior e fluido endoneural, porém a coleta das amostras implicou na realização dos exames apenas nos casos indicados para procedimento cirúrgico. Este método talvez não se aplique à prática clínica, onde na maioria dos pacientes com PB a cirurgia não é indicada.

Stjernquist-Desatnik et al (2006), na Suécia, também verificaram a presença do VHS em músculo auricular posterior, porém apresentaram apenas um caso positivo. Neste caso, a coleta do material deu-se em até 72 horas da instalação do quadro de paralisia, enquanto no trabalho de Murakami et al (1996b), as amostras foram coletadas após 12 a 87 dias. Pode-se supor que no quadro agudo os vírus ainda estejam mais restritos ao nervo, não sendo encontrados na musculatura adjacente. Este fato, somado ao pouco conhecimento acerca do trânsito viral do gânglio sensitivo até o nervo e, inclusive, até a saliva, pode justificar não ter havido uma maior positividade viral na amostra estudada.

Os autores suecos também pesquisaram a presença do VHS no LCR, encontrando apenas resultados negativos. Os próprios pesquisadores discutem que o LCR poderia não ser um bom material para amostra, pois o vírus estaria restrito ao nervo em função do processo de reativação. Os autores não entram no mérito, também importante, de quão invasiva é a técnica de coleta do LCR.

Outro tipo de amostra que não pareceu adequada à pesquisa do VHS foi a biópsia do músculo orbicular do olho, utilizada por Linder et al (2005). Segundo os autores, os ramos do nervo facial relacionados à inervação desta região são diferentes dos relacionados à musculatura auricular posterior, o que impede uma comparação dos resultados.

Abiko et al (2002) realizaram PCR para detecção de DNA de VHS em secreção salivar de parótida, glândula submandibular e lacrimal. Na parótida encontrou-se a maior positividade e, na submandibular, a positividade foi a menor. No presente trabalho, não direcionamos a coleta para nenhum dos orifícios de drenagem salivar, uma vez que o objetivo era verificar a presença viral na secreção, independente da glândula responsável por sua excreção.

A amostra utilizada e a técnica empregada para coleta de saliva já haviam sido descritas em Lazarini et al (2006b), mostrando ser não invasiva e apresentar-se de fácil e rápida realização.

### **5.2.2 – Sobre o PCR**

Antes da consagração do PCR na Virologia, alguns autores utilizaram-se de outras técnicas para detecção viral (Shigueta et al, 1986; Tomita et al, 1988;



Ohtani et al, 2000). Os trabalhos criticavam as técnicas existentes e procuravam um método mais rápido e mais acurado.

No trabalho de Tomita et al (1988) discute-se que o teste sorológico por ELISA seria melhor e mais rápido que o teste de fixação do complemento. Em 2000, Ohtani et al sugerem uma modificação da técnica de Western-blot, criando um novo método para detecção de uma afecção viral, sob o pretexto de que o teste sorológico é demorado e exige, muitas vezes, mais de uma coleta sanguínea. Shigueta et al, em 1986, já haviam exposto a mesma opinião em relação aos testes sorológicos.

O trabalho de Morgan et al (1995) é um retrato destas críticas. Os autores, que realizaram teste de fixação do complemento, ELISA e imunofluorescência, precisaram de duas amostras de sangue com diferença de 14 dias em média entre elas. Além do tempo, outra dificuldade dos autores foi diferenciar quadros agudos de reativação viral e lidar com possíveis reações cruzadas do ELISA.

O PCR, quando descrito em 1991 para detecção de VVZ (Dlugosch et al, 1991), parecia satisfazer todas as críticas já recebidas pelos testes que o precederam. Os autores apresentaram o PCR como uma técnica fácil de ser realizada, com capacidade de um diagnóstico rápido e com maior taxa de positividade.

Burgess et al (1994) fez uso do PCR em seu trabalho, descrevendo a técnica como um poderoso método de análise de DNA e que, dentro da prática médica, viria a revolucionar a biologia molecular.

Quando comparado às técnicas que o precederam, o PCR apresenta cerca de duas vezes mais sensibilidade (Tateishi et al, 1994) e proporciona resultados mais rápidos e mais fidedignos (Schmutzhard et al, 2004).

Já é descrita a diferença de sensibilidade entre métodos tradicionais de PCR e a técnica de PCR *real-time* (Schmutzhard et al, 2004) e, até mesmo, diferenças entre alguns tipos de PCR *real-time* (Yamakawa et al, 2007). Diante desta constatação, torna-se discutível a comparação entre trabalhos que utilizem técnicas diferentes de detecção viral.

O PCR pode, pelo que foi discutido, ser considerado o melhor exame para detecção viral e, portanto, foi escolhido como meio de investigação na presente avaliação.

### **5.2.3 – Sobre o tratamento com drogas antivirais**

A existência de estudos que sugerem que os vírus seriam a causa da PB levou muitos autores a questionar o uso dos medicamentos antivirais como opção no tratamento da PFP.

Aburto et al, em 1990, defendem o uso do aciclovir para pacientes com SRH. Com esta mesma idéia de tratamento, Furuta et al (2001a) realizaram o teste de PCR em pacientes com PFP e, sempre que o exame era positivo para os vírus herpes, era introduzido o uso de drogas antivirais. Os autores não observaram diferença no grau de melhora do grupo tratado em relação ao controle. Apesar do resultado, não se pode dizer que o antiviral não teve efeito terapêutico. Talvez, se não tratados, os pacientes com PFP de causa conhecida viral apresentassem pior evolução.

Antunes et al, em 2000, dividiram os pacientes em três grupos de tratamento: placebo, deflazacort e valaciclovir mais deflazacort. Kawaguchi et al, em 2007, dividiram os pacientes em grupos com e sem tratamento com valaciclovir. Ambos os trabalhos, concordando com o estudo de Furuta et al (2001a), não apresentaram diferença na taxa de melhora.

Dois estudos prospectivos e randomizados foram realizados em 2007. Hato et al avaliaram a eficácia do valaciclovir em pacientes com PB, excluindo os casos de ZSH e obtiveram boa resposta com a droga antiviral. Sullivan et al avaliaram o aciclovir e sua associação com a prednisona em pacientes com PB e concluíram que o corticoide tem efeito benéfico, porém, a droga antiviral não traz benefício sozinha ou associada.

Avaliando estes dois estudos, questiona-se se a exclusão dos casos de ZSH poderia ter levado a um melhor resultado no tratamento. Seria o antiviral, na dose administrada, mais adequado ao tratamento do VHS e não do VVZ?

Neste estudo, optou-se por não administrar drogas antivirais aos pacientes. Além do fato de não haver comprovação científica de eficácia terapêutica destas drogas, a ausência das medicações antivirais nos proporciona resultados do PCR mais fidedignos e que permitem precisar a frequência dos vírus herpes evitando resultados falsos negativos. A análise destes resultados será importante para que se adote um modelo de tratamento adequado à nossa população.

### **5.3 – Sobre o mecanismo de etiopatogenia viral**

McCormick (1972) foi o pioneiro a descrever a hipótese da reativação viral como causa da PB. Muitos aspectos da teoria ainda eram duvidosos, como a real localização dos vírus no momento de latência.

Adour et al (1975) corroboraram com a teoria e sugeriram que os vírus estariam latentes nos gânglios sensitivos. Schulz et al, em 1998, detectaram e confirmaram a presença de DNA viral nos gânglios sensitivos, pela técnica do PCR.

Segundo a teoria da reativação, os vírus reativados voltariam ao nervo facial. Wakisaka et al, em 2002, conseguiram, utilizando imunofluorescência, mapear a propagação e os sítios de replicação viral, confirmando as teorias precedentes e ratificando a importância da desmielinização das fibras nervosas no processo da paralisia.

Lazarini et al (2006b) sugerem que o vírus, uma vez reativado no nervo facial, apresentaria um trajeto pelo nervo corda do tímpano e chegaria às glândulas salivares podendo ser identificado na saliva de indivíduos com PB.

Abiko et al (2002) verificou esta presença viral nas secreções salivares, coletando-as diretamente do ducto de drenagem das glândulas salivares.

Furuta et al (2001b) observaram a carga viral na saliva de pacientes com SRH, verificando que o pico no número de VVZ se dava no momento de aparecimento das lesões. Da mesma forma, Furuta et al (2004) observaram que a presença do DNA viral na saliva refletia a reativação do VVZ em pacientes com PB.

A escolha da metodologia do trabalho, que utilizou a saliva como amostra e a técnica de PCR para detecção viral, baseou-se na fisiopatogênese viral descrita, buscando o diagnóstico da reativação viral e evitando falsos positivos e negativos.

## **5.4 – Sobre o diagnóstico viral**

### **5.4.1 – VHS**

O VHS foi encontrado em 22,5% das amostras salivares dos pacientes com PB. Este valor é estatisticamente significativo, sugerindo que o vírus está envolvido no processo de patogênese da PB.

Quando Adour et al, em 1975, verificaram a presença de anticorpos anti-VHS sanguíneos em 100% dos pacientes com PB, a hipótese do vírus ser causador da PFP não era ainda confirmada. Isto porque nos casos controles, a sorologia também apresentava alta incidência de títulos positivos de infecção viral prévia (85%), diferentemente do que encontramos neste estudo, onde todas as amostras provenientes de pacientes do grupo controle apresentaram resultado negativo.

Em relação ao VHS, Morgan et al (1995), apresentaram resultados conflitantes. Os resultados mostraram que significativamente mais pacientes que controles apresentaram anticorpos IgM para VHS no teste de ELISA; porém, no teste de fixação do complemento, não houve diferença estatística. A escolha do método de PCR, neste trabalho buscou um teste seguro e consagrado, que evitasse dúvidas na interpretação dos resultados.

Com o uso do PCR, Burgess et al (1994) relataram um caso único de detecção de DNA de VHS em gânglio geniculado de paciente com PB. Apesar da

amostra única, o estudo tem grande importância como incentivador de outras pesquisas que utilizariam a mesma técnica de detecção viral em outros tipos de amostra.

É o caso do trabalho de Murakami et al (1996b), que encontrou 79% de positividade do VHS em músculo auricular posterior e fluido endoneural do nervo facial. No presente estudo foi encontrada uma menor frequência de VHS, porém, a amostra utilizada foi a saliva. Abiko et al (2002) , que utilizaram amostras de saliva e lágrima, também encontraram uma menor incidência do VHS (31%). A positividade do VHS na amostra salivar depende do trânsito do vírus do gânglio até a boca, enquanto a positividade no próprio nervo ou no fluido endoneural não dependeria deste deslocamento viral.

Furuta et al, em 1998, avaliaram apenas os pacientes com PB que apresentavam IgG anti-VHS pela sorologia. A pesquisa de VHS, por PCR, na saliva, mostrou 42% de positividade nos pacientes com PB; 25% nos pacientes com SRH e 19% nos controles. A positividade no grupo com SRH sugere duas hipóteses: o mesmo fator que levou ao quadro da SRH levou também à reativação do VHS ou o quadro da SRH levou à reativação do VHS. No presente trabalho, os pacientes com PCR positivo para VHS apresentaram resultado negativo pra VVZ e os pacientes com PCR positivo para VVZ, foram negativos para VHS. A preocupação, nesta pesquisa, de excluir pacientes com qualquer manifestação viral, tanto do VHS como do VVZ, pode ter ocasionado esta positividade mais específica para cada um dos agentes estudados.

O trabalho japonês encontrou uma maior positividade para VHS se comparada a este estudo, porém, avaliaram apenas indivíduos com sorologia

positiva para o vírus. Além disto, Furuta et al (1998) não excluíram pacientes com lesão oral herpética.

Esta diferença também pode ter ocorrido pelas características populacionais díspares, o que inclui tanto uma possível predisposição biológica ou racial, como a relação do meio em questão. Estas diferenças podem ter influenciado inclusive a alta positividade para o VHS dentre os controles. Outra hipótese seria a de que é aceitável um certo número de indivíduos sadios com presença de DNA de VHS na saliva. Se esta última hipótese for correta, precisaríamos acreditar que, dentre os pacientes com PB positivos para VHS, existem também os indivíduos que manifestam a presença viral, sem que o mesmo esteja relacionado ao quadro da PFP.

A frequência de VHS encontrada foi próxima do que foi descrito por Furuta et al (2000b), porém ainda inferior. Estes autores coletaram, em cada consulta, quatro a dez amostras de saliva de cada indivíduo, não especificando qual a metodologia usada nesta coleta aleatória. Talvez o fato da amostra, na pesquisa atual, ser única, possa ter levado a esta frequência menor.

Se forem avaliados apenas os pacientes que obtiveram resultado positivo para VHS na primeira amostra, ou seja, na data de admissão, haveria 17 pacientes (14,1%). Este achado seria compatível com o trabalho de Furuta et al (2001a), que relatam 18% de positividade nos pacientes testados na admissão.

Os autores (Furuta et al, 2001a) realizaram um segundo teste de PCR, não mencionando quando o mesmo foi realizado. Dentre os pacientes que fizeram uso de aciclovir, nenhum paciente apresentou resultado positivo neste segundo PCR. Por outro lado, dentre os pacientes que não utilizaram drogas antivirais, 15

pacientes apresentaram resultado positivo. Este achado avigora a opção, na metodologia, de não incluir indivíduos que haviam feito uso de medicamentos antivirais, para que se pudesse verificar a frequência de positividade sem influências externas.

Outra opção da metodologia, a coleta seriada de saliva, modificou o estudo de Lazarini et al (2006b), o qual foi realizado com coleta de saliva apenas na primeira semana. O atual estudo optou por realizar esta coleta por três semanas, baseado na observação de trabalhos (Furuta et al, 2001a; Furuta et al, 2001b; Abiko, 2002) que mostram que após os primeiros sete dias de evolução da PFP ainda pode-se encontrar DNA viral em amostras de saliva. Ainda são necessários estudos que avaliem o tempo exato da propagação viral no nervo facial. O fato de acompanhar os pacientes por três semanas permitiu o diagnóstico de um número maior de indivíduos.

No presente trabalho acompanhou-se um número maior de indivíduos, se comparado ao estudo de Lazarini et al (2006b). Este acompanhamento se deu por um período mais prolongado que o trabalho de 2006, objetivando evitar um possível viés relacionado à distribuição temporal predominante nos meses frios (Gonçalves-Coelho et al, 1997). Estas modificações no estudo podem ter influenciado a diferença encontrada na frequência viral.

O trabalho de 2009 de Lazarini et al demonstra a importância desse maior seguimento dos indivíduos com PB, com a realização de coletas seriadas de saliva. Os autores apresentam uma positividade de 28% para VHS com a realização do exame apenas no momento da admissão e uma positividade de 50%, quando da avaliação por três semanas consecutivas.



Kawaguchi et al (2007) também coletaram amostras seriadas de saliva, optando pela coleta na admissão e após uma, duas e quatro semanas. Esta última coleta – após quatro semanas – não foi realizada no estudo atual. A frequência de VHS encontrada foi menor (12%) que a do presente trabalho. Esta menor incidência viral encontrada pode ser explicada pelo próprio desenho do trabalho. Os autores inicialmente dividem os pacientes em dois grupos: com e sem tratamento antiviral; porém, esta seleção não é descrita no momento da coleta das amostras. Provavelmente, os pacientes em uso de droga antiviral apresentariam PCR negativo.

Os autores (Kawaguchi et al, 2007) discutem que sua incidência marcadamente inferior à encontrada por Furuta et al, em 1998, se dá ao fato destes últimos utilizarem um tipo de PCR *real-time* que apresenta algumas amplificações não específicas para VHS e que, portanto, levaria a falsos positivos.

Os mesmos autores japoneses interrogam se estes resultados positivos tardios do PCR seriam consequência do estado imunológico do paciente ou se, pelo contrário, a PB estaria levando à reativação viral.

A utilização do corticóide em altas doses, preconizado no tratamento destes pacientes com PB, também poderia, em teoria, levar a um estado de imunossupressão que favorecesse a reativação viral. Porém, um estudo realizado com pacientes com surdez súbita (Camargo, 2006), no qual o tratamento também era baseado na utilização dos corticóides, mostraram resultados de PCR, em saliva e lágrima, negativos para o VHS em todos os pacientes e pelas três semanas de coleta, o que nos incentiva a acreditar que a positividade tardia do PCR realmente signifique uma reativação viral na PB.

#### 5.4.2 – VVZ

O presente trabalho encontrou três amostras positivas para VVZ, provenientes de dois pacientes com PB.

Apesar deste resultado não ser estatisticamente significativo, dois fatos levam a acreditar que poderia haver uma relação etiológica nestes achados. Em primeiro lugar, nenhuma amostra do grupo controle foi positiva. Parafraseando Murakami et al (1996b): “o resultado positivo significa apenas que o vírus está presente, o que nos leva a acreditar na reativação é o fato dos controles serem todos negativos”.

Em segundo lugar, um dos pacientes apresentou dois resultados positivos para o VVZ. Isto indica que a positividade não foi aleatória ou resultado de contaminação, sugerindo associação do quadro da PFP à presença do vírus na saliva.

Deve-se lembrar que a técnica de PCR é adequada para detecção do VVZ, como descrito por Dlugosch em 1991 e ratificado por Murakami et al (1998), em estudos com SRH.

Furuta et al (1997), encontraram seis pacientes com PCR positivo para VVZ em swab de orofaringe dentre 36 pacientes com PB. Os autores coletaram de uma a quatro amostras por indivíduo, não havendo explicação no trabalho de qual foi o critério para a escolha do número de amostras. Talvez, se no presente trabalho, mais amostras tivessem sido coletadas de cada paciente, a positividade fosse maior.

Furuta et al, em 2000b, descrevem positividade para VVZ em 23 dentre 26 pacientes (88%) que apresentavam PB e soronegatividade para VHS. Na amostra

inicial de pacientes com PB, 82% dos pacientes apresentaram alterações sorológicas para VHS; assim, esta pesquisa foi realizada com um número restrito de indivíduos com PB (apenas 18%). Cumpre lembrar que no atual estudo todos os resultados positivos para VVZ também foram obtidos em pacientes que não apresentaram VHS positivo. Os autores encontraram 20 indivíduos positivos para VVZ pelo PCR e 31 pela sorologia.

Kawaguchi et al (2007) também encontraram maior positividade para o VVZ com o uso da sorologia, se comparado ao PCR. Seriam necessários estudos que comparassem as duas técnicas para este vírus, em pacientes com PB.

Os resultados do presente estudo são diferentes dos encontrados por Pitkäranta et al (2000), que mostraram 10% de positividade para VVZ. Os autores, porém, utilizaram secreção lacrimal, tornando mais difícil a comparação dos trabalhos.

Furuta et al (2001b), quantificando as cópias virais de VVZ, observaram que a carga viral apresentava um pico próximo ao dia da manifestação das lesões em pele. Sugere-se que alguns resultados de PCR negativo para VVZ poderiam corresponder à queda da carga viral.

Furuta et al, em 2004, observando pacientes com SRH, descreveram que um paciente com apenas uma lesão pequena em orofaringe não apresentou positividade para VVZ. Pode-se aventar que quanto menor a manifestação da doença, menor a positividade encontrada no PCR. No atual trabalho, como todos os pacientes com alguma manifestação de doença herpética foram excluídos do estudo, esperaríamos encontrar uma menor positividade, como realmente ocorreu.

## **5.5 – Sobre os pacientes com PCR positivo**

### **5.5.1 – VHS**

#### **5.5.1.1 – Sobre a idade**

Não existiu diferença entre as médias das idades dos grupos com resultados positivos e negativos para VHS.

Evidenciou-se presença de PCR positivo para VHS em cinco (25%) dentre 20 pacientes com idade abaixo de 20 anos.

Em estudo com crianças e adolescentes, Khine et al (2008) descreveram que dez (21%) de 47 pacientes com PFP e quatro (9%) de 45 controles, apresentaram PCR positivo para VHS. A alta positividade do grupo controle deixa dúvida quanto à rigidez na inclusão de indivíduos para o estudo. Os autores utilizaram amostras de saliva e lágrima. A utilização de amostras lacrimais poderia talvez aumentar o número de casos positivos do presente estudo.

#### **5.5.1.2 – Sobre o grau de paralisia na admissão**

Em relação ao grau de paralisia encontrado no momento da admissão, observou-se uma tendência dos pacientes com PCR positivo a apresentar um maior grau de paralisia, porém, a avaliação estatística não mostrou diferença significativa. Talvez um maior número de pacientes avaliados resulte a um valor estatisticamente significativo.

Furuta et al (2001a) compararam o pior grau de paralisia dos grupos VHS, ZSH e PB. A única diferença estatisticamente significativa ocorreu entre o grupo com ZSH, que teve pior grau se comparado ao grupo PB. Os autores também não encontraram diferença entre os grupos com VHS positivo e negativo.

### **5.5.1.5 – Sobre a evolução**

Demonstrou-se que a evolução dos pacientes com PCR positivo e negativo para o VHS acompanhou um mesmo padrão de evolução, com melhora progressiva e simétrica entre os dois grupos.

Furuta et al (2001a) e Kawaguchi et al (2007) não observaram diferença nas taxas de melhora, mesmo utilizando-se das drogas antivirais. Acreditamos que, como o uso dos medicamentos antivirais ainda é objeto de muita discussão, não existindo um consenso mesmo após estudos multicêntricos e randomizados (Hato et al, 2007; Sullivan et al, 2007), seria necessário um estudo próprio, baseado em nossa população, para que conclusões pudessem ser tiradas e protocolos de tratamento fossem mais bem estipulados.

Acreditamos que à medida que o diagnóstico se torna mais preciso e eficiente, toda a terapêutica será mais bem administrada e seus resultados mais evidentes. Portanto, a investigação viral se faz cada vez mais necessária e deverá ser incorporada à prática clínica o mais breve possível.

### **5.5.2 – VVZ**

A análise estatística comparativa entre os grupos com PCR positivo e negativo para VVZ foi realizada nos moldes matemáticos.

Como os dois pacientes com PCR positivo para VVZ apresentavam 62 anos, a média etária neste grupo com PCR positivo é superior à média do grupo com PCR negativo para o VVZ. Esta diferença seria estatisticamente significativa ( $p = 0,044$ ).

O fato de estarem sendo analisados apenas dois casos abre a discussão do quanto os valores numéricos devem ser valorizados frente ao aspecto clínico da doença, ou mesmo, quanto estes dados estatísticos podem ser valorizados na prática clínica.

A opção escolhida foi a de manter a coleta de saliva nos pacientes com PB, para que outros indivíduos fossem diagnosticados como positivos para VVZ e, diante de uma amostra representativa, fossem analisadas e comparadas suas características.

### **5.6 – Considerações finais**

O presente trabalho caracteriza-se por estudar prospectivamente a presença de VHS e VVZ em pacientes com PB, utilizando apenas técnicas não invasivas, no caso, a pesquisa do DNA viral por PCR, em saliva de pacientes de nosso meio.

Outros estudos que optaram por estudar estes mesmos vírus utilizaram mais de um tipo de amostra (Murakami et al, 1996b) ou mais de um método de investigação viral (Morgan et al, 1995; Furuta et al, 2000b; Kawaguchi et al, 2007).

A técnica aqui proposta para pesquisa viral é de fácil e rápida realização, não sendo necessários procedimentos cirúrgicos ou invasivos para a coleta da amostra, como em trabalhos que o precederam (Murakami et al, 1996b; Linder et al, 2005; Stjernquist-Desatnik et al, 2006). Estas vantagens têm implicações em futuros protocolos de diagnóstico e tratamento. Um paciente com PB que à primeira consulta realize um diagnóstico etiológico da paralisia poderá ser mais bem orientado e tratado.

O estudo também ratifica a importância de se pesquisar a presença viral não apenas no momento da admissão, mas considerar a dinâmica do mesmo em diferentes estágios da doença, o que tem implicações marcantes em futuros estudos de eficácia de drogas antivirais.

Além da proposta de metodologia, o presente estudo apresenta frequências de reativações virais ainda pouco pesquisadas no Ocidente. O objetivo de descrever estas incidências em nosso meio foi verificar a importância dos vírus estudados em nossa população, para que a partir destes números sejam instituídos protocolos de conduta e de tratamento dos pacientes com PB.

Existe uma grande dificuldade em estabelecer as vantagens e desvantagens na utilização de drogas antivirais. Há controvérsias, inclusive, acerca do uso dos corticosteroides (Bento, 1991; Salinas, 2009). Dois dos principais trabalhos que avaliam a eficácia de medicamentos antivirais, um deles japonês (Hato et al, 2007) e outro inglês (Sullivan et al, 2007), apresentam resultados opostos. Esta diferença talvez ocorra pela diversidade de fatores que caracterizam as populações estudadas, o que torna difícil estabelecer uma conduta terapêutica mundial.

Por fim, mesmo adotando que os vírus estudados (VHS e VVZ) seriam os agentes causais mais importantes, por serem os mais frequentemente relacionados à origem da PFP, reconhecemos que ainda existe grande porcentagem dos pacientes com PB que permanecem sem causa definida. Cumpre prosseguir e estimular estudos com novos vírus e fatores que estejam relacionados à reativação destes agentes.

O estudo da PB permanece, para nós, um desafio em relação à causa, diagnóstico e tratamento, no mundo e em nosso meio. O tempo permitirá que a paralisia facial verdadeiramente idiopática diminua como entidade, possibilitando um tratamento mais individualizado e melhor prognóstico para seus portadores.



## **6 - CONCLUSÕES**

Foi verificada frequência de 22,5% de VHS e 1,7% de VVZ em amostras de saliva de pacientes com paralisia de Bell, pela técnica de PCR.

## 7 – ANEXOS

## ANEXO 1

Irmandade da Santa Casa  
Misericórdia de São Paulo

## Departamento de Otorrinolaringologia

## Protocolo Paralisia Facial Periférica

IDENTIFICAÇÃO	Sobrenome:	Nome:	
	Sexo: M F	Raça: P Pd B A	RG:
	Idade: a m	Prof.	Telef.
	Endereço:	Cidade/Estado:	
História	Data 1º atendimento:		Lado: ( ) D ( ) E
	PFP há dias		
	Sintomas: ( ) Zumbidos ( ) Vertigem ( ) Otalgia ( ) Otorréia ( ) Febre ( ) Cefaléia ( ) Lacrimejamento ( ) Lesões na orelha ( ) Otorragia ( ) Outros:		
	Antecedentes Pessoais: ( ) HAS ( ) DM ( ) Paralisia facial anterior: lado D E há: _____ ( ) Gravidez ( ) Tto Dentário ( ) IVAS ( ) Tireoidopatia ( ) Herpes labial ( ) Cardiopatia ( ) Neoplasia ( ) asma ( ) trauma ( ) Tabagismo ( ) Vacinação		
Exame Entrada	Antecedentes Familiares ( ) PFP ( ) Doenças ORL:		( ) Outros:
	PA ( ) normal ( ) alterada		Outras Alterações:
	Orelhas externas: ( ) normal ( ) alterada:		
	Otosopia: direita: ( ) normal ( ) alterada: esquerda: ( ) normal ( ) alterada:		
	Acumetria: VAD VAE RinneD: RinneE: Weber p/		
	Pares cranianos: I II III IV V VI VII VIII IX X XI XII		
Exame Complementares	Schimmer: D E		Língua plicata: A P
	Score: T__ O__ B__ L__ T__ TOTAL:		House: grau
	Audiometria: ( ) normal ( ) alterada:		
	Reflexo Estapedio: Direito: ( ) ausente ( ) presente - ( ) com recrutamento Esquerdo: ( ) ausente ( ) presente - ( ) com recrutamento		
	Eletroneurografia: Amplitude: ___ % ___ dias de PFP ___ D ___ E Amplitude: ___ % ___ dias de PFP ___ D ___ E Amplitude: ___ % ___ dias de PFP ___ D ___ E		
	Pesquisa na Saliva: Eletromiografia:		
Etiologia	Tomografia / Ressonância:		
	( ) Infecciosa: _____		
	( ) Traumática: _____		
	( ) Bell: _____		
( ) Tumoral: _____			
( ) Metabólica: _____			
( ) Outra: _____			

Tratamento Clínico	<input type="checkbox"/> Corticóide: _____ <input type="checkbox"/> Anti-inflamatório não-hormonal: _____ <input type="checkbox"/> Anti-viral: _____ <input type="checkbox"/> Antibióticos: _____ <input type="checkbox"/> Outros: _____
Evolução	<b>Dias de Paralisia:</b> _____ dias - Score: T ___ O ___ B ___ L ___ T ___ TOTAL: _____ House - grau: _____ _____ dias - Score: T ___ O ___ B ___ L ___ T ___ TOTAL: _____ House - grau: _____ _____ dias - Score: T ___ O ___ B ___ L ___ T ___ TOTAL: _____ House - grau: _____ _____ dias - Score: T ___ O ___ B ___ L ___ T ___ TOTAL: _____ House - grau: _____ _____ dias - Score: T ___ O ___ B ___ L ___ T ___ TOTAL: _____ House - grau: _____ _____ dias - Score: T ___ O ___ B ___ L ___ T ___ TOTAL: _____ House - grau: _____
Cirurgia	Foto <input type="checkbox"/> sim <input type="checkbox"/> não <input type="checkbox"/> sim <input type="checkbox"/> não      Data:    /    / <b>Achados cirúrgicos:</b>  
Cirurgia Pós Operatório	<b>Dias de pós-operatório:</b> _____ dias - Score: T ___ O ___ B ___ L ___ T ___ TOTAL: _____ House - grau: _____ _____ dias - Score: T ___ O ___ B ___ L ___ T ___ TOTAL: _____ House - grau: _____ _____ dias - Score: T ___ O ___ B ___ L ___ T ___ TOTAL: _____ House - grau: _____ _____ dias - Score: T ___ O ___ B ___ L ___ T ___ TOTAL: _____ House - grau: _____
Outros exames	Hemograma: _____ Sorologia p/lues: _____ Sorologia p/Mononucleose: _____ Sorologia p/Lyme: _____ Sorologia p/ Herpes: _____ Liquor: _____ Glicemia: _____ Colesterol: _____ Triglicérides: _____ T3/T4/TSH: _____ USG parótida: _____
Avaliação Oftalmológica	
Avaliação da Fonoaudiologia	

## ANEXO 2

Protocolo para extração de DNA de saliva

- 1) Transferir 500 µl de saliva para um tubo de microcentrifugação de 1,5ml;
- 2) Acrescentar 750 µl de tampão de lise para quebra celular (cell lyse) com sacarose e vortexar: o material é homogeneizado;
- 3) Centrifugar a 13000 rotações por minuto (rpm) por 2 minutos;
- 4) Remover, por inversão, o sobrenadante (tampão e material não celular) e descartá-lo;
- 5) Acrescentar 500 µl de tampão de digestão do tipo TEM 10x (usado para digestão da célula e extração do DNA), 5 µl de 10% de SDS (Lauryl sulfato 10% - detergente) e 3 µl de Proteína K (20 mg) ao pellet. Homogeneizar por inversão;
- 6) Incubar por uma hora a 56°C, em banho-maria, porém após 30 minutos, homogeneizar por inversão;
- 7) Acrescentar 150 µl de cloreto de sódio (NaCl) saturado a 5 molar (M). Agita-se vigorosamente o material por 15 segundos com a mão;
- 8) Centrifugar a 13000 rpm por 5 minutos;
- 9) Transferir o sobrenadante contendo o DNA para um tubo de 1,5 ml com 650 µl de isopropanol (álcool isopropílico), cuidando-se para não pegar o pellet;
- 10) Inverter o tubo várias vezes, lentamente, até o DNA precipitar (imagem tênue de nuvem). Caso não seja possível observar o DNA precipitado, deixar o material por 30 minutos ou o período da noite no freezer;
- 11) Centrifugar a 13000 rpm por 5 minutos;

- 12) Desprezar o sobrenadante, invertendo o tubo uma única vez, pois o pellet é frágil (o DNA está no fundo);
- 13) Lavar o pellet com 1 ml de etanol 70%. Centrifugar a 10000 rpm por 2 minutos (2 vezes); despreza-se o sobrenadante e repete-se este processo;
- 14) Secar o pellet com papel filtro por 15 minutos, invertendo o tubo sobre o papel filtro;
- 15) Ressuspender o pellet em 200 µl de TE (tampão de EDTA e Tris), incubar a 37°C por 15 a 30 minutos e homogeneizar lentamente com as mãos;
- 16) Armazenar no freezer.

#### Ciclagem do Material

Em outro cômodo é realizada a ciclagem do material para o teste de PCR.

- 1) Em um microtubo de 200 µl, adicionar 15 µl do mix da sonda (primer – anexos 4 e 5);
- 2) Acrescentar 5 µl do material de DNA extraído do material enviado (saliva);
- 3) Termociclador, seguindo programas mostrados nos anexos 4 e 5:
  - a. VHS: inicialmente cinco minutos a 94°C; depois 35 ciclos de um minuto a 94°C, um minuto a 60°C e um minuto a 72°C; depois, sete minutos a 72°C sem ciclar e, por fim, 14°C indefinidamente ou guardar no freezer.

- b. VVZ: inicialmente cinco minutos a 95°C; depois 35 ciclos de um minuto a 94°C, um minuto a 40°C e um minuto a 68°C e, por fim, 4°C indefinidamente ou guardar no freezer.
- 4) Obs.: Ao fazer o teste de PCR, no termociclador são colocados: um tubo controle positivo (contém, sabidamente, o vírus a ser pesquisado), um tubo negativo (não contém, sabidamente, o vírus), um tubo com água e, os demais tubos, contendo o material a ser avaliado.

#### Leitura dos Resultados

- 1) Em uma placa de agarose 1,5%, misturar 10 µl do produto final de DNA já ciclado com 2 µl de corante azul de bromofenol;
- 2) Homogeneizar o material;
- 3) Aplicar 10 µl desta mistura nas canaletas do gel;
  - a. Uma canaleta conterà o material controle positivo;
  - b. Uma canaleta conterà o material controle negativo;
  - c. Uma canaleta conterà a água;
  - d. Demais canaletas conterão o material a ser avaliado dos diferentes pacientes.
- 4) Eletroforese a 140 V, 400 mA, por 45 minutos;
- 5) Colocar a placa sob o transiluminador com luz ultravioleta;
- 6) Realizar leitura dos resultados por comparação com grupos controle.

- 7) Obs.: Realiza-se um controle denominado  $\beta$ -globina com 410 bp (pares de base) para confirmar a presença de DNA no fluido pesquisado. Isto é importante para descartar resultados falso-negativos, ou seja, diferenciar se o material pesquisado não têm o vírus ou não há DNA.

Fonte: Departamento de Biologia Molecular da Faculdade de Ciências Médicas da Santa Casa de Misericórdia de São Paulo.

## ANEXO 3

Tampões

## 1) Tampão de lise com sacarose (solução de lise – cell lyse)

TRIS pH 7,4 0,99 M	1,00 ml
Sacarose	10,95 g
TRITON x 100	1,00 ml
H <sub>2</sub> O qsp	100 ml

(dissolver em banho- maria a 37°C)

## 2) TEN (5x)

TRIS pH 8,0 1 M	5,0 ml
EDTA pH 8,0 0,5 M	10 ml
NaCl 5 M	5,0 ml
H <sub>2</sub> O qsp	500 ml

## 3) TE

TRIS pH 8,0 2 M	2,5 ml
EDTA pH 8,0 0,5 M	1,0 ml
H <sub>2</sub> O qsp	500 ml

Fonte: Departamento de Biologia Molecular da Faculdade de Ciências Médicas da Santa Casa de Misericórdia de São Paulo.



## ANEXO 4

Vírus herpes simples (VHS)      VHS – 290 bp

Primers:      VHS - J

5´ TAC ATC GGC GTC ATC TGC GGG G 3´

VHS - K

5´AGT TCG GCG GTG AGG ACA AAG T 3´

Programa:

26 (termociclador Bio-Rad)

VHS (Termociclador 2400 Perkin Elmer)

	5 minutos	94°C
35 ciclos	{	1 minuto      94°C
		1 minuto      60°C
		1 minuto      72°C
	7 minutos	72 °C
	14°C indefinidamente	

Fonte: Departamento de Biologia Molecular da Faculdade de Ciências Médicas da Santa Casa de Misericórdia de São Paulo.

## ANEXO 5

Vírus varicela zoster (VVZ)

VVZ – 267 bp

Primers: VVZ-7

5´ ATG TCC GTA CAA CAT CAA CT 3´

5´CGA TTT TCC AAG AGA GAC GC 3´

Programa:

VVZ (Termociclador 2400 Perkin Elmer)

	5 minutos	95°C
35 ciclos	{	1 minuto 94°C
		1 minuto 40°C
		1 minuto 68°C
	4°C indefinidamente	

Fonte: Departamento de Biologia Molecular da Faculdade de Ciências Médicas da Santa Casa de Misericórdia de São Paulo.

## 8 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Abboud O, Saliba I. Isolated bilateral facial paralysis revealing AIDS: a unique presentation. *Laryngoscope*. 2008; 118:580-4.

Abiko Y, Ikeda M, Hondo R. Secretion and dynamics of herpes simplex virus in tears and saliva of patients with Bell's palsy. *Otol Neurotol*. 2002; 23:779-83.

Aburto R, Herrera S, Cervilla O. Parálisis Facial por Herpes Zoster. *Rev. otorrinolaringol*. 1990; 50:117-23.

Adour KK, Bell DN, Hilsinger RL, Jr. Herpes simplex virus in idiopathic facial paralysis (Bell palsy). *Jama*. 1975; 233:527-30.

Adour KK. Current concepts in neurology: diagnosis and management of facial paralysis. *N Engl J Med*. 1982; 307:348-51.

Antunes ML, Fukuda Y, Testa JRG. Tratamento clínico da paralisia de Bell: estudo comparativo com o uso de valaciclovir mais deflazacort versus deflazacort versus placebo. *Acta AWHO*. 2000; 19(2):68-75.

Aoyagi M. Accuracy of the prognostic diagnosis in acute peripheral facial palsy. *Nippon Jibiinkoka Gakkai Kaiho*. 2005; 108(1):1-7.

Bastian FO, Rabson AS, Yee CL, Tralka TS. Herpesvirus hominis: isolation from human trigeminal ganglion. *Science*. 1972; 178:306-7.

Bell C. On the nerves: giving an account of some experiments on their structure and functions which leads to a new arrangement of the systems. *Philos Trans R Soc London*. 1821; 111:398-424.

Bento RF, Lorenzini MC, Bogar P, Marone SA, Miniti A. Treatment comparison between dexametasona and placebo at idiopathic facial palsy. *Braz J Otorhinolaryngol*. 1991; 57:196-202.

Brandenburg NA, Annegers JF. Incidence and risk factors for Bell's palsy in Laredo, Texas: 1974-1982. *Neuroepidemiology*. 1993; 12:313-25.

Burgess RC, Michaels L, Bale JF Jr, Smith RJ. Polymerase chain reaction amplification of herpes simplex viral DNA from the geniculate ganglion of a patient with Bell's palsy. *Ann Otol Rhinol Laryngol*. 1994; 103:775-9.

Camargo ACK. Surdez súbita idiopática e vírus herpes simples: método diagnóstico etiológico por reação de polimerase em cadeia. Tese (Doutorado). São Paulo: Faculdade de Ciências Médicas da Santa Casa de São Paulo; 2006.

- Chaves SS, Santibanez TA, Gargiullo P, Guris D. Chickenpox exposure and herpes zoster disease incidence in older adults in the U.S. *Public Health Rep.* 2007; 122:155-9.
- Cruz OLM, Leonhardt FD, Testa JRG, Ferri RG, Kasse CA, Viertler EY. The value of prognostic clinical data in Bell's palsy. *Braz J Otorhinolaryngol.* 2005; 71:454-8.
- Davis LE. Experimental viral infections of the facial nerve and geniculate ganglion. *Ann Neurol.* 1981; 9:120-5.
- De Diego JI, Prim MP, Madero R, Gavilan J. Seasonal patterns of idiopathic facial paralysis: a 16-year study. *Otolaryngol Head Neck Surg.* 1999; 120:269-71.
- Diedler J, Rieger S, Koch A, Parthe-Peterhans S, Schwaninger M. Bilateral facial palsy: Epstein-Barr virus, not Lyme disease. *Eur J Neurol.* 2006; 13:1029-30.
- Dlugosch D, Eis-Hubinger AM, Kleim JP, Kaiser R, Bierhoff E, Schneeweis KE. Diagnosis of acute and latent varicella-zoster virus infections using the polymerase chain reaction. *J Med Virol.* 1991; 35:136-41.
- Endo A, Izumi H, Miyashita M, Okubo O, Harada K. Facial palsy associated with mumps parotitis. *Pediatr Infect Dis J.* 2001; 20:815-6.
- Fortes FS, Brito Neto RV, Bento RF, Koji RT, Castilho AM. Paralisia Facial Periférica Bilateral em Pacientes com HIV. *Arquivos da Fundação Otorrinolaringologia.* 2005; 9(3):229-33.
- Furuta Y, Takasu T, Sato KC, Fukuda S, Inuyama Y, Nagashima K. Latent herpes simplex virus type 1 in human geniculate ganglia. *Acta Neuropathol.* 1992; 84:39-44.
- Furuta Y, Fukuda S, Suzuki S, Takasu T, Inuyama Y, Nagashima K. Detection of varicella-zoster virus DNA in patients with acute peripheral facial palsy by the polymerase chain reaction, and its use for early diagnosis of zoster sine herpete. *J Med Virol.* 1997; 52:316-9.
- Furuta Y, Fukuda S, Chida E, Takasu T, Ohtani F, Inuyama Y et al. Reactivation of herpes simplex virus type 1 in patients with Bell's palsy. *J Med Virol.* 1998; 54:162-6.
- Furuta Y, Ohtani F, Fukuda S, Inuyama Y, Nagashima K. Reactivation of varicella-zoster virus in delayed facial palsy after dental treatment and oro-facial surgery. *J Med Virol.* 2000a Sep;62(1):42-5.
- Furuta Y, Ohtani F, Kawabata H, Fukuda S, Bergstrom T. High prevalence of varicella-zoster virus reactivation in herpes simplex virus-seronegative patients with acute peripheral facial palsy. *Clin Infect Dis.* 2000b; 30:529-33.

Furuta Y, Ohtani F, Chida E, Mesuda Y, Fukuda S, Inuyama Y. Herpes simplex virus type 1 reactivation and antiviral therapy in patients with acute peripheral facial palsy. *Auris Nasus Larynx*. 2001a; 28 Suppl:S13-7.

Furuta Y, Ohtani F, Sawa H, Fukuda S, Inuyama Y. Quantitation of varicella-zoster virus DNA in patients with Ramsay Hunt syndrome and zoster sine herpete. *J Clin Microbiol*. 2001b; 39:2856-9.

Furuta Y, Aizawa H, Ohtani F, Sawa H, Fukuda S. Varicella-zoster virus DNA level and facial paralysis in Ramsay Hunt syndrome. *Ann Otol Rhinol Laryngol*. 2004; 113:700-5.

Furuta Y, Ohtani F, Aizawa H, Fukuda S, Kawabata H, Bergstrom T. Varicella-zoster virus reactivation is an important cause of acute peripheral facial paralysis in children. *Pediatr Infect Dis J*. 2005; 24:97-101.

García Cenoz M, Castilla J, Montes Y, Morán J, Salaberri A, Elía F, et al. Varicella and herpes zoster incidence prior to the introduction of systematic child vaccination in Navarre, 2005-2006. *An Sist Sanit Navar*. 2008; 31:71-80.

Giancoli SM. Pesquisa dos vírus herpes simples tipo I e vírus influenza em nervo facial após a inoculação destes vírus nas orelhas de coelhos. Tese (Mestrado). São Paulo: Faculdade de Ciências Médicas da Santa Casa de São Paulo; 2006.

Goncalves-Coelho TD, Pinheiro CN, Ferraz EV, Alonso-Nieto JL. Clusters of Bell's palsy. *Arq Neuropsiquiatr*. 1997; 55:722-7.

Hadar T, Tovi F, Sidi J, Sarov B, Sarov I. Specific IgG and IgA antibodies to herpes simplex virus and varicella zoster virus in acute peripheral facial palsy patients. *J Med Virol*. 1983; 12:237-45.

Hato N, Kisaki H, Honda N, Gyo K, Murakami S, Yanagihara N. Ramsay Hunt syndrome in children. *Ann Neurol*. 2000; 48:254-6.

Hato N, Yamada H, Kohno H, Matsumoto S, Honda N, Gyo K et al. Valacyclovir and prednisolone treatment for Bell's palsy: a multicenter, randomized, placebo-controlled study. *Otol Neurotol*. 2007; 28:408-13.

House JW, Brackmann DE. Facial nerve grading system. *Otolaryngol Head Neck Surg*. 1985; 93:146-7.

Ishii K, Kurata T, Sata T, Hao MV, Nomura Y. An animal model of type-1 herpes simplex virus infection of facial nerve. *Acta Otolaryngol Suppl*. 1988; 446:157-64.

Kang CI, Choi CM, Park TS, Lee DJ, Oh MD, Choe KW. Incidence of herpes zoster and seroprevalence of varicella-zoster virus in young adults of South Korea. *Int J Infect Dis*. 2008; 12:245-7.

- Kawaguchi K, Inamura H, Abe Y, Kosu H, Takashita E, Muraki Y et al. Reactivation of herpes simplex virus type 1 and varicella-zoster virus and therapeutic effects of combination therapy with prednisolone and valacyclovir in patients with Bell's palsy. *Laryngoscope*. 2007; 117:147-56.
- Kaygusuz I, Godekmerdan A, Keles E, Karlidaq T, Yalcin S, Yildiz M et al. The role of viruses in idiopathic peripheral facial palsy and cellular immune response. *Am J Otolaryngol*. 2004; 25:401-6.
- Khine H, Mayers M, Avner JR, Fox A, Herold B, Goldman DL. Association between herpes simplex virus-1 infection and idiopathic unilateral facial paralysis in children and adolescents. *Pediatr Infect Dis J*. 2008; 27:468-9.
- Kristensson K, Vahlne A, Persson LA, Lycke E. Neural spread of herpes simplex virus types 1 and 2 in mice after corneal or subcutaneous (footpad) inoculation. *J Neurol Sci*. 1978; 35:331-40.
- Lazarini P, Mitre E, Takatu E, Tidei R. Graphic-visual adaptation of House-Brackmann facial nerve grading for peripheral facial palsy. *Clin Otolaryngol*. 2006a; 31:192-7.
- Lazarini PR, Vianna MF, Alcantara MP, Scalia RA, Caiaffa Filho HH. Herpes simplex virus in the saliva of peripheral Bell's palsy patients. *Braz J Otorhinolaryngol*. 2006b; 72:7-11.
- Lazarini PR, Santos MAO, Vianna MF, Scalia RA, Caiaffa Filho HH. Herpes simplex virus in the saliva of acute Bell's palsy patients. *Int Adv Otol*. 2009; 5(2):75.
- Linder T, Bossart W, Bodmer D. Bell's palsy and Herpes simplex virus: fact or mystery? *Otol Neurotol*. 2005; 26:109-13.
- Looker KJ, Garnett GP, Schmid GP. An estimate of the global prevalence and incidence of herpes simplex virus type 2 infection. *Bull World Health Organ*. 2008; 86:805-12.
- Mahnert N, Roberts SW, Laibl VR, Sheffield JS, Wendel GD Jr. The incidence of neonatal herpes infection. *Am J Obstet Gynecol*. 2007; 196:55-6.
- Martinez Oviedo A, Lahoz Zamarro MT, Uroz del Hoyo JJ. Ramsay-Hunt syndrome. *An Med Interna*. 2007; 24:31-4.
- McCormick DP. Herpes-simplex virus as a cause of Bell's palsy. *Lancet*. 1972; 1:937-9.
- Morgan M, Moffat M, Ritchie L, Collacott I, Brown T. Is Bell's palsy a reactivation of varicella zoster virus? *J Infect*. 1995; 30:29-36.

- Murakami S, Hato N, Mizobuchi M, Doi T, Yanagihara N. Role of herpes simplex virus infection in the pathogenesis of facial paralysis in mice. *Ann Otol Rhinol Laryngol.* 1996a; 105:49-53.
- Murakami S, Mizobuchi M, Nakashiro Y, Doi T, Hato N, Yanagihara N. Bell palsy and herpes simplex virus: identification of viral DNA in endoneurial fluid and muscle. *Ann Intern Med.* 1996b; 124:27-30.
- Murakami S, Honda N, Mizobuchi M, Nakashiro Y, Hato N, Gyo K. Rapid diagnosis of varicella zoster virus infection in acute facial palsy. *Neurology.* 1998; 51:1202-5.
- Ohtani F, Furuta Y, Horal P, Bergstrom T. Rapid strip assay for detection of anti-herpes simplex virus antibodies: application to prediction of varicella-zoster virus reactivation in patients with acute peripheral facial palsy. *J Med Virol.* 2000; 62:37-41.
- Peitersen E. Bell's palsy: the spontaneous course of 2,500 peripheral facial nerve palsies of different etiologies. *Acta Otolaryngol Suppl.* 2002; (549):4-30.
- Pitkäranta A, Piiparinen H, Mannonen L, Vesaluoma M, Vaheri A. Detection of human herpesvirus 6 and varicella-zoster virus in tear fluid of patients with Bell's palsy by PCR. *J Clin Microbiol.* 2000; 38:2753-5.
- Safdar A, Gendy S, Hilal A, Walshe P, Burns H. Delayed facial nerve palsy following tympano-mastoid surgery: incidence, aetiology and prognosis. *J Laryngol Otol.* 2006; 120:745-8.
- Salinas RA, Alvarez G, Ferreira J. Corticosteroids for Bell's palsy (idiopathic facial paralysis). *Cochrane Database Syst Rev.* 2009; 15(2):CD001942.
- Savettieri G, Salemi G, Rocca WA, Meneghini F, Santangelo R, Morgante L et al. Incidence and lifetime prevalence of Bell's palsy in two Sicilian municipalities. *Acta Neurol Scand.* 1996; 94(1):71-5.
- Schmutzhard J, Merete Riedel H, Zwegyberg Wirgart B, Grillner L. Detection of herpes simplex virus type 1, herpes simplex virus type 2 and varicella-zoster virus in skin lesions. Comparison of real-time PCR, nested PCR and virus isolation. *J Clin Virol.* 2004; 29:120-6.
- Schulz P, Arbusow V, Strupp M, Dieterich M, Rauch E, Brandt T. Highly variable distribution of HSV-1-specific DNA in human geniculate, vestibular and spiral ganglia. *Neurosci Lett.* 1998; 252(2): 139-42.
- Shigeta S, Baba M, Ogata M, Nozaki H, Okuaki A, Nakamura S. Importance of anticomplement immunofluorescence antibody titration for diagnosing varicella-zoster virus infection in Bell's palsy. *J Clin Pathol.* 1986; 39:1254-8.

- Stjernquist-Desatnik A, Skoog E, Aurelius E. Detection of herpes simplex and varicella-zoster viruses in patients with Bell's palsy by the polymerase chain reaction technique. *Ann Otol Rhinol Laryngol*. 2006; 115:306-11.
- Sullivan FM, Swan IR, Donnan PT, Morrison JM, Smith BH, McKinstry B et al. Early treatment with prednisolone or acyclovir in Bell's palsy. *N Engl J Med*. 2007; 357:1598-607.
- Takahashi H, Hitsumoto Y, Honda N, Hato N, Mizobuchi M, Murakami M et al. Mouse model of Bell's palsy induced by reactivation of herpes simplex virus type 1. *J Neuropathol Exp Neurol*. 2001; 60:621-7.
- Takasu T, Furuta Y, Sato KC, Fukuda S, Inuyama Y, Nagashima K. Detection of latent herpes simplex virus DNA and RNA in human geniculate ganglia by the polymerase chain reaction. *Acta Otolaryngol*. 1992; 112:1004-11.
- Tassiopoulos KK, Seage G 3rd, Sam N, Kiwelu I, Shao J, Ao TT et al. Predictors of herpes simplex virus type 2 prevalence and incidence among bar and hotel workers in Moshi, Tanzania. *J Infect Dis*. 2007; 195:493-501.
- Tateishi K, Toh Y, Minagawa H, Tashiro H. Detection of herpes simplex virus (HSV) in the saliva from 1,000 oral surgery outpatients by the polymerase chain reaction (PCR) and virus isolation. *J Oral Pathol Med*. 1994; 23:80-4.
- Tomishima MJ, Smith GA, Enquist LW. Sorting and transport of alpha herpesviruses in axons. *Traffic*. 2001; 2:429-36.
- Tomita H, Tanaka M, Kukimoto N, Ikeda M. An ELISA study on varicella-zoster virus infection in acute peripheral facial palsy. *Acta Otolaryngol Suppl*. 1988; 446:10-6.
- Valença MM, Valença LP, Lima MC. Idiopathic facial paralysis (Bell's palsy): a study of 180 patients. *Arq Neuropsiquiatr*. 2001; 59:733-9.
- Wakisaka H, Hato N, Honda N, Takahashi H, Kisaki H, Murakami S et al. Demyelination associated with HSV-1-induced facial paralysis. *Exp Neurol*. 2002; 178:68-79.
- Yamakawa K, Hamada M, Takeda T. Different real-time PCR assays could lead to a different result of detection of varicella-zoster virus in facial palsy. *J Virol Methods*. 2007; 139:227-9.
- Yawn BP, Saddier P, Wollan PC, St Sauver JL, Kurland MJ, Sy LS. A population-based study of the incidence and complication rates of herpes zoster before zoster vaccine introduction. *Mayo Clin Proc*. 2007; 82:1341-9.



Yeo JC, Trotter MI, Wilson F. Bilateral facial nerve palsy associated with HIV seroconversion illness. *Postgrad Med J*. 2008; 84:328-9.

Yih WK, Brooks DR, Lett SM, Jumaan AO, Zhang Z, Clements KM et al. The incidence of varicella and herpes zoster in Massachusetts as measured by the Behavioral Risk Factor Surveillance System (BRFSS) during a period of increasing varicella vaccine coverage, 1998-2003. *BMC Public Health*. 2005; 5:68.

## FONTES CONSULTADAS

1. Faculdade de Ciências Médicas da Santa Casa de São Paulo. Pós-Graduação – Normatização para apresentação de dissertações e teses. São Paulo, Faculdade de Ciências Médicas da Santa Casa de São Paulo, 2004. 26p.
2. Ferreira ABH. Aurélio século XXI: o dicionário da língua portuguesa. 3.ed. Rio de Janeiro, Nova Fronteira, 1999. 2128p.
3. Lazarini PR, Fouquet ML. Paralisia Facial: avaliação, tratamento, reabilitação. São Paulo: Lovise, 2006.
4. Manual da nova ortografia. Disponível pela Internet em <[http://www.atica.com.br/novaortografia/index\\_.htm](http://www.atica.com.br/novaortografia/index_.htm)> e <<http://novaortografia.com/>>.
5. National Library of Medicine Index Medicus – List of journals indexed in Index Medicus. Maryland, National Library of Medicine, 2006. Disponível pela Internet <<ftp://nlmpubs.nlm.nih.gov/online/journals/ljiweb.pdf>>.

## RESUMO

**INTRODUÇÃO:** Embora a paralisia de Bell (PB) seja o tipo mais frequente de paralisia facial periférica (PFP), sua causa ainda é objeto de inúmeras teorias e questionamentos. A reativação dos vírus herpes simples (VHS) e varicela zoster (VVZ) tem sido considerada uma das principais causas da PB, porém, a maioria dos trabalhos que estudam a prevalência do VHS e do VVZ como agente etiológico da PB são japoneses, o que determina uma população de estudo e características geográficas bastante díspares de nossa população.

**OBJETIVOS:** Verificar a frequência dos vírus herpes simples e varicela zoster em saliva de indivíduos com PB, pela técnica de PCR.

**MATERIAL E MÉTODO:** Foram acompanhados, prospectivamente, 171 pacientes com PFP, sendo 120 pacientes portadores de PB, com até uma semana de evolução, sem uso prévio de drogas antivirais. O grupo controle foi composto de 20 adultos sadios. Nestes indivíduos foram coletadas três amostras de saliva em semanas consecutivas, para pesquisa de DNA viral pela técnica de PCR.

**RESULTADOS:** A prevalência de VHS nos pacientes com PB (22,5%) foi significativamente maior que nos controles ( $p=0,01$ ). O VVZ foi encontrado em dois pacientes (1,7%). Nenhum vírus foi identificado no grupo controle.

**CONCLUSÕES:** Foi verificada frequência de 22,5% de positividade para VHS e 1,7% para VVZ em amostras de saliva de pacientes com PB, pela técnica de PCR.

**Palavras Chave:** Paralisia facial, Paralisia de Bell, Reação em cadeia da polimerase, Herpes simples, Herpes zoster, Estudos prospectivos.

## ABSTRACT

**INTRODUCTION:** Although Bell's palsy (BP) is the major cause of acute peripheral facial palsy (APFP), its pathogenesis remains unknown. Reactivation of herpes simplex virus (HSV) and varicella zoster virus (VZV) has been implicated as one of the main causes of BP, however, most studies that analyze HSV and VZV reactivation in BP patients are Japanese and, therefore, personal and geographic characteristics are quite different from our population.

**OBJECTIVES:** To determine HSV and VZV frequencies in saliva samples from patients with BP, using the polymerase chain reaction (PCR).

**MATERIAL AND METHOD:** One hundred seventy one patients with APFP were prospectively enrolled in this study. One hundred twenty were clinically diagnosed with BP, within one week of onset of the disease and no previous anti-viral therapy. Controls were 20 healthy adults. Three saliva samples were collected from patients and controls at initial examination and one and two weeks later. Detection of HSV and VZV DNA was performed using PCR method.

**RESULTS:** The frequency of HSV among patients with BP (22,5%) was significantly higher than that in control group ( $p=0,01$ ). VZV was detected in two patients (1,7%). Neither HSV nor VZV was identified in saliva samples from controls.

**CONCLUSIONS:** HSV was detected in 22,5% and VZV in 1,7% of saliva samples from patients with BP, using PCR.

**Key words:** Facial paralysis, Bell palsy, Polymerase chain reaction, Herpes simplex, Herpes zoster, Prospective studies.

# APÊNDICES

## APÊNDICE 1



**IRMANDADE DA SANTA CASA DE MISERICÓRDIA DE SÃO PAULO**  
**COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA EM SERES HUMANOS**  
 Rua Santa Isabel, 305 - 4º andar Santa Cecília CEP: 01221-010 São Paulo – SP  
 PABX: 21767000 Ramal: 8061 – Telefax: 33370188 E-mail: [eticamed@santacasasp.org.br](mailto:eticamed@santacasasp.org.br)

São Paulo, 15 de julho de 2004.

**Projeto nº 176/04**  
 Informe este número para  
 identificar seu projeto no CEP

Ilmo.(a) Sr.(a)

**Dr. Paulo Roberto Lazarini**

Departamento de Otorrinolaringologia

O Comitê de Ética e Pesquisa da ISCMSP, em reunião extraordinária, dia **14/07/2004** e no cumprimento de suas atribuições, após revisão do seu projeto de pesquisa: **"Pesquisa do vírus herpes simples tipo I na saliva de pacientes com paralisia facial periférica de Bell"**, emitiu parecer enquadrando-o na seguinte categoria:

- Aprovado (inclusive TCLE);**  
**Com pendências** há modificações ou informações relevantes a serem atendidas em até 60 dias, (enviar as alterações em **duas cópias**);
- Retirado**, (por não ser reapresentado no prazo determinado);
- Não aprovado:** e
- Aprovado (inclusive TCLE - Termo de Consentimento Livre e Esclarecido)**, e encaminhado para apreciação da Comissão Nacional de Ética em Pesquisa – MS - CONEP, a qual deverá emitir parecer no prazo de 60 dias.  
**Informamos, outrossim, que, segundo os termos da Resolução 196/96 do Ministério da Saúde a pesquisa só poderá ser iniciada após o recebimento do parecer de aprovação da CONEP.**

**Prof. Dr. Nelson Keiske Ono**

Presidente do Comitê de Ética em Pesquisa – ISCMSP

## APÊNDICE 2



**IRMANDADE DA SANTA CASA DE MISERICÓRDIA DE SÃO PAULO**  
**COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA EM SERES HUMANOS**  
Rua Dr. Cesário Mota Júnior, 112 Santa Cecília CEP 01277900 São Paulo –SP  
PABX (11) 21767000 Ramais: 5502/5710 – Fax- Raml: 21767041 E-mail: [eticamed@santacasasp.org.br](mailto:eticamed@santacasasp.org.br)

São Paulo 30 de março de 2006

Projeto nº 080/06  
Informe este número para identificar  
seu projeto no CEP

Ilmo.(a).Sr.(a).

**Dr.(a). Paulo Roberto Lazarini**

Departamento de Otorrinolaringologia

O Comitê de Ética em pesquisa, em obediência ao que determina a Resolução 196/96, deverá encaminhar a CONEP/MS, semestralmente, a relação dos projetos de pesquisa em seres humanos em andamento nos Departamentos desta Instituição. **Solicitamos informar sobre o andamento do seu projeto a cada seis meses, isto é, se já foi concluído, se foi suspenso ou se ainda está em andamento; neste último caso comunicar qual o tempo previsto para conclusão do mesmo.**

Contando com a sua colaboração, subscrevemo-nos.

Atenciosamente

**Prof. Dr. Daniel R. Muñoz**

Presidente do Comitê de Ética em Pesquisa- ISCMSP

O seu relatório deve ser apresentado ao CEP a cada seis meses, o primeiro em:

29/09/2006

Impresso no site: [www.santasasprg.br](http://www.santasasprg.br)- Comitê de Ética em Pesquisa

## APÊNDICE 3

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO  
Projeto de Pesquisa : “PESQUISA DOS VÍRUS HERPES SIMPLES E  
VARICELA ZOSTER NA SALIVA DE PACIENTES COM  
PARALISIA FACIAL PERIFÉRICA DE BELL”

A Paralisia Facial Periférica, chamada de PFP, é uma doença do nervo facial, que leva a uma paralisia de metade do rosto, podendo também levar a alterações das lágrimas e do gosto de alimentos. A doença não é causada por derrame.

É importante tentar descobrir a causa da paralisia para poder tratá-la da melhor forma possível. Existem várias causas de paralisia, mas, na maioria das vezes não se consegue descobrir exatamente o que causou a PFP.

Um exame realizado na saliva de pacientes com PFP ajudaria a descobrir se existem vírus que poderiam ser os causadores da paralisia. Este exame é realizado aspirando a saliva com uma seringa sem agulha e mandando a mesma para estudo. Este exame não causa dor e não apresenta nenhum efeito colateral.

Este termo tem a finalidade de obter o seu consentimento para a realização da coleta da saliva por três semanas, assim como para o acompanharmos em retornos ao hospital, quando recomendados, para nos certificarmos de seu constante bom estado. Solicitamos, ainda, sua autorização para que possamos publicar cientificamente os resultados alcançados, sempre garantindo total sigilo e privacidade.

A qualquer momento este consentimento poderá ser recusado ou retirado, sem nenhuma penalização para o paciente, inclusive interrompendo-se o acompanhamento, se esta for sua vontade ou de seu responsável legal.

As pessoas e a entidade envolvida no atendimento e na pesquisa, conforme dita a lei, serão responsáveis por qualquer efeito danoso provocado pelo procedimento, respondendo por eventuais ressarcimentos ou indenizações que tenham sido legalmente julgados e decididos.

**Nome do Paciente:**

---

Compreendi e estou de acordo com todas as informações contidas neste termo,

Ciente e de acordo: \_\_\_\_\_  
(paciente ou responsável legal)

Ciente e de acordo: \_\_\_\_\_  
(pesquisador responsável)













APÊNDICE 4 – Tradução do sistema de graduação da paralisia facial proposto por House e Brackmann

GRAU	DEFINIÇÃO
I. Normal	Função facial normal em todas as áreas.
II. Disfunção leve	Fraqueza leve notável somente na inspeção de perto. No repouso: tônus e simetria normais. Motricidade: movimento leve a normal da testa; habilidade de fechar os olhos com esforço mínimo e leve assimetria; habilidade de mover a comissura dos lábios com esforço máximo e leve assimetria. Nenhuma sincinesia, espasmo ou contratura hemifacial.
III. Disfunção moderada	Diferença óbvia mas não desfigurante entre os dois lados. Nenhum comprometimento funcional; sincinesia notável mas não severa, contratura e/ou espasmo hemifacial. No repouso: tônus e simetria normais. Motricidade: movimento da testa leve ou ausente; habilidade de fechar os olhos com esforço máximo e assimetria evidente, habilidade de mexer a comissura dos lábios com esforço máximo e assimetria evidente. Pacientes com sincinesia evidente mas não desfigurante, contratura e/ou espasmo estão no grau III, independente da atividade motora.
IV. Disfunção moderadamente grave	Fraqueza evidente e/ou assimetria desfigurante. No repouso: tônus e simetria normais. Motricidade: nenhum movimento da testa; inabilidade de fechar os olhos completamente com esforço máximo; movimento assimétrico das comissuras labiais ao esforço máximo. Os pacientes com sincinesia, contratura e/ou espasmo suficientemente severos para interferir na função, estão no grau IV, independente da atividade motora.
V. Disfunção grave	Somente movimentos suavemente perceptíveis. No repouso: possível assimetria com queda da comissura labial e apagamento ou ausência do sulco naso-labial. Motricidade: nenhum movimento da testa; fechamento incompleto dos olhos e somente movimento leve da pálpebra com esforço máximo; movimento discreto da comissura labial. Sincinesia, contratura e espasmo hemifacial geralmente ausentes.
VI. Paralisia total	Perda de tônus; assimetria, nenhum movimento. Ausência de sincinesia, contratura e espasmo hemifacial.



## APÊNDICE 5

**EscaLa Gráfica de P.F.P.**

Grau	Em Repouso	Em Movimento	Esforço
I			Leve
II			Leve
III			Máximo
IV			Máximo
V			Máximo
VI			Máximo

Modificado e realizado por Lazarini, P.R.; Takatu, E.; Tidei, R. - a partir da Classificação de House (1984).

# Livros Grátis

( <http://www.livrosgratis.com.br> )

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)  
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)  
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)  
[Baixar livros de Matemática](#)  
[Baixar livros de Medicina](#)  
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)  
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)  
[Baixar livros de Meteorologia](#)  
[Baixar Monografias e TCC](#)  
[Baixar livros Multidisciplinar](#)  
[Baixar livros de Música](#)  
[Baixar livros de Psicologia](#)  
[Baixar livros de Química](#)  
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)  
[Baixar livros de Serviço Social](#)  
[Baixar livros de Sociologia](#)  
[Baixar livros de Teologia](#)  
[Baixar livros de Trabalho](#)  
[Baixar livros de Turismo](#)