



INQUÉRITO SOROLÓGICO E DE MORBIDADE PARA ARENAVIROSE NA POPULAÇÃO RURAL E PERIURBANA DA CIDADE DE TURVO, SC

André Martins Teixeira^{1,2}
Gregório Wrublewski Pereira^{1,2}
Mirela Silva de Souza^{1,2}
Alixandre Dias Braga^{1,2}
Gilberto Sabino dos Santos Junior³
Juliana Helena Chávez³
Alex Martins Machado³
Luiz Tadeu Moraes Figueiredo³
Alessandra Abel Borges^{2,4}

RESUMO

Os arenavírus são causadores de febres hemorrágicas em seres humanos, enquanto que, em roedores silvestres, causam infecção crônica e aparentemente assintomática, na Europa, África, Américas e talvez outros continentes. A arenavirose é transmitida através de aerossóis contaminados com excretas ou secreções de roedores contaminados, ingestão e contato direto com esses animais. Um levantamento sorológico retrospectivo foi realizado em Turvo (SC), através de pesquisa sobre anticorpos da classe IgG por um ensaio imunoenzimático (ELISA) caseiro, utilizando, como antígeno, uma proteína N recombinante de arenavírus. As amostras positivas foram submetidas a um ensaio confirmatório por *immunoblotting*. Foi realizado, ainda, um inquérito de morbidade, buscando dados epidemiológicos e do histórico de doenças da população, na tentativa de correlacionar atividades realizadas pelos participantes a infecções por arenavírus. Foram colhidas amostras de 257 indivíduos com idade superior a 18 anos; sendo que a prevalência de anticorpos IgG anti-arenavírus, detectados por ELISA, foi de 0,77% (2/257). No entanto, os ensaios de *immunoblotting* não confirmaram esses resultados. Nossos resultados obtidos com o inquérito de morbidade demonstraram que a população de Turvo tem contato frequente com roedores e pratica situações de risco para a aquisição de zoonoses transmitidas por esses animais. Desse modo, medidas educativas e de incentivo à utilização de EPIs pela população desta região são altamente recomendáveis.

Palavras-chave: Arenavírus; Inquérito sorológico; Morbidade

¹ Graduação em Medicina pela Universidade do Sul de Santa Catarina, Tubarão, SC. E-mail: andremteixeira@hotmail.com

² Unidade de Pesquisa em Virologia, Universidade do Sul de Santa Catarina, campus de Tubarão.

³ Centro de Pesquisa em Virologia, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo.

⁴ Professora adjunta no Instituto de Ciências Biológicas e da Saúde, Universidade Federal de Alagoas; Laboratório de Pesquisas em Virologia e Imunologia (LAPEVI).



1. INTRODUÇÃO

Na Europa, África, Américas e outros continentes, os arenavírus são causadores de febres hemorrágicas em seres humanos, enquanto que, em roedores silvestres, causam infecção crônica e aparentemente assintomática (BUCHMEIER et al., 2001). A família *Arenaviridae* é constituída por um único gênero (*Arenavirus*), que, atualmente, contém 23 vírus, os quais foram classificados de acordo com seu hospedeiro, localização geográfica, e atividade antigênica. O sorocomplexo Tacaribe (ou grupo Novo Mundo) inclui vírus presentes nas Américas. Já o sorocomplexo Lassa-coriomeningite linfocitária (LCM) (ou Grupo Velho Mundo) inclui vírus presentes na África e os onipresentes vírus LCM (CHARREL et al., 2003).

A arenavirose é transmitida através de aerossóis contaminados com excretas ou secreções de roedores contaminados e contato direto com esses animais (CHARREL et al., 2003; RIERA et al, 2005). Após o período de incubação, de 7 a 14 dias, a doença tem início gradual com febre e mal-estar, seguido de mialgia, cefaléia, tonturas, hiperestesia da pele, síndrome vascular, doença neurológica e hepatite (FIGUEIREDO, 2006; BUCHMEIER et al., 2001). O diagnóstico de arenavirose pode ser realizado por sorologia, baseando-se na detecção de anticorpos contra nucleoproteínas (N) e/ou envelope glicoprotéico. Imunofluorescência (IF) e testes imuno enzimáticos (ELISA) permitem a detecção de anticorpos contra a proteína N.

O primeiro arenavírus isolado foi o vírus da Coriomeningite Linfocitária (LCMV), sendo demonstrado como patógeno humano em 1933 (ARMSTRONG, 1934). A infecção por LCMV é geralmente assintomática ou associada com à doença leve e transitória (PALACIOS et al., 2008). O LCMV é o único membro da família *Arenaviridae* que está presente em todos os continentes, devido a seu reservatório cosmopolita, o *Mus musculus* (RIERA et al., 2005). Em consequência da associação específica dos arenavírus a seus roedores reservatório, a área geográfica de uma determinada arenavirose é limitada pela distribuição dos roedores correspondentes (CHARREL et al, 2003). No Brasil, dois casos fatais e três outros não-fatais de febre hemorrágica já foram notificados (FIGUEIREDO, 2006). Os dois casos fatais, ocorridos em 1990 e 1999, no estado de São Paulo, estão associados ao genotipo Sabiá, cujo reservatório ainda permanece desconhecido. Três outros arenavírus já foram detectados no país, todos na região norte: Amapari, Cupixi e Flexal.

Com a presença de reservatórios e tais vírus em nosso país, profissionais com atividades ocupacionais desenvolvidas em áreas rurais ou florestais devem estar alertas para tomar medidas de segurança, necessárias à prevenção da arenavirose e de outras zoonoses, como a hantavirose, em virtude do contato com ambientes potencialmente contaminados por excretas de roedores infectados por arenavírus e/ou hantavírus. Estudos soroepidemiológicos têm demonstrado valores de soropositividade para hantavírus e arenavírus entre roedores extremamente variáveis, os quais parecem depender de fatores ecogeográficos e temporais, podendo alcançar, em alguns casos, até 60% (SOUSA, 2006).

Embora nenhum caso de arenavirose tenha sido descrito em Santa Catarina (SC), a incidência da hantavirose vem aumentando a cada ano no estado. Esses casos têm-se concentrado no oeste e planalto central de Santa Catarina, e não havia, até o momento, casos registrados da doença no meio e extremo sul do estado. Contudo, também não havia registros concretos de que a região fosse indene à hantavirose e à arenavirose.

Nosso grupo iniciou por um inquérito sorológico para pesquisa de anticorpos contra hantavírus na população rural de um município da região extremo sul de SC, e foi então que decidiu-se pesquisar, também, a presença dos anticorpos contra arenavírus na mesma população. Turvo foi escolhido como local de estudo por possuir atividades e características geográficas que inferem risco para zoonoses transmitidas por roedores. O objetivo deste trabalho foi realizar um levantamento sorológico para Arenavirose na população rural e periurbana do município de Turvo, bem como correlacionar a história mórbida dos participantes ao risco de infecção.

2. METODOLOGIA

Foram estudados 257 indivíduos de ambos os sexos, com idade igual ou superior a 18 anos, que concordaram em participar do estudo e compareceram, voluntariamente, nos postos de coleta (Escola Linha Contessi, unidades de saúde Morro Chato e Boa Vistinha), em datas pré-determinadas, no município de Turvo. Foram realizadas entrevistas individuais, seguidas de venopunção simples. As amostras de sangue foram centrifugadas e os soros foram submetidos à pesquisa de anticorpos IgG contra arenavírus por ELISA caseiro, padronizado no Centro de Pesquisa em Virologia da FMRP-USP. Extratos brutos de *E.coli.*, expressando a proteína N do arenavírus Junín, foram usados para sensibilizar as placas. O

ensaio foi realizado conforme protocolo anteriormente padronizado para a detecção de anticorpos anti-hantavírus (FIGUEIREDO et al, 2008). As amostras positivas foram submetidas a ensaio confirmatório por *immunoblotting*, conforme protocolo descrito por Tortorici et al (2001).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Dos 257 voluntários que participaram do estudo, 57,97% (149/257) eram homens e 42,02% (108/257) eram mulheres, com média de idade de 44 anos. Grande parte dos participantes (92,60% dos entrevistados, ou 238/257) era natural da região sul de SC, sendo procedentes principalmente dos municípios: Turvo, 61,86% (159/257); Meleiro, 7,39% (19/257); Timbé do Sul, 7,00% (18/257); Araranguá, 3,5% (9/257) e Jacinto Machado 3,50%(9/257%). Apenas 5,44% (14/257) eram naturais de outros estados (PR, RS e MT), sendo, porém, residentes em Turvo.

Das amostras de soro analisadas para a pesquisa de anticorpos anti-arenavírus, duas (0,77%) foram reagentes pelo método de ELISA. As amostras, contudo, não puderam ser tituladas. Para a confirmação da presença de anticorpos anti-arenavírus, ambas amostras foram submetidas ao *immunoblotting*, donde era esperada marcação em banda de 60 kDa. Todavia, observou-se uma marcação de peso molecular estimado em 43 kDa (Figura 1), tornando, portanto, o resultado indeterminado.

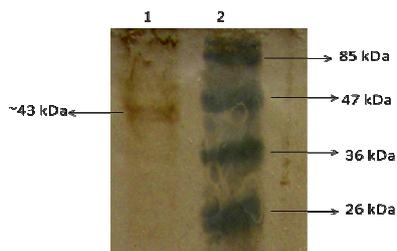


Figura 1: *Immunoblotting* de uma das amostras séricas reagentes ao teste de ELISA para pesquisa de anticorpos anti-arenavírus. Extrato bruto de *E.coli* contendo proteína N de arenavírus recombinante foi separado por eletroforese em gel de poliácridamida e transferido para membrana de nitrocelulose, seguido de incubação com amostra sérica de um dos participantes do estudo, revelada por conjugado anti-IgG humana com peroxidase/DAB.

Infecções por arenavírus são geralmente de baixa prevalência. Alguns arenavírus parecem ser restritos a pequenas áreas situadas dentro dos limites geográficos de roedores, que servem como seus reservatórios naturais (FULHORST et al., 2007). Estudos de

soroprevalência para arenavírus em diferentes localizações geográficas têm demonstrado prevalência de anticorpos de 3,5% (PARK et al, 1997) e de 0,3% (2 de 757) (FULHROST et al, 2007). Em nosso estudo, não pudemos confirmar a presença de anticorpos anti-arenavírus na população de Turvo, devido à discrepância nos resultados encontrados entre as duas metodologias utilizadas nas análises sorológicas.

Das duas amostras soro-reagentes ao ELISA, uma era de indivíduo do sexo masculino, de 41 anos, procedente de Turvo. Em sua história, há relato de sintomas compatíveis com arenavirose, porém são muito vagos. Sabe-se que infecções por LCMV, de distribuição global (RIERA et al., 2005), podem ter quadro clínico semelhante à gripe (PARK, 1997; VASCONCELOS, 1993) ou até mesmo ser assintomático (PALACIOS et al., 2008). Outro fato que chama atenção nesse indivíduo é a sua profissão de agricultor, que exerce há 20 anos e que é considerada de risco para doença, além de seu relato de que sempre executou todas as atividades de risco (Tabela 1), mantendo contato frequente com roedores, sem o uso e equipamentos de proteção individual (EPI). Os roedores reconhecidos por ele foram: *Mus musculus* e *Rattus norvegicus*.

Tabela 1 - Frequência de atividades laborativas que promovem contato com roedores na população em Turvo (SC).

	Semanal/ mensal	Anual	Poucas vezes	Já fez muito no passado	Total
Limpeza de sótão, celeiro, telhado, galpão, casa, abandonada, depósitos.	49,8% (128)	14,78% (38)	10,89% (28)	12,45% (32)	87,77% (223)
Aragem da terra.	30,73% (79)	20,23% (52)	10,11% (26)	15,17% (39)	76,26% (196)
Arrumação de fardos de lã, lenha e capim.	46,13% (107)	8,17% (21)	9,72% (25)	11,67% (30)	71,12% (183)
Moagem ou armazenamento de grãos.	36,57% (94)	14,39% (37)	7,78% (20)	12,06% (31)	70,42% (181)
Desmatamento.	6,22% (16)	4,28% (11)	17,12% (44)	18,28% (47)	46,30% (119)
Colheita e plantio de grãos.	27,23% (70)	29,57% (76)	12,84% (19)	15,95% (41)	80,93% (208)
Restos de colheitas ou lixo caseiro.	40,85% (105)	20,62% (33)	5,05% (13)	9,33% (24)	62,25% (160)
Tratar animais.	65,75% (169)	0,38% (1)	4,66% (12)	11,67% (30)	82,49% (212)
Desentupir bueiros.	12,84% (33)	11,67% (30)	14,78% (38)	6,61% (17)	45,91% (118)

A segunda amostra positiva foi de uma mulher de 28 anos, do lar, procedente de Turvo, que tem como atividades já realizadas: limpeza de sotão, celeiro e depósitos, arrumação de fardos de lenha e capim, lida com restos de colheita e lixo caseiro e desentupimento de bueiros. Seu contato com roedores ocorre nos arredores de sua casa - local onde ocorre grande parte das infecções (PARK, 1997) - e o animal reconhecido por ela foi o *Mus musculus*. O que chama atenção é seu relato de uma doença febril, ocorrida há 5 anos, em que apresentou febre, mialgia, cefaléia, artralgia, náusea, prostração, anorexia, dor de garganta, dispnéia e dor torácica. Não pudemos confirmar se este episódio de doença coincidiu com o momento da infecção por arenavírus; porém, sabe-se que anticorpos contra arenavírus circulam no sangue por um longo período (RIERA et al, 2005). Nenhum dos dois participantes soro-reagentes ao ELISA relatou viagens para áreas endêmicas de febre hemorrágica.

No que diz respeito às atividades exercidas pelos 257 entrevistados, 60,31% (155/257) tinham relação direta com a agricultura. Destes, 55,64% (143/257) eram agricultores; 0,38% (1/257) agrônomos; 1,94% (5/257) operadores de máquinas agrícolas; 0,38% (1/257) técnicos agrícolas; 1,55% (4/257) trabalhadores de indústrias agrícolas; e 0,38% (1/257) trabalhadores de engenhos. Investigando seus últimos vinte anos de trabalho, 86,39% (222/257) deles atuaram em ramos que continham algum tipo de risco para contágio de doença transmitida por roedores. Os dados referentes às atividades mais realizadas são mostrados na Tabela 1 e indicam estreita relação homem-roedor.

Quando analisados quais os roedores mais reconhecidos pelos participantes, as espécies encontradas foram: *Oligoryzomys sp.* (32,29%, ou 83/257); *Akodon sp.* (38,91%, ou 100/257); *Necromys sp* (71,20%, ou 183/257); *Rattus rattus* (15,57%, ou 40/257); *Rattus norvegicus* (58,36%, ou 150/257); e *Mus musculus* (73,90%, ou 190/257). Verificou-se que 73,54% dos entrevistados (189/257) tiveram contato frequente – diariamente ou semanalmente – com roedores, sendo este contato classificado em: aqueles que tiveram contato visual, frequentaram o local onde se encontravam roedores, mataram roedores, ou sofreram mordedura ou arranhadura de roedor. Além disso, 14,28% (18/126) referiram ter, em algum momento, sofrido mordedura ou arranhadura de roedor.

4. CONCLUSÕES

Em nosso estudo, não foi possível confirmar a presença de anticorpos anti-arenavírus na população de Turvo, devido à discrepância de resultados encontrados entre as duas metodologias utilizadas nas análises sorológicas. Contudo, os resultados obtidos por ELISA sugerem que uma pequena parcela da população (0,77%) pode ter-se infectado com arenavírus em algum momento no passado. Mais estudos são necessários para seja demonstrada a circulação de arenavírus na região. Nosso estudo demonstrou que a população tem contato frequente com roedores e pratica situações de risco para a aquisição de zoonoses transmitidas por esses animais. Nesse contexto, medidas educativas e de incentivo à população para a utilização de EPIs são altamente recomendáveis na região estudada.

REFERÊNCIAS

ARMSTRONG, C. *Experimental lymphocytic choriomeningitis of monkeys and mice produced by a virus encountered in studies of the 1933 St. Louis encephalitis epidemic*. **Public Health**. v. 49, p. 1019-1027, 1934.

BUCHMEIER, M.J.; TORRE, J.C.d.I.; PETERS C.J. *Arenaviridae: The Viruses and Their Replication*. In: KNIPE, D.M.; HOWLEY, P.M. (eds). **Fields Virology**. v. 2, 4th edition, Philadelphia, Lippincott Williams & Wilkins, 2001. 1334-1361 p.

CHARREL, R.N. et al. *Arenaviruses other than Lassa virus*. **Antiviral Research**. v. 57, nº 1-2, p. 89-100, 2003.

FIGUEIREDO, L.T. Febres hemorrágicas por vírus no Brasil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**. v. 39, nº 2, p. 203-213, 2006.

FIGUEIREDO, L. T. M., MORELI, M. L., BORGES, A. A., SOUZA, R. L. M., AQUINO, V. H. Expression of a hantavirus N protein and its efficacy as antigen in immune assays. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v.41, p.596 - 599, 2008.

FULHORST, C. F. et al. *Hantavirus and Arenavirus. Antibodies in Persons with Occupational Rodent Exposure North America*. **Emerging Infectious Diseases**. v.13, nº4, p. 532-538, 2007.

PALACIOS, G. et al. *A New Arenavirus in a Cluster of Fatal Transplant-Associated Diseases*. **The New England Journal of Medicine**. v. 358, nº10, p.991-998, 2008.

PARK, J. Y., et al. *Age distribution of lymphocytic choriomeningitis virus serum antibody in Birmingham, Alabama: evidence of a decreased risk of infection*. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**. v. 57, n. 1, p. 37-41, 1997.

RIERA, L. M. et al. *Serological Study of the Lymphochoriomeningitis Virus (LCMV) in an Inner City of Argentina*. **Journal of Medical Virology**. V.76, nº2, p. 285–289, 2005.

SOUSA, R. L. M. . Zoonoses virais emergentes associadas a roedores: riscos ocupacionais em Medicina Veterinária. **Associação Brasileira de Veterinários de Animais Selvagens**. São Paulo-SP, p. 1-6, 01 set. 2006.

TORTORICI, M.A. et al. *Arenavirus nucleocapsid protein displays a transcriptional antitermination activity in vivo*. **Virus Research**. v.73, p. 41–55, 2001.

VASCONCELOS, P. F. d. C. et al. Infecção humana adquirida em laboratório causada pelo vírus SP H 114202 (Arenavírus: Família Arenaviridae): Aspectos clínicos e laboratoriais **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**. v. 35, nº 6, p. 521-525, 1993.