

MS - FUNDAÇÃO NACIONAL DE SAÚDE



INVESTIGAÇÃO ECO-EPIDEMIOLÓGICA DOS ARBOVÍRUS NA ÁREA DE INFLUÊNCIA DO PROJETO SALOBO

(RELATÓRIO PARCIAL)

SEÇÃO DE ARBOVÍRUS
INSTITUTO EVANDRO CHAGAS
FUNASA/MS

MAIO/2002



1 INTRODUÇÃO

A área de influência do complexo mineral de Carajás apresenta um ecossistema rico em arbovírus como demonstra os estudos desenvolvidos na região pela Seção de Arbovírus (SAARB) do Instituto Evandro Chagas (IEC).

Durante cinco anos (de 1982 a 1986) foram realizadas investigações eco-epidemiológicas na grande área de influência do Projeto de Ferro Carajás, com suporte logístico e financeiro da CVRD, obtendo-se o isolamento e caracterização de sete novos arbovírus, bem como, dezenas de isolamentos de arbovírus já conhecidos, muitos dos quais foram classificados em família, principalmente na família *Rhabdoviridae* (Carajás, Curionópolis, Itacaiunas e Marabá), dois dos quais pertencentes ao gênero *Vesiculovirus* (Marabá e Carajás). Também, por sorologia, se demonstrou a presença de anticorpos para arbovírus pertencentes às famílias *Bunyaviridae* (Oropouche, Catu, Guaroa, Tacaiuma e Caraparu), *Flaviviridae* (febre amarela-vacina, SLE e Ilhéus) e *Togaviridae* (EEE, Mayaro e Mucambo).

Em 1997, a pedido da Brandt Engenharia e com o apoio da CVRD, a SAARB/IEC realizou uma expedição científica de duas semanas onde se colheu amostras biológicas de humanos, animais silvestres e de artrópodes hematófagos. Durante essa curta excursão se logrou isolar uma amostra de arbovírus do sangue de um roedor, a qual denominou-se vírus Salobo. O estudo de caracterização antigênica revelou que o vírus Salobo é novo para a Ciência e pertence à família *Bunyaviridae*, gênero *Phlebotivirus*, grupo sorológico da Febre do Flebótomo (*Phlebotomus Fever serogroup*), que inclui diversos arbovírus de importância para saúde humana na África, Europa e Américas.

O projeto de pesquisa "INVESTIGAÇÃO ECO-EPIDEMIOLÓGICA DOS ARBOVÍRUS NA ÁREA DE INFLUÊNCIA DO PROJETO SALOBO" foi elaborado por pesquisadores da Seção de Arbovírus do Instituto Evandro Chagas para atender à condicionante 7.4 da Licença Prévia nº 33/94 expedida pelo **Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais**



Renováveis – IBAMA para a Salobo Metais S.A., que diz: Apresentar um programa que adote as medidas recomendadas nos estudo de doenças endêmicas sugeridas no “Documento Integrado dos Relatórios de Zoneamento Ambiental e Monitoramento Biológico da Área de Influência do Projeto Salobo”.

O objetivo geral do referido projeto é avaliar o ecossistema da região de influência do Projeto Salobo com relação a diversidade de arbovírus circulante na área, antes das ações de exploração mineral na jazida polimetálica do Salobo. Desta forma, será possível estabelecer um parâmetro que permitirá, em estudos futuros, a avaliação do eventual impacto das ações de mineração sobre o meio ambiente e as populações humana e animal existentes na área de influência do Projeto Salobo, no que diz respeito a emergência de novos arbovírus, reemergência de arbovírus conhecidos e a dinâmica de transmissão desses agentes.

O projeto proporcionara 4 excursões científicas que visam a realização de inquéritos sorológicos em populações humanas vivendo ou trabalhando na área de influência do Projeto Salobo, captura e colheita de materiais biológicos de animais silvestres, principalmente de roedores e marsupiais de pequeno porte e aves silvestres; e captura de artrópodes hematófagos silvestres.

O relatório parcial, ora apresentado, apresenta dados relativos à primeira excursão científica, 19/01/03 a 07/02/03.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 AMOSTRAS COLETADAS

2.1.1 Seres Humanos

Coleta de sangue e informações (preenchimento de ficha de investigação epidemiológica) de 225 pessoas que vivem (trabalham) na área de influência do projeto Salobo, especificamente no acampamento do mesmo. Coletou-se de 5-10ml de sangue venoso com sistema a vácuo, utilizando-se material estéril e descartável. As amostras de sangue foram deixadas em repouso por 2 h em temperatura ambiente para retração do coágulo e, em



seguida, centrifugadas para a obtenção dos soros. Os soros foram congelados e mantidos em nitrogênio líquido até o processamento no laboratório.

2.1.2 Vertebrados Silvestres

Mediante a utilização de armadilhas foram capturadas 131 aves, 10 roedores e 3 marsupiais em mata próxima a área do Projeto Piloto (LT 1300 SE NS 700/NS 120). As aves foram capturadas com redes de nylon que foram abertas na madrugada (4:00h) e fechadas no meio da manhã (9:00h). Enquanto os roedores e o marsupial foram capturados em armadilha tipo Shermann, armadas diariamente no fim da tarde e inspecionadas na manhã seguinte. As aves e roedores capturados foram identificados no campo e após coleta de sangue foram soltos. Alguns animais foram sacrificados para obtenção de fragmentos de vísceras para pesquisa de vírus. As amostras biológicas das aves (sangue, soro e vísceras) foram congeladas e mantidas em nitrogênio líquido até o processamento no laboratório.

2.1.3 Artrópodes Hematófagos

Um total de 2054 artrópodes hematófagos foi obtido na mata próxima a área do Projeto Piloto (LT 1300 SE NS 700/NS 120) e ao Alojamento (LT 3500 SE 300 SW), sendo 810 por captura noturna com armadilhas luminosas e 1244 por captura diurna com atração humana. Neste último procedimento, os mosquitos são atraídos pelo odor humano e quando se aproximam são capturados com puçá e coletado com aparelho de sucção oral.

Uma vez capturados os artrópodes são colocados e conservados em nitrogênio líquido até sua chegada ao laboratório.

2.2 TESTES EMPREGADOS

Na SAARB/IEC as amostras foram registradas e conservadas a – 20°C ou – 70°C, para posterior processamento para pesquisa de anticorpos ou de vírus, respectivamente.



2.2.1 Pesquisa de anticorpos

Procedeu-se a pesquisa de anticorpos para arbovírus pelo testes de inibição da hemaglutinação (IH) para soro de seres humanos e animais silvestres (aves, roedoras e marsupiais).

No teste de IH, as amostras foram testadas contra 19 tipos de arbovírus, os mais prevalentes na região, a saber: *Togaviridae* (EEE, Mayaro, Mucambo e WEE); *Flaviviridae* (febre amarela - H111 e 17D, Ilhéus, SLE, Rocio, Dengue-1, Dengue-2, Dengue-3, Dengue-4, Cacipacoré e Bussuquara) e *Bunyaviridae* (Guaroa, Maguari, Tacaiuma, Caraparu, Oropouche, Catu, Turlock, Icoaraci e Utinga). Ressalte-se que os antígenos dos vírus Cacipacoré, Bussuquara, Icoaraci, Turlock e Utinga foram usados somente para os soros dos animais silvestres, sendo o Turlock usado apenas para soros de aves e o Utinga somente para soros de roedores e marsupiais. Os antígenos dos vírus dengue e febre amarela (17D) somente foram usados para IH com soros humanos.

Os soros dos seres humanos foram também testado por ensaio imunoenzimático para captura de anticorpos IgM (MAC-ELISA) para os vírus dengue e febre amarela.

2.2.2 Pesquisa de vírus

A tentativa de isolamento viral foi realizada pela inoculação de lotes dos insetos ou amostras de sangue e vísceras (cérebro, fígado e *pool* das demais vísceras) dos animais silvestres em camundongo recém nascido.

Os insetos foram identificados sob refrigeração usando microscópios entomológicos, agrupados de acordo com a espécie, bem como data e local de captura. Os Grupos de insetos e fragmentos de vísceras dos animais foram triturados com gral e pistilo, suspenso em PBS pH 7,4 contendo 0,75% de albumina bovina e antibióticos (100 UI/mL de penicilina e 100 µg/mL de estreptomicina). As suspensões foram centrifugadas a 3.000 rotações por minutos (rpm) por 15 minutos a 4° C e os sobrenadantes utilizados para inoculação.

Camundongos *Swiss* (Figura 8) de 2 a 3 dias de idade foram inoculados com 0,02 mL do inóculo por via intracerebral (VIC) e observados diariamente



para verificar a presença de sinais de doença por até 2 a 3 semanas. Os camundongos que adoecem são sacrificados e utilizados em testes de identificação viral.

3 RESULTADOS

3.1.1 Seres Humanos

Os soros das pessoas que vivem (trabalham) na área de influência do Projeto Salobo, mais precisamente no acampamento, apresentaram positividade de 4,3% para Alfavírus (família *Togaviridae*) e 71,7% para os flavivírus (família *Flaviviridae*) pelo teste de IH (Figura 1). As amostras positivas para flavivírus foram submetidas ao MAC-ELISA, alcançando positividade de 18,2% para dengue.

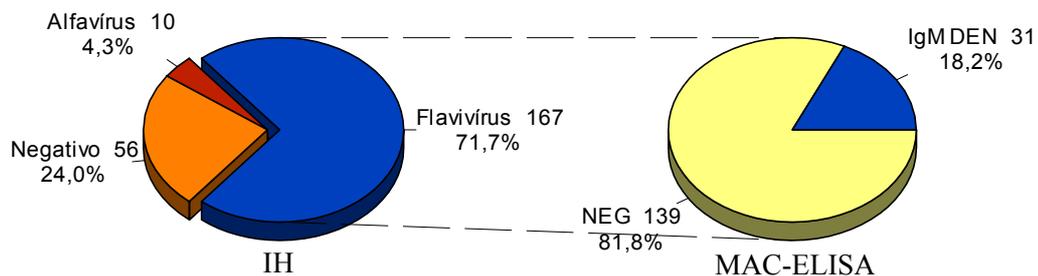


Figura 1- Resultados do teste de inibição da hemaglutinação e MAC-ELISA.

No teste de IH, os soros apresentaram respostas monotípicas com os vírus Mayaro, Mucambo, Dengue, Febre Amarela, bem como, reações de grupo com os vírus do gênero *Flavivirus* (Figura 2).

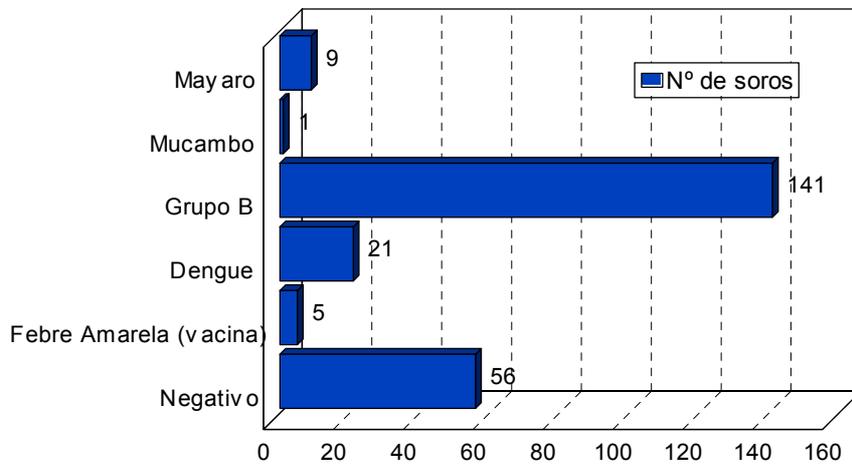


Figura 2- Resultado da pesquisa de anticorpos para arbovírus em soros humanos pelo teste de inibição da hemaglutinação.

3.1.2 Vertebrados Silvestres

Os soros das aves apresentaram anticorpos inibidores da hemaglutinação para os vírus Mayaro (alphavírus), Rocio (flavivírus) e Oropouche (bunyavírus). Enquanto os soros dos roedores e marsupiais foram negativos para todos os arbovírus testados.

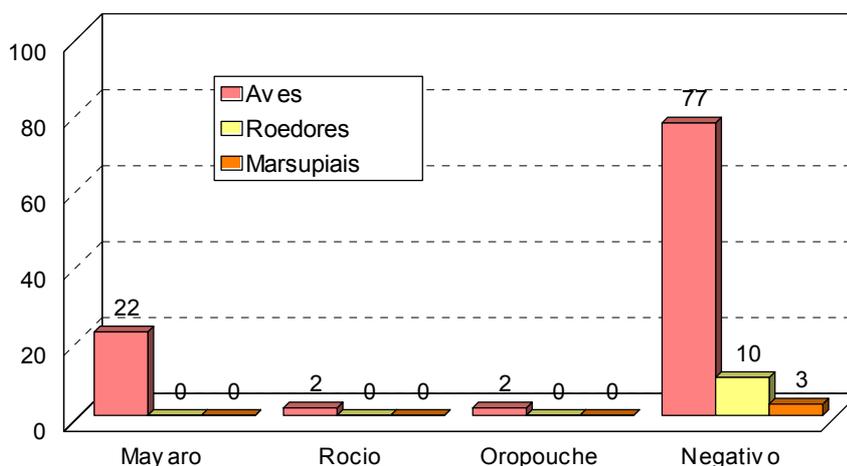


Figura 3- Resultado da pesquisa de anticorpos para arbovírus em soros de animais (aves, roedores e marsupiais) pelo teste de inibição da hemaglutinação.



Sangue de todos os animais capturados, bem como, cérebro, fígado e *pool* de vísceras daqueles sacrificados foram inoculados em camundongos recém-nascidos para tentativa de isolamento viral. Nenhum vírus foi isolado.

3.1.3 Artrópodes Hematófagos

Mediante a identificação entomológica os artrópodes hematófagos capturados foram classificados em quatro famílias de insetos, sendo 71,1% da família *Culicidae* e 28,9% das famílias *Ceratopogonidae*, *Psychodidae* e *Simulidae* (Figura 4).

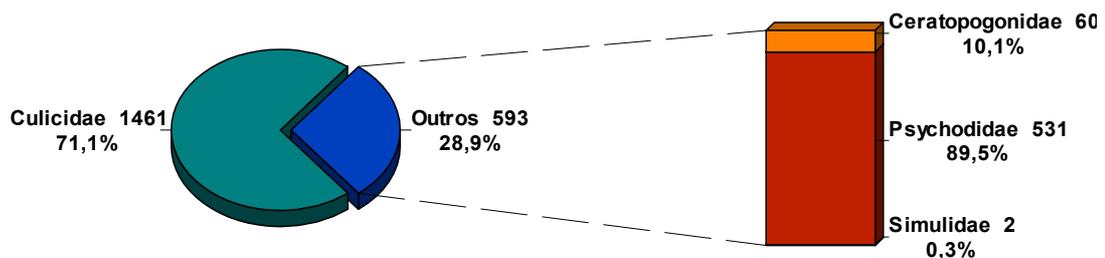


Figura 4- Classificação dos mosquitos capturados na área do Projeto Piloto (LT 1300 SE NS 700/NS 120) e em mata próxima à área ao Alojamento (LT 3500 SE 300 SW) do Projeto Salobo.

Foram identificadas 23 espécies de mosquitos da família *Culicidae* entre os exemplares capturados aos níveis do solo e da copa das árvores na mata adjacente ao Alojamento (LT 3500 SE 300 SW) (Figura 5) e 9 dentro da área do Alojamento (Figura 6). Na mata próxima a área do Projeto Piloto, também aos níveis do solo e copas das árvores, foram capturados mosquitos de 34 espécies da família *Culicidae* (LT 1300 SE NS 700/NS 120) (Figura 7).

Os mosquitos identificados e agrupados em lotes foram inoculados em camundongos recém-nascidos para tentativa de isolamento viral. Nenhum vírus foi isolado.

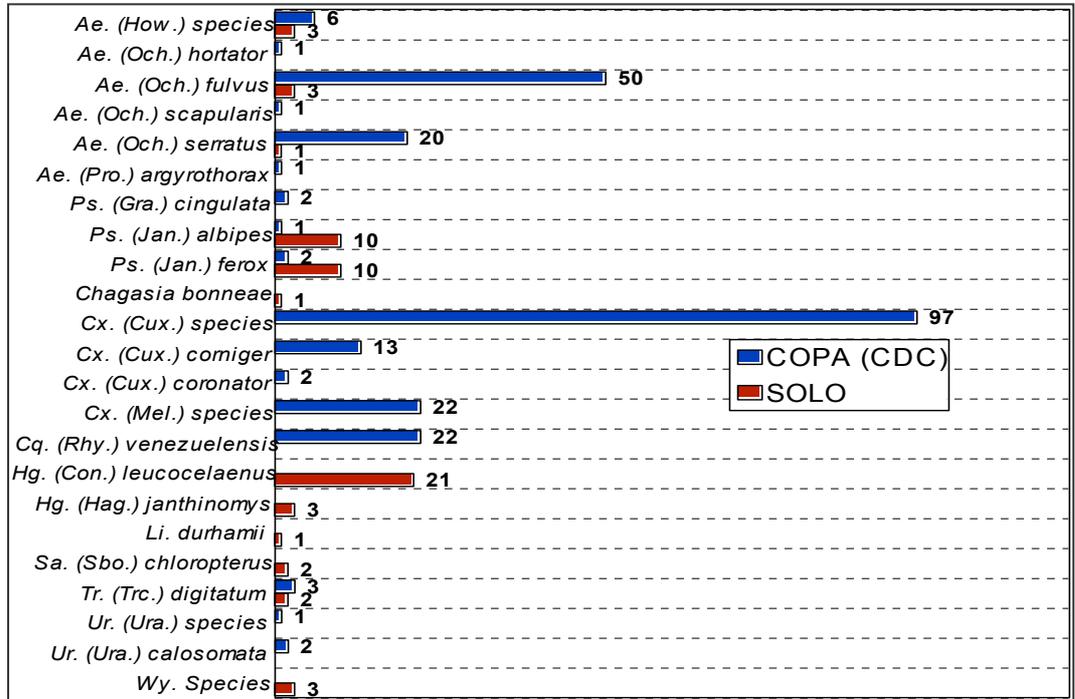


Figura 5 - Espécies de mosquitos da família *Culicidae* capturados na mata próxima à área do Alojamento (LT 3500 SE 300 SW).

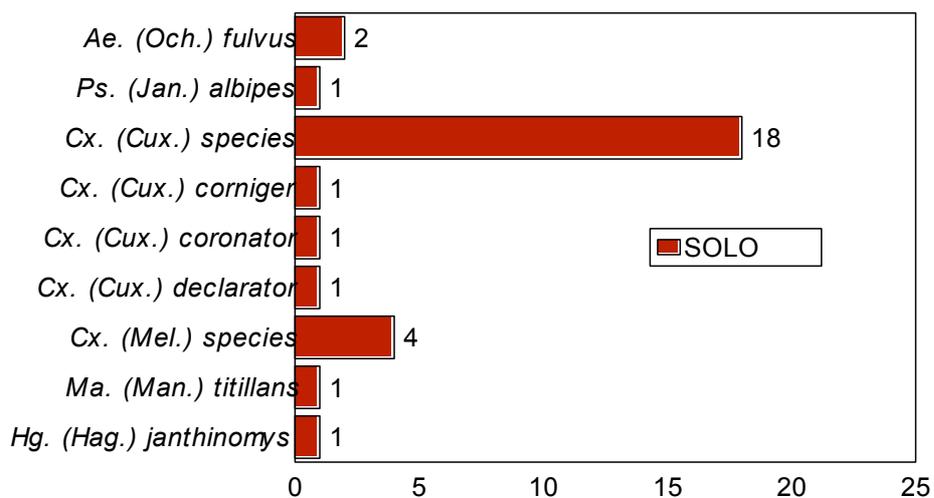


Figura 6 - Espécies de mosquitos capturados dentro da área do Alojamento do Projeto Salobo.

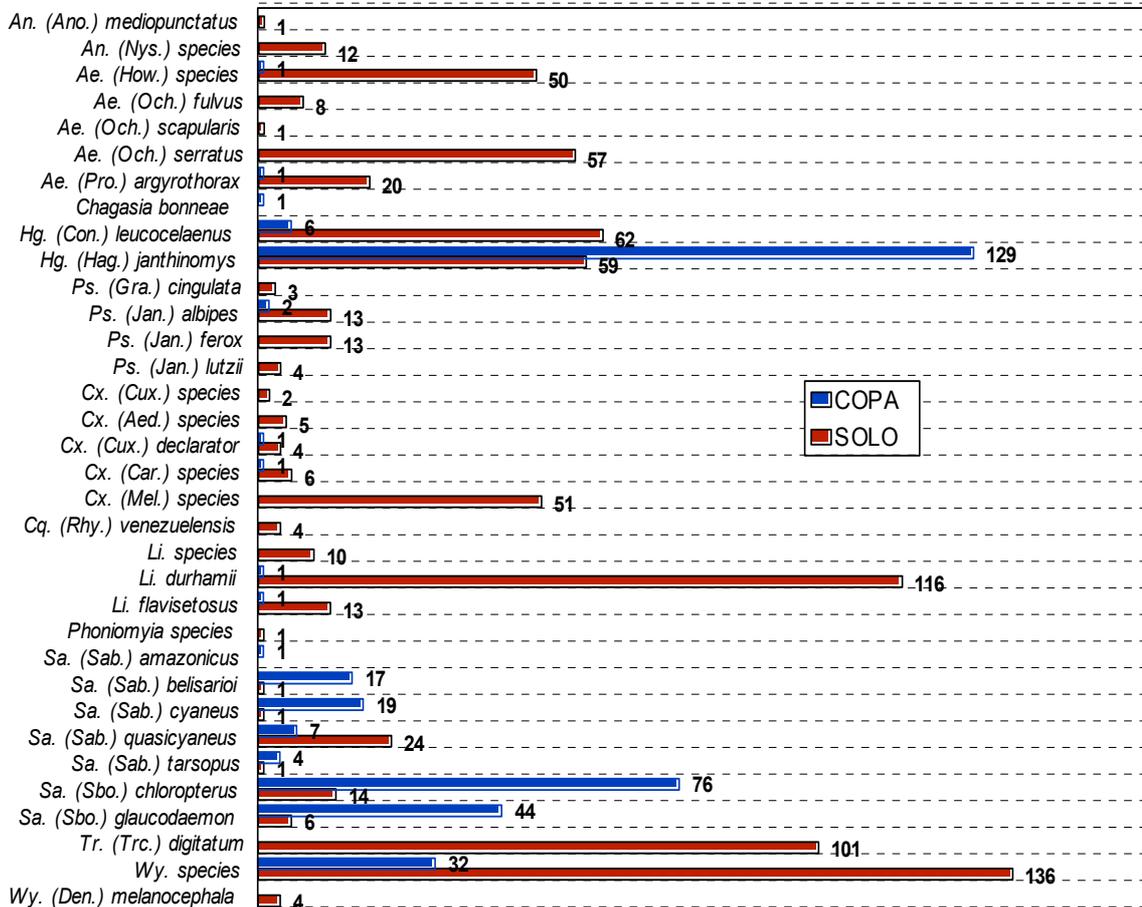


Figura 7 - Espécies de mosquitos da família *Culicidae* capturados na área do Projeto Piloto (LT 1300 SE NS 700/NS 120).

4 RECOMENDAÇÕES

- Todas as pessoas que desenvolvem atividades dentro da área do Projeto Salobo devem estar vacinadas contra Febre Amarela.
- As caixas vazias destinadas ao armazenamento das amostras de minério devem ser estocadas em local coberto para evitar o acúmulo de água da chuva em suas reentrâncias, que proporcionam a formação de criadouro de mosquitos.



- Uso de repelente para as pessoas que vivem e desenvolvem atividades dentro da área do Projeto Salobo.
- Coleta de sangue das pessoas que apresentarem quadro febril com suspeita de arbovirose. O sangue deve ser encaminhado para análise na SAARB/IEC.

Sueli Guerreiro Rodrigues, M.Sc
Coordenadora