

Ministério da Saúde

**FIOCRUZ**  
Fundação Oswaldo Cruz

Centro de Pesquisa Leônidas e Maria Deane



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ  
UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS  
FIOCRUZ - CENTRO DE PESQUISA LEÔNIDAS &  
MARIA DEANE  
MESTRADO MULTIDISCIPLINAR EM SAÚDE,  
SOCIEDADE E ENDEMIAS NA AMAZÔNIA.**

**INQUÉRITO SOROEPIDEMIOLÓGICO DOS VÍRUS DAS  
ENCEFALITES EQUINAS DO LESTE E DO OESTE EM  
POPULAÇÃO DE ÁREA SOB INFLUÊNCIA DO LAGO DA  
HIDRELÉTRICA DE TUCURUÍ - PARÁ.**

**ALEX GEORGE DE OLIVEIRA GONÇALVES**

**BELÉM – PA  
2011**



Ministério da Saúde

**FIOCRUZ**  
Fundação Oswaldo Cruz

Centro de Pesquisa Leônidas e Maria Deane



UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ  
UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS  
FIOCRUZ - CENTRO DE PESQUISA LEÔNIDAS & MARIA DEANE  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE, SOCIEDADE E ENDEMIAS  
NA AMAZÔNIA.

**ALEX GEORGE DE OLIVEIRA GONÇALVES**

**INQUÉRITO SOROEPIDEMIOLÓGICO DOS VÍRUS DAS  
ENCEFALITES EQUINAS DO LESTE E OESTE EM  
POPULAÇÃO DE ÁREA SOB INFLUÊNCIA DO LAGO DA  
HIDRELÉTRICA DE TUCURUÍ - PARÁ.**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Saúde, Sociedade e Endemias na Amazônia, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Saúde, Sociedade e Endemias da Amazônia.

Orientador: Prof. Dr. Juarez Antonio Simões Quaresma

BELÉM – PA  
2011

**ALEX GEORGE DE OLIVEIRA GONÇALVES**

**INQUÉRITO SOROEPIDEMIOLÓGICO DOS VÍRUS DAS  
ENCEFALITES EQUINAS DO LESTE E OESTE EM POPULAÇÃO DE  
ÁREA SOB INFLUÊNCIA DO LAGO DA HIDRELÉTRICA DE  
TUCURUÍ - PARÁ.**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Saúde, Sociedade e Endemias na Amazônia, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Saúde, Sociedade e Endemias da Amazônia.

Aprovado em 28 de fevereiro de 2011.

**BANCA EXAMINADORA**

Prof. Dr. Juarez Antonio Simões Quaresma, Presidente.

Núcleo de Medicina Tropical/UFPA

Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Rosana Maria Feio Libonati, Membro.

Núcleo de Medicina Tropical/UFPA

Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Denise da Silva Pinto, Membro.

Instituto de Ciências da Saúde/UFPA

Prof. Dr. Ismaelino Mauro Nunes Magno, Membro.

Centro Universitário do Pará

## DEDICATÓRIA

À minha esposa e a minha filha, aos meus pais  
e *in memoriam* às minhas avós Laura Cativo e  
Joana Gonçalves.

## AGRADECIMENTOS

A Deus, que sempre mostrou uma solução para os problemas e tornou possível esta realização;

Ao Dr. Juarez Antônio Simões Quaresma, que me norteou nessa difícil caminhada e demonstrou muita paciência, dedicação e compreensão nos momentos em que ficava perdido.

À Prof<sup>a</sup> Helen Fuzii e a todos os amigos do laboratório do Núcleo de Medicina Tropical pela colaboração e incentivo; além de proporcionarem um ambiente familiar e de descontração na massante tarefa laboratorial

A Dr<sup>a</sup>. Rosana Libonati e a Dr<sup>a</sup> Denise Pinto pela paciência e ajuda na análise estatística;

Ao setor de Arbovirologia do Instituto Evandro Chaga, na pessoa do Dr. Pedro Fernando da Costa Vasconcelos responsável pelo setor, pela colaboração na análise das amostras;

À ELETRONORTE por proporcionar a realização do projeto ao qual este estudo faz parte.

Aos docentes do mestrado que proporcionaram trocas de aprendizado importantes e novos caminhos;

À secretária do Curso de Mestrado, Ana Monteiro, que acompanhou esta caminhada de forma muito ativa; com muita paciência e dedicação.

A todos que direta ou indiretamente me ajudaram para a realização desta pesquisa.

Muito Obrigada!

“É melhor atirar-se à luta em busca de dias melhores, mesmo correndo o risco de perder tudo, do que permanecer estático, como os pobres de espírito, que não lutam, mas também não vencem, que não conhecem a dor da derrota, nem a glória de ressurgir dos escombros. Esses pobres de espírito, ao final de sua jornada na Terra não agradecem a Deus por terem vivido, mas desculpam-se perante Ele, por terem apenas passado pela vida.”

**Bob Marley**

## RESUMO

O EEEV e o WEEV são Arbovírus da família *Togaviridae*, gênero *Alphavirus*, que medem 60 a 70 nm de diâmetro e é composto por glicoproteínas transmembrana E1 e E2, o capsídio ou proteína do nucleocapsídio, que deriva da bicamada lipídica do hospedeiro, e uma única molécula de RNA de fita única e de polaridade positiva. São transmitidos por mosquitos, principalmente *Culex* e *Aedes*, tendo como reservatório natural os pássaros e como hospedeiros acidentais os humanos, equinos e outros pequenos mamíferos. Os indivíduos infectados são assintomáticos ou desenvolvem síndrome gripal que podem evoluir para doença neurológica graves com predominância em humanos na América do Norte e em equinos em toda América. A taxa de letalidade em humanos para EEE é de 30% a 40% e para WEE é de 10%. O estudo foi observacional do tipo transversal analítico, realizado em indivíduos de ambos os sexos, maiores de 18 anos, residentes do lago UHE de Tucuruí e proveniente das RDS de Alcobaça e Pucuruí-Ararão. A coleta das amostras de sangue e o preenchimento do questionário foram realizados em dois momentos distintos, em setembro/2008 e março/2009. Todas as amostras foram analisadas pelo Instituto Evandro Chagas onde foram submetidas ao teste de Inibição da Hemaglutinação para a pesquisa de anticorpos contra 19 tipos de Arbovírus. A análise dos dados foi descritiva e analítica, sendo empregado o teste qui-quadrado e/ou exato de Fisher a fim de verificar a significância das associações estatísticas entre as variáveis do estudo com um nível alfa de 0,05. Ao todo foram analisadas 365 amostras, que mostraram positividade de 1,1% para EEE e de 1,6% para WEE. A maioria dos casos positivos tinha condições de saneamento ruim (100% para EEE e 83,3% para WEE), com uso fossa negra (75% para EEE e 100% para WEE) e abastecimento de água de rios e/ou lagos (100% para EEE e 83,3% para WEE). Os casos positivos para EEE e WEE tiveram relação com outros Arbovírus, sendo que 100% de EEE e WEE eram positivos para HI-Flavivírus, 25% de EEE para o vírus Maguari, HI-Mayaro e HI-Oropouche e 33,3% de WEE para HI-Mayaro e 16,7% para o vírus Guaroa. O estudo confirmou a presença dos vírus da EEE e WEE na região e que alguns fatores sócio-ambientais, como uso de fossa negra e condições de saneamento ruins, favorecem a exposição da população aos vetores e levantou a hipótese de proteção cruzada com outros Alphavírus.

Palavras chave: Encefalite equina do leste, Encefalite equina do oeste, Hidrelétrica de Tucuruí, Impactos ambientais na Amazônia

## ABSTRACT

The EEEV and WEEV are Arboviruses of the family *Togaviridae*, genus *Alphavirus*, which measure 60-70 nm in diameter and is composed of transmembrane glycoproteins E1 and E2, the capsid protein or the nucleocapsid, which is derived from the lipid bilayer of the host, and a single molecule single-stranded RNA and positive polarity. They are transmitted by mosquitoes, primarily *Culex*, *Aedes*, whose natural reservoir of birds and humans as accidental hosts, horses and other small mammals. Infected individuals are asymptomatic or develop flu-like illness that may progress to severe neurological disease with a prevalence in humans in North America and horses across America. The fatality rate for EEE in humans is 30% and 40% for WEE is 10%. The study was observational, cross-sectional analytical study carried out in individuals of both sex, aged over 18, resident of the lake Tucuruí power plant and from the RDS and Alcobaça Pucurui-Ararão. The collection of blood samples and filling in the questionnaire were performed at two different times, in September/2008 and March/2009. All samples were analyzed by the Evandro Chagas Institute where they were tested with hemagglutination inhibition for detection of antibodies against 19 types of Arboviruses. Data analysis was descriptive and analytical, and used the chi-square or Fisher exact test to verify the statistical significance of associations between variables of the study with an alpha level of 0,05. Altogether 365 samples were analyzed, which showed 1.1% positive for EEE and 1.6% for WEE. Most positive cases had poor sanitary conditions (100% for EEA and 83.3% for WEE) using cesspits (75% to 100% for EEE and WEE) and water from rivers and / or lakes ( 100% to 83.3% for EEE and WEE). The positive cases for EEE and WEE were related to other Arboviruses, where 100% of EEE and WEE were positive for HI-Flavivirus, 25% for EEE virus Maguari, HI-Mayaro and HI-Oropouche and 33.3 % of WEE to HI-Mayaro and 16.7% for the virus Guaroa. The study confirmed the presence of EEE virus and WEE in the region and some socio-environmental factors such as use of cesspits and poor sanitation conditions, conducive to public exposure to vectors and raised the possibility of cross protection with other alphaviruses.

Keywords: Eastern equine encephalitis, western equine encephalitis, Tucuruí Hidroelectric Plant, Environmental Impacts in the Amazon

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Foto comparativa da região de Tucuruí antes e após a construção da U.H.E.....	16
Figura 2 - Mudanças antrópicas da construção da UHE de Tucuruí.....	18
Figura 4 – Camadas do vírion.....	24
Figura 5 – O ciclo de vida dos Alfavírus.....	27
Figura 6 - Esquema do ciclo de transmissão endêmica e epidêmica dos EEEV e WEEV.....	33
Figura 7 - Impactos do El Niño e da La Niña sobre a América do Sul.....	41
Figura 8 - Possíveis caminhos dos efeitos das mudanças climáticas sobre a saúde.....	42
Figura 9 - Mosaíco das unidades de conservação do lago da UHE de Tucuruí.....	49

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Prevalência dos vírus EEE e WEE na região do lago da UHE de Tucuruí.....	53
Tabela 2 - Titulação dos vírus EEE e WEE.....	54
Tabela 3 - Prevalência dos EEE e WEE em relação ao sexo .....	55
Tabela 5 - Prevalência dos vírus EEE e WEE em relação ao tempo de residência.....	55
Tabela 7 - Prevalência dos vírus EEE e WEE em relação ao uso de mosquiteiro .....	56
Tabela 8 - Prevalência dos vírus EEE e WEE em relação às condições de saneamento.....	58
Tabela 9 - Prevalência dos EEE e WEE em relação ao tipo de fossa.....	58
Tabela 10 - Prevalência dos vírus EEE e WEE em relação ao abastecimento de água.....	58
Tabela 11 - Correlação dos vírus EEE e WEE com a presença de outros Arbovírus .....	60

## LISTA DE ABREVIACÕES

APA	Área de Proteo Ambiental
BF	Barmah Florestal
CDC	Centro de Controle de Doenas
DST	Doena Sexualmente Transmissível
EEEV	Vírus da Encefalite Equina do Leste
ENSO	Oscilao Sul El Niño/La Nia
EUA	Estados Unidos da América
HIV	Vírus da Imunodeficiência Humana
LCR	Líquido céfalo-raquidiano
MIDV	Vírus Middelburg
NDUV	Vírus Ndumu
OMS	Organizao Mundial de Saúde
PCR	Reao em cadeia da polimerase
PSF	Programa Saúde da Família
RDS	Reserva de Desenvolvimento Sustentável
RDS	Reserva de Desenvolvimento Sustentável
RNA	cido Ribonucleico
RNAm	RNA mensageiro
SFV	Vírus Semliki Forest
SNC	Sistema Nervoso Central
UFPA	Universidade do Estado do Pará
UHE	Usina Hidrelétrica
VCAR	Vírus Caraparu

VCATU	Vírus Catu
VDEN	Vírus da Dengue
VEEV	Vírus da Encefalite Equina Venezuelana
VFA	Vírus da Febre Amarela
VGRO	Vírus Guaroa
VILH	Vírus Ilhéus
VMAG	Vírus Maguari
VMAY	Vírus Mayaro
VMUC	Vírus Mucambo
VORO	Vírus Oropouche
VROC	Vírus Rocio
VSLE	Vírus da Encefalite de São Luis
VTCM	Vírus Tacaiuma
WEEV	Vírus da Encefalite Equina do Oeste
ZPVS	Zona de Proteção da Vida Silvestre

## SUMÁRIO

1 – INTRODUÇÃO.....	14
1.1 - ALTERAÇÕES ECOLÓGICAS E EMERGÊNCIA DE ARBOVIROSES .....	14
1.2 - JUSTIFICATIVA .....	16
1.3 - HIPÓTESES .....	19
1.4 - OBJETIVOS .....	20
2 - REVISÃO BIBLIOGRÁFICA .....	21
2.1 - HISTÓRIA DA ENCEFALITE EQUINA DO LESTE E OESTE.....	21
2.2 - ASPECTOS VIROLÓGICOS .....	23
2.3 - PATOGÊNESE E MANIFESTAÇÕES CLÍNICAS .....	28
2.4 - ECOEPIDEMIOLOGIA.....	32
2.4.1 - Encefalite Equina do Leste .....	32
2.4.2 - Encefalite Equina do Oeste.....	35
2.5 - DIAGNÓSTICO .....	38
2.2 - ALTERAÇÕES AMBIENTAIS E SAÚDE HUMANA.....	40
3 - METODOLOGIA.....	47
3.1 - TIPO DE ESTUDO E SELEÇÃO DA AMOSTRA:.....	47
3.2 - POPULAÇÃO ALVO: .....	47
3.3 - LOCAL DE ESTUDO: .....	47
3.4 - AVALIAÇÃO SÓCIO-AMBIENTAL:.....	50
3.5 - ESTUDOS LABORATORIAIS: .....	50
3.6 - ANÁLISE ESTATÍSTICA: .....	51
3.7 - ASPECTOS ÉTICOS: .....	51

4 - RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	53
5 - CONCLUSÃO.....	61
REFERENCIAIS BIBLIOGRÁFICAS.....	62
ANEXOS.....	67

# **1 – INTRODUÇÃO**

## **1.1 - ALTERAÇÕES ECOLÓGICAS E EMERGÊNCIA DE ARBOVIROSES**

Os Arbovírus são vírus RNA zoonóticos mantidos na natureza através da transmissão biológica entre hospedeiros vertebrados e vetores artrópodes hematófagos (hematofagia) tais como mosquitos, maruins, flebotomíneos e carrapatos. A emergência deles depende, além das variáveis epidemiológicas única de cada vírus, de alguns fatores como sócio-econômicos, ambientais e ecológicos. Alguns desses fatores são antropogênicos, como a expansão urbana e agrícola e o crescimento populacional, e aumentam o contato humano com os Arbovírus e seus vetores através do aumento da prevalência do vetor, da criação de novos hospedeiros ou da indução dos arbovírus a novos ciclos de manutenção. Além disso, a dinâmica vetor/hospedeiro, a geografia, o clima e estado imunológico das populações de hospedeiros desempenham um papel importante no ciclo de vida dos Arbovírus (HOLLIDGE, GONZÁLEZ-SCARANO, SOLDAN, 2010; FIGUEIREDO, 2007).

As mudanças climáticas são o fator mais significativo na emergência e reemergência de doenças por Arbovírus; pois longos períodos de tempo quente promovem um aumento da precipitação e criam condições favoráveis para o aumento da população de vetores, como os observados durante a fase quente do fenômeno *El Niño*. Estudos realizados com Arbovirus em muitas áreas da Amazônia brasileira de 1954 a 1998 pelo Instituto Evandro Chagas identificaram pelo menos 187 diferentes arbovírus que foram isoladas em um total de mais de 10.000 vezes (um recorde mundial); tão grande número de vírus é devido ao fato da região apresentar uma impressionante diversidade de artrópodes e vertebrados terrestres e arbóreos e uma infinita variedade de condições ecológicas essenciais (HOLLIDGE, GONZÁLEZ-SCARANO, SOLDAN, 2010; FIGUEIREDO, 2007; VASCONCELOS et al, 2001).

Na verdade, mais de 200 espécies diferentes de Arbovírus têm sido isolados no Brasil, e cerca de 40 delas causam doenças humanas. Eles estão amplamente distribuídos em todo mundo, representando quase 30% de todas as doenças infecciosas emergentes na última década e estão distribuídos em diversas famílias, incluindo *Togaviridae* (gênero *Alphavirus*); *Bunyaviridae* (gêneros *Nairovirus*, *Orthobunyavirus*, *Hantavirus*, *Phlebovirus* e *Tospovirus*); *Flaviviridae* (gênero *Flavivirus*); *Rhabdoviridae* (gênero *Vesiculovirus*); *Orthomyxoviridae* (gênero *Thogotovirus*); *Reoviridae* (gênero *Orbivirus*) e *Asfarviridae* (gênero *Asfarvirus*) (HOLLIDGE, GONZÁLEZ-SCARANO, SOLDAN, 2010; FIGUEIREDO, 2007).

O gênero *Alphavirus* inclui 32 espécies de vírus que podem ser classificados antigenicamente em pelo menos sete complexos e são geograficamente limitados em suas distribuições, sendo encontrados em todos os continentes. O ciclo das Alfaviroses ocorre entre insetos vetores invertebrados, comumente mosquitos, e hospedeiros reservatórios vertebrados, geralmente aves e pequenos mamíferos. Os Alfavírus que acometem os seres humanos, como o Chikungunya (Ásia e África), Mayaro (América do Sul), O'nyong-Nyong (África), Ross River (Austrália), e Sindbis (África, Europa e Ásia), podem causar uma síndrome febril aguda frequentemente associada com sintomas de poliartrite debilitante, ou uma encefalite regularmente associada aos vírus da Encefalite Equina do Leste, do Oeste e Venezuelana e restrita ao continente Americano. O risco da emergência de novos arbovirus no Brasil está relacionada com a existência de grandes cidades, migração e a construção de represas; promovendo mudanças bruscas no ecossistema, facilitando o desenvolvimento e disseminação de doenças como as Arboviroses (STEELE ET AL, 2007; HOLLIDGE, GONZÁLEZ-SCARANO, SOLDAN, 2010; FIGUEIREDO, 2007; KUHN, 2007; OLIVEIRA et al, 2006).

## 1.2 - JUSTIFICATIVA

Na Amazônia brasileira, de acordo com estudos comparativos conduzidos nos anos 1970 e 1980 em Altamira e Tucuruí, antes, durante e depois da construção da represa de Tucuruí (Figura 1), o manejo ambiental inadequado pode ter levado ao desequilíbrio da floresta, causando uma série de fenômenos, incluindo o aumento da incidência de vírus conhecidos e a emergência de novos. As represas a montante e no entorno do próprio represamento, através do acúmulo de água, geram novos habitats e nichos ecológicos, a jusante se verifica exatamente o oposto. Essas perturbações ecológicas são um meio para a criação de novos padrões de transmissão de doenças, principalmente das transmitidas por vetores como as Arboviroses. Essas doenças tem sua prevalência e distribuição influenciadas pelo aquecimento global, crescimento populacional, desmatamento, globalização, comércio de animais silvestres e pela poluição dos oceanos e rios de água doce. O resultado pode ser previsto como um transbordamento contínuo de novos agentes patogênicos compartilhada entre animais selvagens, animais domésticos e seres humanos (AGUIRRE, 2009; OLIVEIRA et al, 2006; OLIVEIRA et al, 2007).

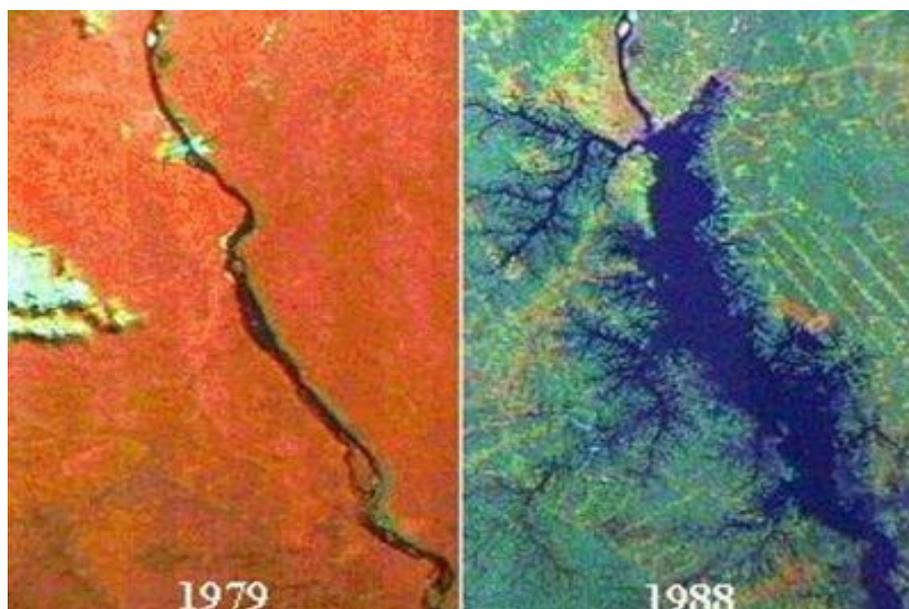


Figura 1 – Foto comparativa da região de Tucuruí antes e após a construção da U.H.E., onde observamos a mudança do ecossistema da região.

Fonte: [www.internationalrivers.org](http://www.internationalrivers.org)

Esse transbordamento é observado nas construções de usinas hidrelétricas como a de Tucuruí (Figura 2); onde ocorre a reemergência de várias doenças relacionadas a vetores como insetos e roedores; como malária e algumas Arboviroses como febre amarela, dengue e Mayaro. Com a necessidade energética do Brasil até 2030, cerca de 950 a 1250 TWh/ano, exigirá a instalação expressiva de hidrelétricas. O modelo de expansão energético para atender essa demanda é composto por 79% de hidrelétricas e 21% de termelétricas; cerca de 60% desse potencial hidrelétrico situa-se na bacia Amazônica (BRASIL, 2007; LÓPEZ, UDAETA, BURANI, 2008; SANCHES & FISCH, 2005). Com a reemergência de doenças relacionadas a vetores, os casos humanos de encefalite pelos vírus da EEE e WEE encontrados por Causey e Theiler (1958) e o estudo de Vasconcelos et al (1991) que confirma a presença do vírus WEE e afirma que até este ano não haviam estudos na região; torna relevante esta pesquisa no sentido de identificar a circulação dos vírus da EEE e WEE na região e a sua correlação com os fatores sócio-ambientais, permitindo o uso de seus resultados para análise e planejamento de estratégias de promoção e prevenção em saúde e para outros estudos na região.



Figura 2 - Mudanças antrópicas da construção da UHE de Tucuruí. Impacto ambiental provocado pelo povoamento à jusante, onde a vegetação local foi substituída por moradias.  
Fonte: [www.cidadebrasileira.br/brasilecola.com](http://www.cidadebrasileira.br/brasilecola.com)

### **1.3 - HIPÓTESES**

Este estudo pretende verificar a soroprevalência das Encefalites Equinas do Leste e Oeste na população residente nas áreas e comunidades que compõem a Reserva de Desenvolvimento Sustentável (RDS) de Alcobaça e Pucuruí-Ararão que compõem a Área de Proteção Ambiental (APA) do lago da UHE de Tucuruí. Como hipótese a ser testada será considerada hipótese nula a que não indicar presença desses Arbovírus na população local. Como hipótese alternativa será considerada a presença desses Arbovírus.

## **1.4 - OBJETIVOS**

### **1.4.1 OBJETIVO GERAL:**

- Analisar a soroprevalência dos vírus da Encefalite Equina do Leste e do Oeste em população sob influência do lago da Usina Hidrelétrica de Tucuruí.

### **1.4.2 OBJETIVO ESPECÍFICO:**

- Caracterizar os aspectos sócio-demográficos e ambientais da população estudada.
- Correlacionar os fatores sócio-demográficos e ambientais com os índices de soropositividade para os vírus Encefalite Equina do Leste e do Oeste.
- Correlacionar os vírus da Encefalite Equina do Leste e do Oeste com outros Arbovírus presentes na região.

## 2 - REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1 - HISTÓRIA DA ENCEFALITE EQUINA DO LESTE E OESTE

Registros de doenças provavelmente causadas por Alphavírus datam do século 18 e 19, quando foram registrados epidemias de encefalite fatal em eqüinos no nordeste dos EUA e surtos de artrite no sudeste Asiático. O primeiro relato claro de epidemia de encefalite vem do verão de 1831, quando 75 cavalos morreram em Massachusetts. Durante os próximos 100 anos, vários surtos de encefalite em eqüinos foram observados ao longo da costa Atlântica do EUA e nas regiões dos pampas na América do Sul; como observado em 1908 na Argentina e em 1912 no planalto central dos EUA. Entretanto, o primeiro Alfavírus isolado foi o vírus da WEE em 1930 a partir de tecidos do SNC de dois cavalos envolvidos em uma epidemia de encefalite que ocorreu no Vale de São Joaquim na Califórnia, acometendo cerca de 6000 cavalos. Já o vírus da EEE só foi isolado em 1933 em Nova Jersey e Virgínia a partir de cérebros de cavalos contaminados. As aves foram suspeitas de ser o reservatório natural pela primeira vez em 1935 durante um surto na Carolina do Norte (STEELE et al, 2007; GRIFFIN, 2007).

Apesar da suspeita de casos humanos anteriormente, nada foi comprovado até 1938 quando um surto, no nordeste dos EUA, resultou em 30 casos fatais de encefalite em crianças que vivam na mesma área de cavalos contaminados. Em 1941 o WEE foi isolado no mosquito *Cx. tarsalis* em epidemias generalizadas nas planícies do norte dos EUA e Canadá e mais tarde em outras epidemias, sendo reconhecido como o vetor principal do WEE. Em 1949 o EEE foi isolado em mosquitos *Mansonia pertubans* na Geórgia e *Cusileta melanura* na Louisiana; estudos posteriores o *Cs. melanura* mostraram uma associação consistente desse vetor com aves infectadas e o isolamento viral a partir deste mosquito levou a considerá-lo como o principal vetor do vírus da EEE na América do Norte (GRIFFIN, 2007).

Após 30 anos do seu isolamento, os vírus EEE e WEE já tinham um retrato exato do seu comportamento endêmico, vetores, hospedeiros, as doenças que produziam e dos métodos básicos de manipulação e produção. O desenvolvimento deste conhecimento ocorreu durante o mesmo período de instabilidade política e guerra, que fomentou o estabelecimento de programas de armas biológicas no EUA e em outros lugares. Esses vírus foram incorporados a esses programas tanto pelo potencial ofensivo como defensivo. O programa de guerra biológica ofensiva nos Estados Unidos foi extinto em 1969. Os contínuos esforços no âmbito do programa de defesa, em 1960 e 1970 produziram quatro vacinas para o vírus da encefalomielite: o vírus vivo atenuado (TC-83) e inativado por formalina (C84) para VEE, EEE e WEE. Embora essas vacinas sejam úteis, elas têm algumas desvantagens, e as vacinas de segunda geração estão sendo desenvolvidos (STEELE et al, 2007).

No Brasil a etiologia da encefalomielite eqüina começou a ser esclarecida a partir dos estudos de Carneiro em 1937. Na epizootia de Tatuí em 1943 foi identificado um vírus similar ao vírus da EEE dos EUA. Neste mesmo ano foi isolado em amostras nos estados de Minas Gerais, Ceará, Rio Grande do Norte e Pernambuco. Em 1945, o vírus foi isolado e identificado em amostras do cérebro de cavalos provenientes de um surto da encefalomielite ocorrido em Recife. Dois anos após, foi identificada uma terceira amostra do vírus EEE de cavalos doentes em Campo Grande. Em 1956 foi isolado um caso de encefalite na Bahia. Em 1958 o vírus foi identificado em amostras de soro humano de pessoas residentes em Cameté e Abaetetuba no Pará e, em 1960, foi isolado em macacos e camundongos sentinelas das matas circunvizinhas à cidade de Belém e em uma epizootia em eqüinos ocorrida em Bragança, no estado do Pará (BRUNO-LOBO et al, 1961).

## 2.2 - ASPECTOS VIROLÓGICOS

Em 1954 os Arbovírus foram divididos em três grupos sorológicos A, B e C, com base na reatividade cruzada na inibição por hemaglutinação (HI). Os vírus EEE, WEE e VEE constituíram o grupo A. Um segundo grupo que incluiu os vírus da dengue, encefalite de São Luís e febre amarela, formou o grupo B e os vírus não reativos foram designados do grupo C. Como todos os vírus foram classificados segundo suas propriedades fundamentais do vírion e do genoma dos vírus do grupo A, que se tornaram o gênero *Alphavirus* dentro da família *Togaviridae*, sete grandes complexos antigênicos foram identificados dentro do sorogrupo Alfavírus: o BFV, EEEV, MIDV, NDUV, SFV, VEEV e WEEV, embora alguns vírus não tenham classificação e podem formar novos complexos. O BFV, EEEV, MIDV e complexos NDUV contêm apenas um único vírus, enquanto os complexos SFV, VEEV e WEEV incluem vários vírus (GRIFFIN, 2007).

Alfavírus são vírus RNA envelopado sentido senso positivo. O vírion é esférico de aproximadamente 60 a 70 nm de diâmetro. É composto por glicoproteínas transmembrana E1 e E2, o capsídeo ou proteína (C) do nucleocapsídeo, que deriva da bicamada lipídica do hospedeiro, e uma única molécula de RNA; que é envolvida pela proteína do nucleocapsídeo para formar um revestimento esférico. A bicamada lipídica é enriquecida com colesterol e esfingolipídios, moléculas que são exigidas para a entrada e brotamento. As proteínas componentes do vírion são organizadas como uma rede icosaédrica  $T = 4$ , com 240 cópias de cada subunidade (Figura 3) (TERZIAN, 2008; STEELE et al, 2007).

Estas cópias interagem entre si para formar uma estrutura rígida. Pequenas quantidades de outra proteína associada a membrana, 6K, também são encontradas na partícula viral. As glicoproteínas formam heterodímeros que são agrupados como trímeros para formar 80 botões na superfície do virion (Figura 3) e são os principais alvos da resposta de anticorpos neutralizantes e determinantes do tropismo e da virulência. Assim, o Alfavírus

são compostos de vários revestimentos organizados de moléculas que efetivamente protegem e transmitem o RNA viral para as células do hospedeiro suscetível (TERZIAN, 2008; STEELE et al, 2007; GRIFFIN, 2007).

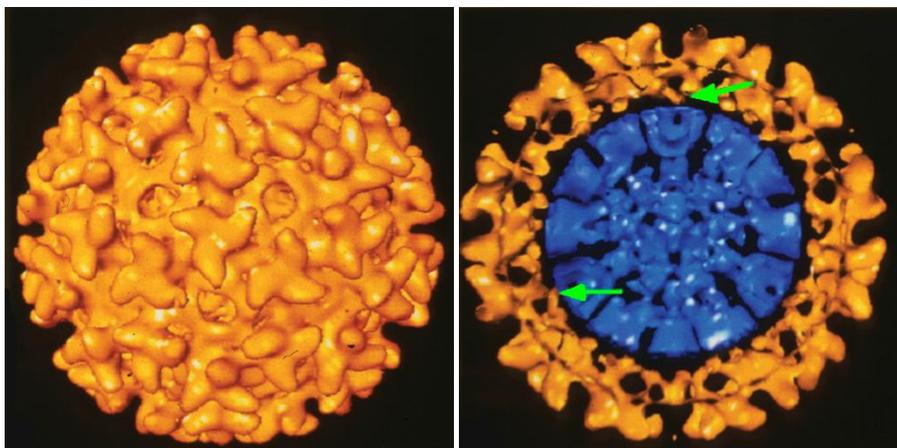


Figura 3 – Camadas do vírion. À esquerda temos uma visão da superfície do vírus mostrando em detalhes as pontas dos 80 pontos trimericos, que são dispostos em um icosaedro  $T = 4$ . À direita temos uma visão transversal que mostra os pontos da superfície externa (amarelo) e interna (azul) do nucleocapsídeo, O espaço entre os pontos e os nucleocapsídeo seria ocupado por um envelope lipídico. As setas verdes marcam pontos visíveis de interação entre o nucleocapsídeo e as pontas da glicoproteína.

Fonte: STEELE et al, 2007; pg. 249

O ciclo da infecção (Figura 5) inicia quando as glicoproteínas do vírion se ligam aos receptores na superfície celular. A ligação vírus-específico para as células é primariamente uma função da glicoproteína E2. O vírus é inicialmente localizado por pontos revestidos, em que é envolvido por uma vesícula e transportado para o compartimento endossomal no interior da célula. Na presença de pH ácido ocorre uma mudança conformacional nas glicoproteínas, ou seja, o heterodímero E1-E2 é desestabilizado e as duas proteínas se dissociam. A dissociação das proteínas resulta na exposição do peptídeo de fusão que se encontra na extremidade distal do E1 (STEELE et al, 2007; KUHN, 2007).

A fusão é uma propriedade da glicoproteína E1, que é uma proteína de fusão de classe II com homologia estrutural com a proteína E dos flavivírus. A Proteína E1 dissociada de E2, em associação com o colesterol contido nas membranas, forma trímeros E1 estáveis. Durante esta mudança conformacional, o peptídeo de fusão interna em E1 é exposto e inserido no

folheto externo da bicamada lipídica. A glicoproteína E1 tem sido relatada por ter apenas dois resíduos de aminoácidos que penetram para o lado interno da membrana, enquanto E2 tem 33 aminoácidos que interagem com o nucleocapsídeo. Essa interação demonstra que cada molécula E2 faz contatos específicos com cada proteína do capsídeo. A fusão resulta no lançamento do nucleocapsídeo para o citoplasma, onde a desmontagem do nucleocapsídeo libera o genoma de RNA viral para síntese na célula (STEELE et al, 2007; SWAYZE et al, 2011).

O RNA viral é um filamento senso positivo de cerca de 11.700 nucleotídeos que tem as características estruturais de RNA mensageiro. Os Alfavírus contêm duas regiões codificadoras de proteínas; a região 5' que codifica um polipeptídeo precursor de 220.000 Da; proteoliticamente processado para produzir os quatro componentes da RNA polimerase viral. Os genes da polimerase são seguidos por uma segunda codificação, que contém as informações que dirige a síntese das proteínas virais estruturais. Logo após a liberação do genoma viral do nucleocapsídeo, a região 5' é traduzida para produzir o RNA polimerase viral. No início da infecção, o genoma viral de entrada também é usado como um molde para a síntese de um RNA fita negativa 49S, idêntico em comprimento ao RNA viral, mas de polaridade oposta. O RNA fita negativa 49S posteriormente serve como um modelo para a síntese de RNAs genômicos adicionais. O RNA 49S é composto de uma fita simples, não segmentado, nivelado e poliadenilado. Os genomas são 11-12 kb em tamanho e são organizados com as proteínas não estruturais (nsPs) na região 5' e as proteínas estruturais na 3'. Os nsPs são traduzidos a partir do RNA genômico e das proteínas estruturais de um RNA subgenômico. Esse RNA também é usado como molde para a transcrição de um mRNA 26S subgenômico nivelado e poliadenilado (SWAYZE et al, 2011; GRIFFIN, 2007).

O RNAm 26S é traduzido para produzir um polipeptídeo precursor que é processado proteoliticamente por clivagens cotranslacional e pós-translacionais para produzir as proteínas

virais estruturais. A ordem das proteínas estruturais dentro do precursor é C-pE2-6K-E1. A Tradução das poliproteínas estruturais são reforçadas devido à presença de uma estrutura secundária no mRNA subgenômico entre os resíduos 77 e 139. As cinco potenciais proteínas estruturais (C, E3, E2, 6K, e E1) são codificados como uma poliproteína, que é processado pelo hospedeiro. A porção N-terminal de C é conservado e presume-se que se ligam ao RNA viral genômico, enquanto a porção C-terminal interage com a extremidade citoplasmática de E2 e com outras cópias da proteína C para formar o nucleocapsídeo. A proteína E3 serve como uma seqüência de sinais para E2, que é clivado a partir do complexo trans-Golgi, e muitas vezes é lançado a partir da superfície da célula infectada. A glicoproteína E2 é uma proteína transmembrana que possui dois ou três sítios de glicosilação N-ligados e contém os epitopos mais importante para anticorpos neutralizantes. A proteína 6K serve como um peptídeo sinal para E1; que tem um ou dois sítios de glicosilação N-ligados, um curto (um ou dois resíduos) e uma extremida intracitoplasmática posicionalmente conservada porção N-terminal que serve como o peptídeo de fusão para a entrada do virion na célula. Padrões de conteúdo lipídico e glicosilação são determinados pela célula hospedeira. A porção 5 'do genoma codifica as quatro nsPs que atuam na replicação do RNA viral e na produção do RNA subgenômico (STEELE et al, 2007; KUHN, 2007; TERZIAN, 2008).

Com a auto-clivagem da proteína do nucleocapsídeo, a nova poliproteína N-terminal agora contém uma seqüência de sinais para a translocação da seqüência pE2 através da membrana ER. As seqüências de sinais adicionais estão presentes no C-terminal de E2, permitindo a translocação de 6K, e no C-terminal de 6K, permitindo a translocação de E1. As proteínas E2, E1 e 6K são proteínas transmembrana, enquanto o E3 é liberado da maioria das partículas Alfavírus seguido de clivagens de seu precursor pE2. Essas clivagens ocorrem logo após as glicoproteínas deixarem o aparelho de Golgi resultando em E2 maduro e E3. A fase final do ciclo de vida do vírus ocorre quando os pontos de maturação assumem uma

orientação na membrana plasmática, deixando E2 e E1 expostos a superfície externa da célula. Em células de vertebrados, a montagem final de partículas de vírus acontece por brotamento exclusivamente na membrana plasmática, e em células de artrópodes, a brotação ocorre também em membranas intracelulares (STEELE et al, 2007; KUHN, 2007).

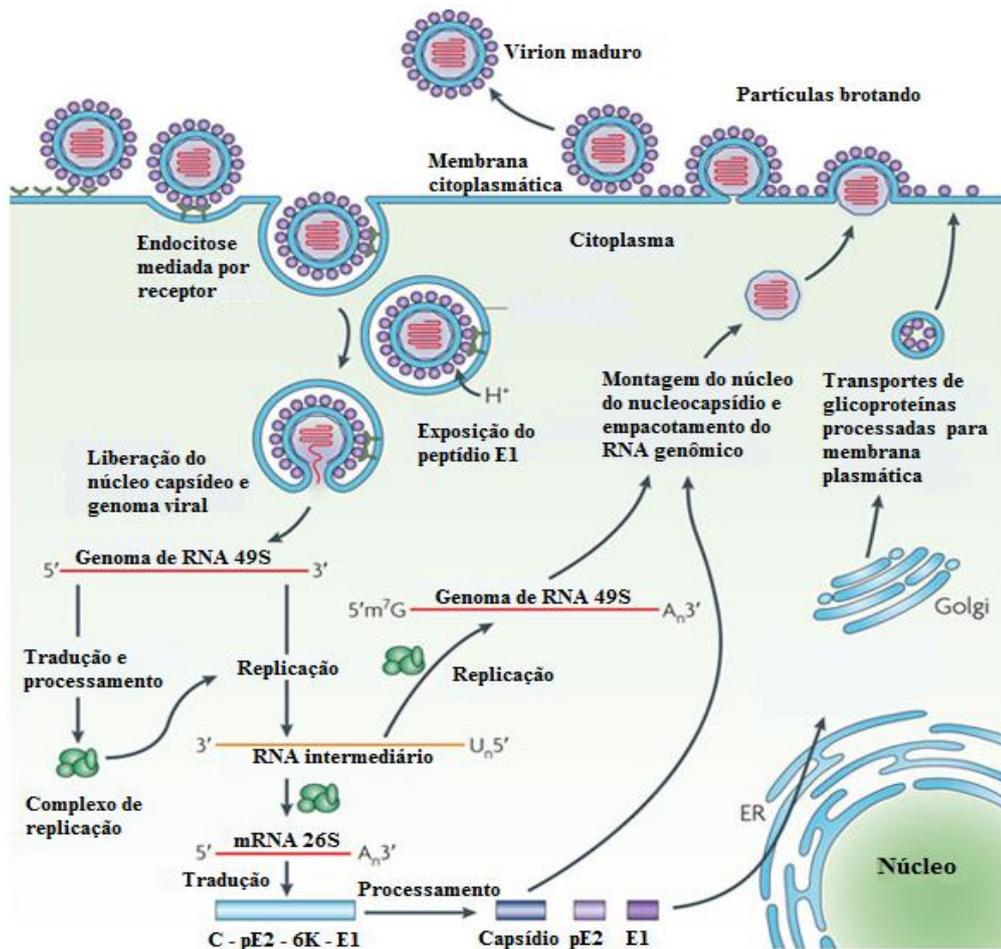


Figura 4 – O ciclo de vida dos Alfvírus. O vírus penetra na célula por endocitose. Após a endocitose, o ambiente ácido do endossomo desencadeia mudanças conformacionais no envelope viral, que expõem o peptídeo E1, que medeia a fusão da membrana celular vírus-hospedeiro. Isso permite a liberação no citoplasma do nucleocapsídeo e do genoma viral. Dois precursores das proteínas não-estruturais são traduzidos a partir do mRNA viral, e a clivagem destes precursores gera nsP1-nsP4. A nsP1 está envolvida na síntese do RNA viral e tem propriedades RNA nivelamento, a nsP2 apresenta a RNA helicase, RNA trifosfatase e atividades de proteinase e está envolvida no desligamento da transcrição da célula hospedeira, a nsP3 faz parte da unidade replicase e a nsP4 é a RNA polimerase. Estas proteínas se reúnem para formar o complexo de replicação viral, que sintetiza um RNA de fita negativa intermediário. Isso serve como modelo para a síntese dos RNAs subgenômico (26S) e genômico (49S). O RNA subgenômico conduz a expressão da poliproteína precursora C-PE2-6K-E1. O capsídeo (C) é liberado, e as glicoproteínas E1 e pE2 são gerados pela transformação. pE2 e E1 associados no Golgi e são exportados para a membrana plasmática, onde pE2 é clivada para E2 (que está envolvido na ligação ao receptor) e E3 (que medeia dobramento apropriado de pE2 e sua subsequente associação com E1). A montagem viral é promovida pela ligação do nucleocapsídeo viral ao RNA viral eo recrutamento das glicoproteínas do envelope membrana-associados. A montagem da partícula Alfvírus, com um núcleo icosaédrico, botões na membrana celular.

Fonte: Adaptado SCHWARTZ&ALBERT, 2010

### **2.3 - PATOGÊNESE E MANIFESTAÇÕES CLÍNICAS**

A maioria dos indivíduos infectados com Arbovírus desenvolve uma infecção assintomática, embora a proporção exata dos casos de doença neuroinvasiva a infecção assintomática varie de acordo com o vírus. Essas infecções ocorrem principalmente em crianças e adultos jovens. É importante lembrar que os indivíduos infectados de forma assintomática ainda podem transmitir a infecção para outras pessoas através de transfusão de sangue ou transplante de órgãos. Os indivíduos com EEE que não são assintomáticos desenvolvem uma síndrome gripal sem envolvimento do SNC que é a apresentação clínica mais comum e geralmente se desenvolve após um período de incubação de 3 a 8 dias; cursando com febre de início abrupto, dor de cabeça, mialgias, mal-estar e fadiga que podem durar de 1 a 2 semanas, mas muitos relatam dor de cabeça e mal-estar residual por vários meses após a convalescência. Nos casos de encefalite, estes sintomas são seguidos pelo aparecimento de dor de cabeça forte, vômitos, agitação, irritabilidade, convulsões, obnubilação e coma. Ainda podem apresentar rigidez de nuca e sinais focais, incluindo paralisia de nervos cranianos e hemiparesias. As lesões graves no cérebro incluem edema, congestão das meninges e hemorragia. A morte ocorre geralmente dentro de 2 a 10 dias após o início da encefalite (DAVIS, BECKHAM & TYLER, 2008; GRIFFIN, 2007; STEELE&TWENHAFEL, 2010).

O exame do LCR é quase sempre anormal. Os leucócitos polimorfonucleares são freqüentemente abundantes no início da doença com uma mudança para células mononucleares ao longo dos primeiros dias da doença. Hiponatremia e leucocitose ocorre em 60% dos casos. A presença de glóbulos vermelhos ou xantocromia não é incomum. Os níveis de proteína do LCR estão aumentadas, enquanto a glicose é abaixo do normal. Os achados no encefalograma são relativamente inespecíficos, geralmente mostrando desaceleração. A tomografia computadorizada pode ser normal ou mostrar apenas o edema. A ressonância

magnética é freqüentemente anormal, com lesões focais mais comumente observadas no tálamo, gânglios basais e tronco cerebral. Os que apresentam alta contagem de células brancas a evolução é pior. A recuperação é mais provável em indivíduos que têm um período prodrômico prolongado (5 a 7 dias) e não desenvolvem coma. Sequelas, incluindo a paralisia, convulsões e retardo mental, são comuns, com 35% a 80% dos sobreviventes, especialmente as crianças, com comprometimento neurológico significativo a longo prazo (DAVIS, BECKHAM & TYLER, 2008; GRIFFIN, 2007)

O vírus WEE provoca encefalite com sinais e sintomas semelhantes aos do EEE. Entretanto, a maioria desenvolve uma síndrome gripal como na EEE que dura cerca de uma semana. A transmissão pode ocorrer através de aerossóis, bem como por mosquitos. Um período prodrômico de febre de 3 a 5 dias e dor de cabeça podendo evoluir para agitação, tremores, irritabilidade, rigidez nuchal, fotofobia e alteração do estado mental. Crianças geralmente apresentam rigidez, convulsões e um abaulamento da fontanela. A transmissão transplacentária resulta da infecção perinatal, manifestando-se na primeira semana de vida com febre, perda de apetite e convulsões. Os neutrófilos estão presentes no início da doença e células mononucleares posteriormente. Em crianças com menos de 1 ano de idade, aproximadamente 60% dos sobreviventes têm danos cerebrais e, em alguns, a doença é progressiva. Os problemas mais comuns são retardo mental associado a tetraplegia, espasticidade, convulsões recorrentes, atrofia cortical, dilatação ventricular e calcificações intracranianas. Em indivíduos mais velhos, a recuperação é geralmente rápida, com remissão dos sinais e sintomas dentro de 5 a 10 dias, e as seqüelas são menos comuns. Ocasionalmente, em lactentes e crianças, existe evidência patológica de doença progressiva consistentes com infecção persistente. Indivíduos que sobrevivem meses até anos após o início da encefalite (muitas vezes com doença progressiva) podem ter lesões císticas, gliose e desmielinização com áreas de inflamação mononuclear ativa (STEELE et al, 2007; GRIFFIN, 2007).

Os achados histopatológicos dos casos fatais de EEE demonstra uma meningoencefalite difusa com destruição neuronal disseminada, infiltrados perivasculares com polimorfonucleares, assim como leucócitos mononucleares e vasculite com oclusão de vasos no córtex, gânglios da base e tronco cerebral. A medula espinhal é freqüentemente poupada. O antígeno viral é localizado em neurônios e a morte neuronal é marcada pela dilatação do citoplasma e picnose nuclear. Apoptose das células gliais e células inflamatórias são freqüentemente encontrados nas regiões de neurônios afetados. Os achados patológicos dos casos agudos de WEE mostram leptomeningite e infiltrados perivascular, com leucócitos polimorfonucleares nos primeiros casos e, linfócitos, células plasmáticas e macrófagos, às vezes mais tarde. Esta inflamação é acompanhada por hiperplasia endotelial, petéquias e nódulos gliais nas áreas de degeneração neuronal. As lesões são encontradas principalmente nos gânglios basais, tronco cerebral, córtex cerebral, cerebelo e medula espinhal. Além disso, as áreas são consideradas de necrose focal e desmielinização, particularmente na substância branca subcortical e gânglios da base (GRIFFIN, 2007; STEELE&TWENHAFEL, 2010).

O EEEV também causa doença em várias aves e mamíferos, como: cavalos, ovelhas, veados, cães, porcos, faisões, grou, avestruzes, perus e pingüins. Os cavalos desenvolvem encefalite com sinais de depressão, incoordenação motora e prostração; com taxa de letalidade de 80% a 90%. As aves variam na sua suscetibilidade, algumas desenvolvem uma doença viscerotópica fatal com necrose multifocal no coração, rim pâncreas e depleção linfóide no timo e baço. Faisões desenvolvem encefalite com 50% a 70% de mortalidade. No entanto, muitas aves não apresentam nenhuma morbidade ou mortalidade, apesar de uma viremia prolongada. Estudos laboratoriais em macacos, ratos, cobaias e hamsters confirmam a neurovirulência do EEEV para mamíferos. O EEEV pode iniciar a infecção do SNC em animais experimentais por infectar células epiteliais do plexo coróide. Os camundongos jovens apresentam dano neuronal extenso e morte rápida. Os ratos mais velhos tornaram-se

relativamente resistentes a inoculações periféricas do vírus, mas não a inoculação intracerebral. Os hamsters desenvolvem encefalite fatal, hepatite e infecção dos órgãos linfáticos caracterizada por vasculite extensa e micro-hemorragias (GRIFFIN, 2007).

Já o WEEV foi reconhecido pela primeira vez como uma doença neurológica de eqüinos caracterizada por febre, incoordenação motora, sonolência, e a anorexia levando a prostração, coma e morte em aproximadamente 40% dos animais afetados. Em avestruzes causa uma doença muitas vezes fatal, caracterizada por ataxia, paralisia e tremores. Além disso, infecta uma grande variedade de pássaros, incluindo os pardais, tentilhões, os melros, pomba luto, faisões, cowbirds, andorinhas e galinhas; esta última é frequentemente utilizada como sentinela, pois desenvolvem infecção assintomática. Os mamíferos são menos freqüentemente envolvidos, mas os morcegos, lebres e esquilos podem ser infectados. Os camundongos recém-nascidos infectados experimentalmente morrem 48 horas depois da infecção, com a envolvimento músculo esquelético, da cartilagem e da medula óssea. Em ratos recém-desmamados, após a inoculação intracerebral, ocorre uma infecção do plexo coróide e epêndima, com subsequente disseminação para os neurônios e células gliais do cérebro, cerebelo, tronco cerebral, e os neurônios motores na medula espinhal. Após a inoculação periférica, o WEEV replica nos músculos, causando uma miocardite necrótica e, ocasionalmente, se espalha para o SNC. A infecção de hamsters com cepas relativamente virulentas do WEEV leva a mudanças neuropatológicas progressiva composta por inflamação perivascular, microcavitação e hipertrofia astrocitária. Macacos desenvolvem febre e encefalite, com infecção dos neurônios e inflamação mononuclear (STEELE et al, 2007).

## **2.4 - ECOEPIDEMIOLOGIA**

### **2.4.1 - Encefalite Equina do Leste**

O EEEV, pertencente a um dos sete complexos antigênicos do gênero *Alphavirus*, família *Togaviridae*, é causa de doenças neurológicas graves em seres humanos na América do Norte e em eqüídeos nas Américas. Originalmente dividido em variedade norte e sulamericana, apresentando quatro linhagens, o grupo I causa a maioria das doenças em seres humanos e circula na América do Norte e Caribe; enquanto os grupos IIA, IIB, III que causam doenças principalmente em eqüinos na América Central e do Sul. Essas linhagens são distinguíveis pelo seguinte: antigenicidade (4 subtipos distintos), genética (20% de divergência de seqüência nt -25%), filogenética e padrões evolutivos, epidemiologia, patogenicidade humana, e distribuição geográfica. As diferenças antigênicas entre as cepas da América do Norte e do Sul podem ser distinguidas pela reatividade com mAb para a glicoproteína E1. As variedades sulamericanas abrangem: uma a bacia do rio Amazonas, uma as costas da América do Sul e Central e a outra o Brasil. Embora a ecologia dos vetores e hospedeiros vertebrados para NA EEEV seja bem definida, a ecologia para o SA EEEV permanece insuficientemente caracterizada, o que limita a nossa compreensão da divergência desses vírus (DAVIS, BECKHAM & TYLER; GARMASHOVA et al, 2007; WEAVER et al, 2008).

Na América do Norte, a maioria dos casos estão localizados a partir de New Hampshire para o sul ao longo da costa do Atlântico da costa do golfo do Texas, no Caribe e América Central e na região de Nova Escócia, Canadá; normalmente dentro de cinco milhas de terras de pântano ou brejo que ajudem a manter o ciclo enzoótico. Focos terrestres são observados nos Grandes Lagos e Dakota do Sul. Os surtos acometendo eqüinos, faisão e humanos costuma ocorrer no verão. Nos últimos seis anos ressurgiu no nordeste dos Estados Unidos e resultou em 26 casos humanos de infecção e nove mortes. Na América do Sul, o

EEEV é enzoótico ao longo da costa norte e leste e na bacia do rio Amazonas. Na América do Norte, o ciclo enzoótico primário é mantido em pântanos sombreados onde o vetor é o mosquito ornitófilo *Cs. melanura*. O vetor enzoótico no Caribe é, provavelmente, *Cx. taeniopus*. Na América do Sul e Central do ciclo enzoótico é mantida em florestas úmidas onde *Cx. (Melanoconion) spp.* parecem ser os principais vetores. Várias espécies podem servir como vetores ponte para a transmissão para mamíferos suscetíveis, como por exemplo: *Ochlerotatus canadensis*, *Ochlerotatus sollicitans*, *Coquillettidia perturbans* e várias espécies de *Aedes*. (Figura 6) (ARMSTRONG&ANDREADIS, 2010; DAVIS, BECKHAM & TYLER, 2008).

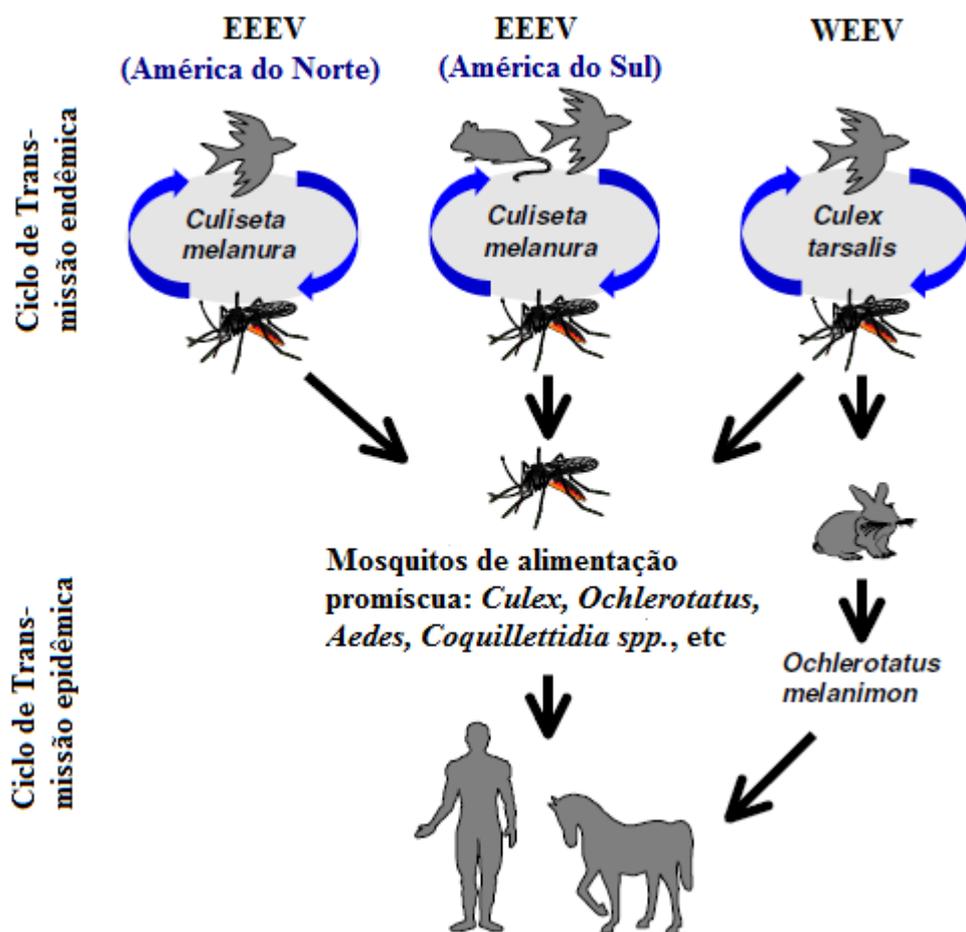


Figura 5 - Esquema do ciclo de transmissão endêmica e epidêmica dos EEEV e WEEV. Fonte: Adaptado PFEFFER&DOBLER, 2010, pág. 3

As aves são o hospedeiro primário e muitas espécies são suscetíveis à infecção, algumas permanecem assintomáticas apesar da viremia prolongada. As espécies de amplificação para EEEV na América do Norte são aves aquáticas, passáros migratórios passeriformes e estorninhos. As aves jovens são provavelmente importantes para a amplificação do vírus, pois são mais suscetíveis à infecção, têm uma viremia prolongada e menos defensiva em relação aos mosquitos. Uma ampla variedade de aves silvestres parece ser susceptível. No estado do Pará e Amapá foram achados anticorpos em *Ramphocelus carbo*, *Thamnophilus aethiops* e *Phlegopsis nigromaculata*. Também foi detectado anticorpos em algumas aves migratórias como *Columbina talpacoti*, *Thraupis palmarum*, *Sporophila caerulescen* e *Machetornis rixosus*. Na América Central e América do Sul, roedores que habitam florestas, morcegos e marsupiais são frequentemente infectados e podem fornecer um reservatório adicional, mas estes ciclos de transmissão não estão bem caracterizados. Infecção de répteis e anfíbios também é provável (DAVIS, BECKHAM & TYLER, 2008; SILVA, 2010; SANTANA, 2010).

Sendo a mais virulenta das encefalítes por alphavírus, o EEEV provoca uma alta taxa de mortalidade. Crianças menores de 10 anos de idade são mais suscetíveis, com 1 em cada 8 infecções em crianças, resultando em encefalite em comparação com um caso de encefalite em 23 infecções em adultos. Casos de encefalite equina são geralmente a primeira indicação de um surto. Na ausência de imunização, epizootias aparecem aproximadamente a cada 5 a 10 anos e estão associadas a chuvas fortes e temperaturas de água mais quente que aumenta a população de mosquitos vetores de enzootias e epizootias. A taxa de letalidade foi de 60% para 70% em estudos anteriores e 30% para 40% em estudos mais recentes, com as taxas mais elevadas em crianças e idosos. Na parte norte da América do Norte, os casos humanos e equinos de EEE ocorrem entre julho e outubro, enquanto que os casos região sul podem

ocorrer durante todo o ano. No Caribe, os focos parecem estar ligadas à introdução do vírus por pássaros migratórios do sul (GRIFFIN, 2007).

#### **2.4.2 - Encefalite Equina do Oeste**

O WEEV é amplamente distribuída nas planícies do Oeste e nos vales dos Estados Unidos, Canadá e na América Latina. Na América do Norte, WEEV é mantida em um ciclo endêmico envolvendo aves domésticas e passeriformes (particularmente, passarinhos e pardais) e *Cx. tarsalis*, um mosquito bem adaptado às áreas de agricultura irrigada. Isolamentos ocasionais têm sido feitos de *Ae. melanimon* e *Ae. dorsalis*, também vetores competentes. Na amazônia, seus vetores são tanto diurnos, *Aedes fulvus*, como noturnos, *Cx. portesi* e *Cx. pedroi*. Inquérito sorológico e isolamento do vírus fornecem evidências da infecção natural em galinhas, faisões, roedores, coelhos, ungulados, tartarugas e cobras. Em algumas áreas da América do Sul, a maioria dos mosquitos a partir do qual foi isolado WEEV alimentam-se principalmente de mamíferos e os anticorpos são comuns em pequenos mamíferos, como ratos e coelhos, enquanto que em outras áreas, os anticorpos são encontrados principalmente em aves. O mecanismo de hibernação do WEEV em áreas endêmicas, é obscuro. A persistência intersazonal pode ocorrer em pântanos de água salgada, talvez por hibernação em adultos. (Figura 6) (VASCONCELOS et al, 1991; WEAVER et al, 2008).

No oeste dos Estados Unidos, o WEEV tem causado epidemias de encefalite em humanos, cavalos e avestruzes, mas a taxa de letalidade em humanos é de 10%, 20 a 40% em cavalos e 10% em avestruzes, sendo menor que a da EEE. O risco aumentado está associado com residência no meio rural. Na América do Norte, os casos são sazonais com o maior números em julho e agosto. Em crianças mais velhas e adultos, os homens são duas a três vezes mais propensos a desenvolver a doença do que as mulheres. A taxa estimada de casos de infecção é de 1:58 em crianças acima de 5 anos e de 1:1150 em adultos. Doença

cl clinicamente aparente é mais comum em pessoas muito jovens e em pessoas com mais de 50. Doença grave, convulsões, encefalites fatais e seqüelas significativas são mais prováveis de ocorrer em bebês e em crianças pequenas. A taxa de letalidade geral é de 3%, mas sobe para 8% naqueles com mais de 50. A soroprevalência em humanos foi de 34% nas zonas rurais da Califórnia na endemia de WEEV em 1960 e de 1,3% a 2,6% em áreas similares de 1993 à 1995. Uma média de 34 casos humanos de WEE ocorreram por ano nos Estados Unidos de 1955 a 1984, mas vem caindo na freqüência desde então. A ausência de doença humana significativa durante os surtos de eqüinos WEE na América do Sul pode estar relacionada com os hábitos alimentares do vetor ou a uma diferença de virulência das cepas de WEEV sulamericanas para humanos e cavalos (DAVIS, BECKHAM & TYLER, 2008).

Periodicamente, grandes, muitas vezes generalizadas, epidemias de encefalite eqüina tem ocorrido a partir de meados de junho até final de setembro na América do Norte, com repercussões significativas para a população humana. Estes surtos estão relacionados com o aumento da densidade populacional do *Cx. tarsalis* na região. Grandes epizootias em eqüinos do WEEV são separados por períodos de silêncio sem atividade aparente do WEEV. Normalmente, em um período epidêmico os casos eqüinos aparecem antes dos humanos. Grandes epizootias ocorreram a cada 2 a 3 anos nos Estados Unidos de 1931 a 1952. Estudos de cepas de diferentes virulências e enzoóticas na América do Sul sugerem pela primeira vez que cepas epizooticas surgem de cepas enzoóticas não patogênicas. A análise da seqüência dos vírus encontrados no foco inicial da epizootia de WEE em 1982 na Argentina, indicando que o vírus enzoótico foi a fonte de uma variante virulenta, que surgiu por mutação ou seleção para causar a epizootia. O vetor de epizootia na América do Sul é *Ae. albifasciatus* e os coelhos podem servir como hospedeiro amplificador (WEAVER et al, 2008; GRIFFIN, 2007).

O WEEV tem quatro grandes linhagens, duas na América do Sul e duas amplamente distribuída na América do Norte e do Sul e no Caribe. Um deles foi isolado durante a epizootia de 1982 à 1983 na Argentina, um segundo está relacionado à cepa McMillan encontrados na América do Norte e em Cuba de 1930 a 1972, um terceiro foi encontrado na mesma região de 1964 a 1993 e um quarto encontrado no Brasil e na Argentina. Dentro da Califórnia, evoluindo separadamente, foram identificadas linhagens no Vale Central e na parte sul do estado (DAVIS, BECKHAM & TYLER, 2008; GRIFFIN, 2007).

Embora WEEV seja o primeiro arbovírus isolado na América (1930), os casos de doenças humanas são raros. A atividade do WEEV ocorre principalmente no oeste e meio-oeste dos EUA e no oeste do Canadá. Houve 639 casos humanos notificados pelo CDC desde 1964, mas somente 5 casos confirmados nos EUA nos últimos 20 anos e nenhum desde um único caso em Minnesota em 1999. O EEEV não mostrou a mesma tendência decrescente de incidência. É possível que as mudanças ecológicas únicas para o ciclo de transmissão WEEV poderiam explicar esta discrepância. Uma dessas possibilidades é a queda na utilização de eqüídeos nas fazendas os EUA durante o século passado, coincidindo com a industrialização da agricultura. No entanto, eqüídeos não são considerados hospedeiros de amplificação, desse modo a abundância não deverá afetar a exposição humana (WEAVER et al, 2008).

Outras possíveis explicações para o declínio da exposição humana são as tendências sociais que limitam a exposição do mosquito, como o aumento do uso de ar condicionado. Possíveis fatores ecológicos, como um declínio na abundância ou uma mudança na distribuição dos mosquitos vetores *Cx. tarsalis* e *Ae. dorsalis* também devem ser avaliados, assim como qualquer componente do ciclo de transmissão enzoótica pode limitar o número de casos de contágio. Além disso, a parte ocidental dos EUA, particularmente no Colorado e Califórnia, tiveram secas no final do século 20 e isso pode ter contribuído para uma redução na transmissão WEEV (WEAVER et al, 2008; DAVIS, BECKHAM & TYLER, 2008).

## 2.5 - DIAGNÓSTICO

As encefalites causadas por Arbovírus comumente são diagnosticadas através de sorologia utilizando amostras de sangue ou LCR. Em infecções agudas, os anticorpos IgM podem ser detectados por ELISA. Para muitos arbovírus, mais de 50% dos pacientes com doença neuroinvasiva terá anticorpos IgM presentes no momento da internação e mais de 90% terá o anticorpo após uma semana de sintomas. O diagnóstico do vírus envolvido pode exigir a execução de testes de ELISA contra vários vírus. O vírus agressor geralmente é aquele com o maior título, embora as variações entre os métodos para revestimento de placas de ELISA, e outros aspectos técnicos de execução do ensaio torne a conclusão relativa em vez de absoluta. Outros testes também podem ser utilizados para detecção de anticorpos para Arbovírus, como: inibição da hemaglutinação, PCR com transcriptase reversa, fixação de complemento, imunofluorescência indireta e testes de neutralização. Contudo, esses teste só podem ser realizadas em laboratórios de referência qualificados porque requerem o uso de vírus vivos em condições de confinamento adequadas com a biossegurança (DAVIS, BECKHAM & TYLER, 2008; KANG et al, 2010).

O diagnóstico de uma infecção específica por arbovírus usando estes testes geralmente é estabelecido pela detecção de anticorpos IgM ou um aumento de quatro vezes nos títulos de anticorpos IgG entre os níveis séricos na fase aguda e convalescente. No entanto, os anticorpos de uma infecção por arbovírus persistem por toda a vida, assim a simples presença de anticorpos IgG na ausência de um título elevado ou anticorpos IgM podem simplesmente ser um indicativo da exposição passada ao invés de infecção aguda. Em alguns casos a determinação sérica de anticorpos de IgG e IgM podem ser necessárias para diferenciar entre infecção recente e antiga. Contudo, o teste diagnóstico padrão-ouro para muitos Arbovírus, como os da EEE e WEE, é o isolamento viral. Ele não é realizado rotineiramente, pois a viremia em humanos geralmente tem títulos baixos e é determinada por anticorpos IgM.

Assim, para a maioria dos pacientes, o vírus raramente é isolado no sangue ou LCR e geralmente não é detectada por PCR do sangue. No entanto, cada método tem suas desvantagens: testes sorológicos têm o limite de reação cruzada, e isolamento do vírus é demorado e requer de biossegurança de nível 3 de contenção (DAVIS, BECKHAM & TYLER, 2008; KANG et al, 2010).

KANG et al (2010) relatam vários estudos para testes diagnósticos de WEEV e EEEV, como o de Hull et al, que desenvolveu um duplex em tempo real de RT-PCR para EEEV e vírus São Luis; o de Carrera et al, que desenvolveu um múltiplo de RT-PCR para 13 arbovírus; o de Eshoo, que desenvolveu um ensaio de RT-PCR para a detecção de alfavírus; o de Pässler et al, que desenvolveu uma técnica de detecção para alfavírus baseados em anticorpos; e Lambert et al, que desenvolveu um RT-PCR e um TaqMan RT-PCR para WEEV e EEEV. Chegando a conclusão de que nenhum dos métodos acima estava disponível para a detecção e distinção de WEEV e EEEV em uma única reação. Com isso, ele desenvolveu um sistema duplex em tempo real de RT-PCR para a detecção de WEEV e EEEV ao mesmo tempo. Usando outras encefalites por vírus RNA (por exemplo, DEN, CHIK, TBE e JEV) como modelo, não detectou sinais de reação cruzada, demonstrando a especificidade do sistema duplex. Além disso, comparando o sistema duplex de RT-PCR com o isolamento do vírus, o "padrão ouro" no diagnóstico do vírus, houve uma maior sensibilidade no sistema duplex; sendo então uma nova ferramenta para a detecção altamente sensível e específica da infecção por WEEV e EEEV.

## 2.2 - ALTERAÇÕES AMBIENTAIS E SAÚDE HUMANA

As mudanças climáticas podem ser entendidas como qualquer mudança no clima ao longo dos anos, devido à variabilidade natural ou como resultado da atividade humana. O Painel Intergovernamental sobre Mudanças Climáticas divulgou que há 90% de chance do aquecimento global observado nos últimos 50 anos ter sido causado pela atividade humana, através do aumento das emissões de gases de efeito estufa. Essas mudanças refletem o impacto de processos socioeconômicos e culturais, como o crescimento populacional, a urbanização, a industrialização e o aumento do consumo de recursos naturais e da demanda sobre os ciclos biogeoquímicos. Alterações nos padrões de temperatura e precipitação acarretam necessariamente em mudanças de composição e localização de biomas; mudanças nas práticas agrícolas e mudanças nos ciclo de vida de mosquitos, que se tornam mais freqüentes nos períodos chuvosos e quentes e dependem do acúmulo das águas das chuvas no solo e em recipientes para multiplicar seus criadores. (BRASIL, 2008; VIANNA, 2000).

A variabilidade climática possui um ritmo pendular com a alternância de estações quentes e frias nas zonas temperadas, e secas e úmidas nas zonas tropicais; contudo, há certos períodos nos quais se observa uma ruptura desse ritmo. Em escala inter-anual e mundial, pelos fenômenos *El Niño* (fase quente) e *La Niña* (fase fria) que provocam um aquecimento e um subsequente resfriamento que podem durar de 12 a 18 meses. No Brasil, ocorre um aumento da precipitação na região Sul, particularmente durante a primavera do primeiro ano e no fim do outono e início do inverno do segundo ano. O norte e o leste da Amazônia, bem como o nordeste do Brasil, são afetados pela diminuição da precipitação, principalmente no segundo ano, entre fevereiro e maio, quando se tem a estação chuvosa do semi-árido. O Sudeste do Brasil apresenta temperaturas mais altas, tornando o inverno mais ameno. Nas demais regiões do país, os efeitos são menos pronunciados e variam de um episódio para

outro. Uma visão geral do que ocorre sobre o Brasil e no continente sul-americano durante o El Niño e La Niña pode ser observada na Figura 7 (AGUIRRE, 2009; BRASIL, 2008).

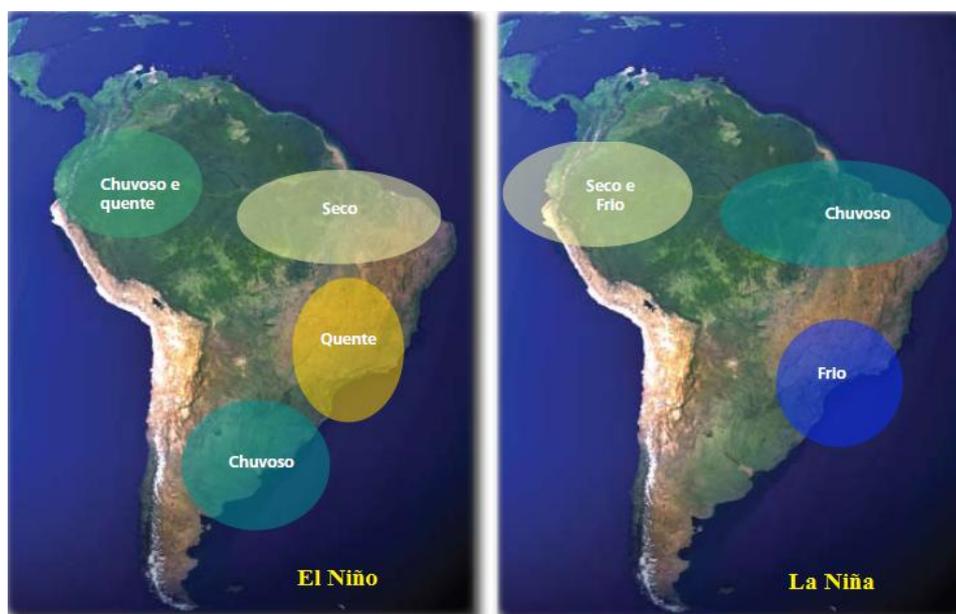


Figura 6 - Impactos do El Niño e da La Niña sobre a América do Sul

Fonte: Brasil, 2008; pág.12.

Essas mudanças climáticas introduzem grandes flutuações climáticas sazonais que podem produzir impactos sobre a saúde humana por diferentes vias. De forma direta através das ondas de calor ou por outros eventos extremos como furacões e inundações; alterando a dinâmica das doenças vetoriais como, por exemplo, a maior incidência da dengue no verão e da malária na Amazônia durante o período de estiagem, e a dinâmica das doenças de veiculação hídrica, como a leptospirose, as hepatites virais, as doenças diarréicas, etc. De forma indireta através de alterações no ambiente como a alteração de ecossistemas e de ciclos biogeoquímicos, que podem aumentar a incidência de doenças infecciosas, mas também doenças não-transmissíveis, que incluem a desnutrição. Essa vulnerabilidade aos problemas climáticos aumenta quando combinada com fatores como o crescimento populacional, a pobreza e a degradação ambiental. Alguns modelos são utilizados para concatenar processos climáticos com eventos de saúde, como observado na figura 8 (AGUIRRE, 2009; BRASIL, 2008).

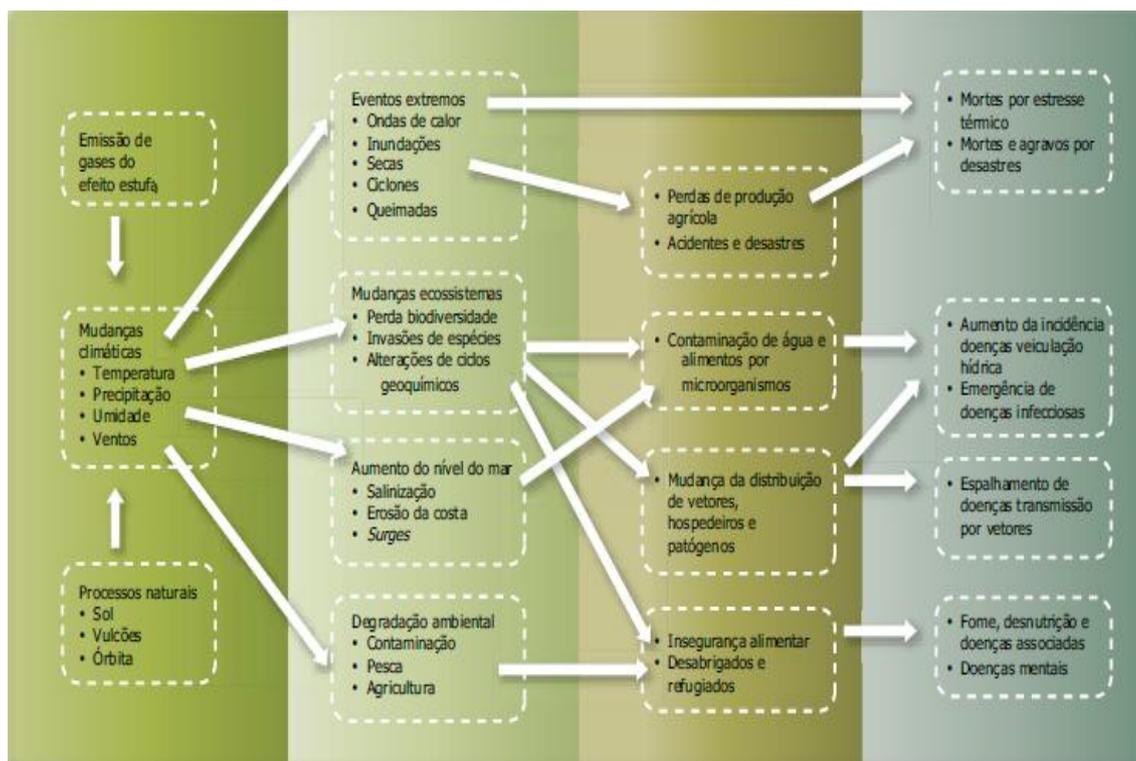


Figura 7 - Possíveis caminhos dos efeitos das mudanças climáticas sobre a saúde.

Fonte: Brasil, 2008; pág. 20.

A relação entre variações climáticas de curta duração e a ocorrência de doenças infecciosas, especialmente Arboviroses têm demonstrado a associação de surtos de dengue com o ciclo ENSO. Essas alterações climáticas afetam o potencial de incidência, transmissão sazonal, e o alcance geográfico de várias doenças transmitidas por vetores. Estas doenças incluem a malária, dengue e febre amarela (todas causadas por mosquitos), vários tipos de encefalite viral como WEE e EEE, esquistossomose, leishmaniose, doenças infecciosas de Lyme e da oncocercose. Essas mudanças climáticas também afetam as repostas humanas, que estão diretamente relacionadas a variáveis como idade, perfil de saúde, resistência fisiológica e condições sociais. (BRASIL, 2008; BULCÃO, 2006; HALES, WOODRUFF & MCMICHAEL, 2006).

As Arboviroses são limitadas por variáveis ambientais como, temperatura, umidade, padrões de uso do solo e de vegetação; interferindo no ciclo de vida dos vetores, assim como dos reservatórios e hospedeiros que participam da cadeia de transmissão de doenças, esta fortemente relacionada à dinâmica ambiental dos ecossistemas onde estes vivem. Isso favorece a propagação dos reservatórios e a circulação da infecção. Além dos fatores ambientais (vegetação, clima e hidrologia), outros fatores influenciam a dinâmica das Arboviroses, como: os sócio-demográficos (migrações e densidade populacional); os biológicos (ciclo vital dos insetos vetores de agentes infecciosos) e os médico-sociais (estado imunológico da população; efetividade dos sistemas locais de saúde e dos programas específicos de controle de doenças, etc) (DONALISIO et al, 2008; BRASIL, 2008).

Os seres humanos são expostos a Arbovírus quando invadem ambientes rurais ou quando vetores trazem o vírus para ambientes peridomiciliares. Frequentemente esses vírus persistem em níveis de baixa manutenção ou tênue até a mudança em um ou mais fatores que facilitem a amplificação rápida e generalizada. Essa amplificação é comumente relacionada à construção de represas e usinas hidrelétricas onde as transformações sócio-econômicas e demográficas ocorrem simultaneamente aos impactos ambientais. Uma das principais Arboviroses é dengue, considerada a principal doença reemergente nos países tropicais e subtropicais. Outras doenças, como a febre amarela, a filariose, a febre do oeste do Nilo, a WEE, a EEE, a doença de Lyme, e outras transmitidas por carrapato, têm variável importância sanitária em diferentes países de todos os continentes (BRASIL, 2008; BULCÃO, 2006; WEAVER&REISEN, 2010).

A dengue e outros Arbovírus se mantêm em ciclos na natureza e envolvem preferencialmente vetores artrópodes hematófagos e hospedeiros vertebrados. Muitas vezes, os surtos de arbovírus emergentes podem estar relacionados com mudanças relativamente pequenas em genética viral ou à introdução de novas variedades que têm aumentado os níveis

de virulência e viremia nos vertebrados, ampliando a gama de hospedeiros e aumentando o potencial de amplificação. Mudanças na composição dos vetores ou espécies de hospedeiros pode estar relacionada à expansão das mudanças ambientais ou na criação de novos nichos. Na Amazônia brasileira desde a década de 50 pelo menos 187 diferentes tipos de arbovírus já foram identificados. Desses, mais de 30 são patogênicos, destacando-se os vírus Oropouche, o da dengue, o Mayaro e o da febre amarela, os dois últimos mais ativos em áreas rurais. Durante a construção da usina hidrelétrica Tucuruí, por exemplo, foram descobertos três novos tipos de arbovírus ainda desconhecidos no mundo: Tucuruí, Caraipé e Arumateua. O impacto no aumento da população de artrópodes é ilustrado pelo vírus Gamboa, isolado em Tucuruí. É importante ressaltar que esses vírus jamais haviam sido isolados no Brasil. A intervenção ambiental foi então responsável pela emergência de novos vírus (OLIVEIRA et. al, 2006; WEAVER&REISEN, 2010).

Segundo a OMS, os impactos na saúde associados à represas podem ser representados em seis categorias: doenças transmissíveis; doenças não transmissíveis; acidentes e violência; má nutrição; distúrbios psicossociais e alterações do bem estar social. Atualmente existem cerca de 45.000 grandes represas em todo o mundo; só no Brasil existem mais de 500 hidrelétricas. A construção de represas pode facilitar o desenvolvimento e a disseminação de doenças, devido a mudanças bruscas no ecossistema, e a fragmentação social pode acarretar vários riscos para a saúde das comunidades atingidas (BULCÃO, 2006).

A rápida formação de um lago, com a inundação de terras, o aumento do nível do lençol freático, a submersão da flora e da fauna terrestres, assim como o abandono das culturas e deslocamento forçado de animais e da população residente na região são os principais fatores determinantes de risco. Por outro lado, as modificações observadas à jusante do barramento também originam a formação de um ecossistema alterado, comandado pela própria modificação do fluxo do rio, com prejuízos à agricultura e ao abastecimento de água

das comunidades ribeirinhas, bem como pelo processo de eutrofização do lago a montante, podendo resultar em uma água sem condições para o uso humano (BULCÃO, 2006).

As manipulações da natureza na construção de represas são a causa de uma série de epidemias de doenças infecciosas e de alterações na transmissão de doenças endêmicas. As doenças mais comumente alteradas em decorrência de projetos hidrelétricos são aquelas transmitidas por vetores que proliferam na água, as de veiculação hídrica (diarréias, hepatites A e E, cólera, leptospirose, salmoneloses) e as predispostas pela migração (leishmaniose tegumentar e visceral, hepatites B e D, DST). Durante a construção da usina hidrelétrica Tucuruí também houve um aumento acentuado e progressivo da incidência da leishmaniose tegumentar, com o número de casos subindo mesmo muitos anos após a conclusão das obras. Esse aumento foi atribuído ao processo de migração, aos desmatamentos para ocupação de novas áreas e à implantação de projetos de assentamento. No que se refere às DST, geralmente, com a migração de trabalhadores e empregados da construção e manutenção de represas, suas incidências, incluindo a infecção pelo HIV, aumentam drasticamente. A alta incidência de HIV em áreas de construção e reassentamento tem se tornado um importante problema (OLIVEIRA et. al, 2006).

Além do impacto à saúde, as grandes represas exercem um importante impacto na área social, cultural e no ecossistema. Observado pela destruição de florestas, desaparecimento de peixes a jusante e degradação das áreas de captação a montante devido à inundação do reservatório. Além disso, observa-se comumente a redução da biodiversidade aquática, a diminuição das áreas de desova de peixes, tanto a montante quanto a jusante, e o declínio dos serviços ambientais prestados pelas planícies aluviais a jusante, brejos, ecossistemas fluviais, estuarinos e marinhos adjacentes. A construção de represas está diretamente relacionada com o *status* nutricional das populações ribeirinhas a jusante, como consequência de mudanças na pesca e na agricultura. As populações que vivem a jusante de grandes represas mostram,

devido às mudanças ecológicas bruscas, características diferentes de comunidades a montante. O impacto a jusante na disponibilidade da água, produção agrícola, animais de criação e pesca pode levar à má nutrição persistente, fome e violência comunitária, visto que modificam ou destroem os meios de sobrevivência aos quais as comunidades já estavam adaptadas (OLIVEIRA et al, 2007).

No que diz respeito aos aspectos ambientais, a substituição de floresta tropical por uma lâmina de água certamente modifica o balanço de energia à superfície e, conseqüentemente, toda a caracterização do clima de uma localidade. Com os possíveis futuros cenários de aproveitamento de energia hidrelétrica na Amazônia (por exemplo, o que ocorre com a construção da UHE Belo Monte-PA, com uma área de alagamento de 1.225 km<sup>2</sup>, e existem ainda outras que estão somente na fase de planejamento, mas que certamente virão), o caso da UHE Tucuruí é um bom exemplo dos impactos microclimáticos que poderá resultar. A Amazônia são muitas Amazônias e por isso constitui um grande, porém crucial, desafio, em tempos de mudanças globais e suas implicações para as doenças infecciosas e a vigilância em saúde de base territorial no século XXI (BRASIL, 2008; SANCHES & FISCH, 2005).

### **3 - METODOLOGIA**

#### **3.1 - TIPO DE ESTUDO E SELEÇÃO DA AMOSTRA:**

Trata-se de um estudo observacional do tipo transversal analítico. A amostra é do tipo intencional e a seleção foi feita por conveniência; levando-se em consideração a acessibilidade aos locais, características geográficas, sociais e ambientais das diferentes comunidades. Foram incluídos na pesquisa indivíduos residentes nas localidades estudadas, adultos e de ambos os sexos. Foram excluídos indivíduos não residentes na área de pesquisa e todos aqueles que não assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE).

#### **3.2 - POPULAÇÃO ALVO:**

A população estudada foi constituída por indivíduos de ambos os sexos, maiores de 18 anos, residentes nas áreas e comunidades que compõem a Reserva de Desenvolvimento Sustentável de Alcobaça e de Pucuruí-Ararão que fazem parte da Área de Proteção Ambiental do lago da UHE de Tucuruí e cadastrada no PSF do lago de Tucuruí. Segundo dados do sistema de informação da atenção básica, o número de pessoas cadastradas no PSF, tanto das ilhas quanto da porção continental, é de 3225 indivíduos (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2010). Todos os indivíduos estudados fazem parte do Projeto de Pesquisa: *Avaliação da influência dos níveis da UHE de Tucuruí na incidência e prevalência de doenças infecciosas endêmicas da Amazônia: Uma análise multidisciplinar.*

#### **3.3 - LOCAL DE ESTUDO:**

O estudo foi realizado nas Reservas de Desenvolvimento Sustentável (RDS) Alcobaça e Pucuruí-Ararão, que pertencem a Unidade de Conservação do lago da UHE de Tucuruí, situada na região do baixo rio Tocantins, no estado do Pará. As RDS fazem parte do Mosaico de Unidades de conservação do lado da UHE de Tucuruí (Figura 9) que ainda possui uma Área de proteção Ambiental e duas Zonas de Proteção da Vida Silvestre. A RDS Alcobaça possui área de 36.128,00ha (abrange as comunidades de Acapu, Água Fria, Angelin, Boa

Vida, Cajazeira, Cajazeirinha, Cametá, Lago Azul, Mocaba, Ouro Verde, Piquiá, Piquiazinho, Rio Jordão e São Benedito) localizada nos municípios de Tucuruí e Novo Repartimento; já a RDS Pucuruí-Ararão possui área 29.049,00ha (abrange as comunidades de ASPESCA, Base 1, Castanheiro, Funai, Guela da Morte, Ilha das Flores, Ilha do Maracujá, Ilha Santo Antônio, Pólo Pesqueiro, São Miguel e Timbozal) localizada nos municípios de Tucuruí e Novo Repartimento. O lago formado inundou 25% das áreas anteriormente ocupadas pelo rio Tocantins e seus principais afluentes e possui 2917km<sup>2</sup>, com cerca de 50,3 bilhões de metros cúbicos. O perímetro do reservatório apresenta 7.700km e possui aproximadamente 1.600 ilhas, formadas pelas terras mais elevadas que não foram inundadas. O comprimento do lago é de 175 km no eixo norte-sul. A área de influência da Montante está dividida em três partes: a primeira parte abrange o município de Tucuruí, Breu Branco e parte do município de Goianésia, localizada logo no início da barragem; a segunda parte envolve parte do município de Goianésia e os municípios de Novo Repartimento e parte do município de Jacundá; a terceira parte envolve parte do município de Jacundá e os municípios de Ipixuna e Itupiranga, ficando já próximo ao final do lago. Já a área da Jusante abrange os municípios de Baião, Mocajuba, Cametá, Limoeiro do Ajurú e Igarapé Miri. (ARAÚJO, 2009; COSTA, 2006; BRASIL, 2010; SANCHES & FISCH, 2005; SOUSA, SOUZA, CANETE, 2008).

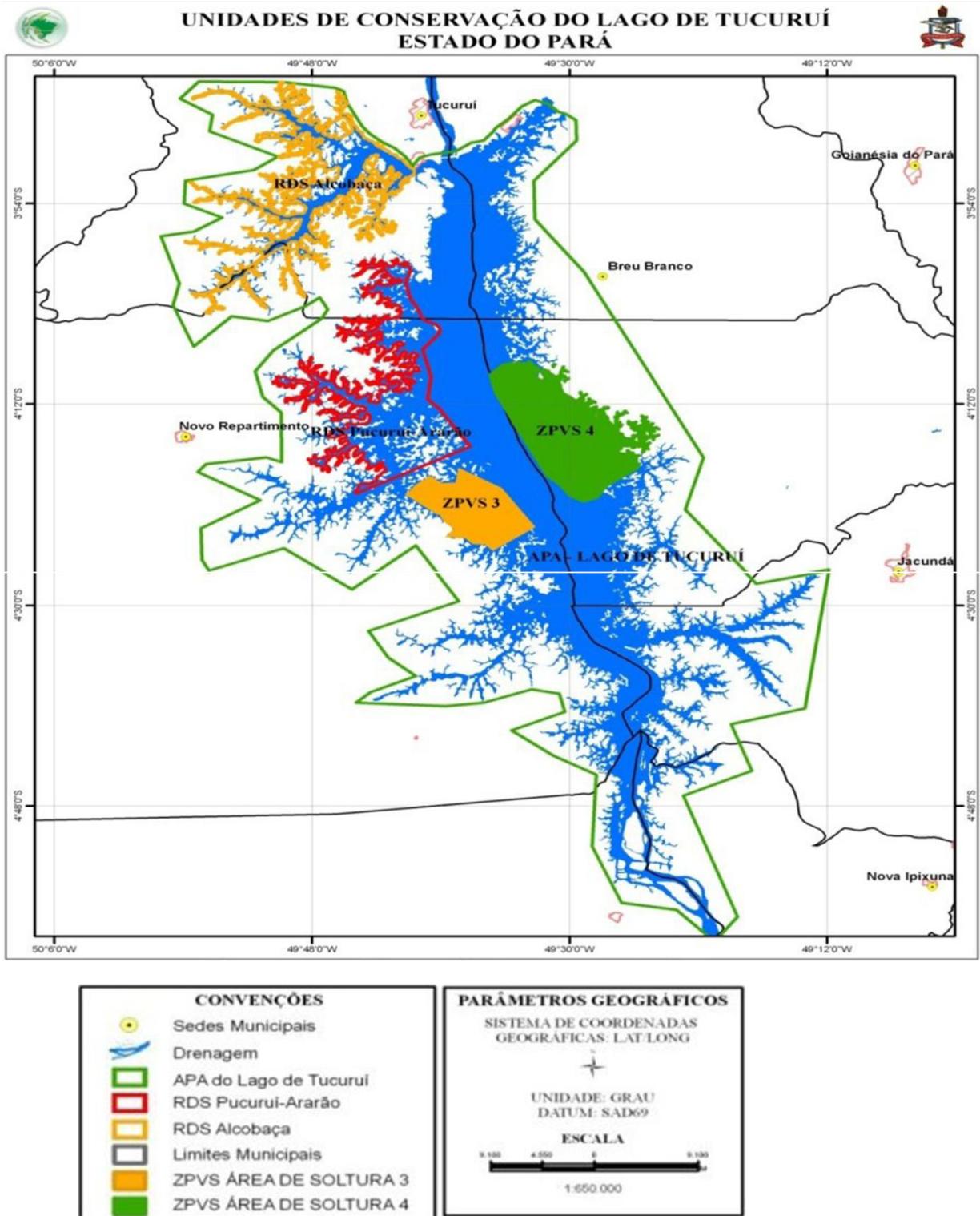


Figura 8 - Mosaico das unidades de conservação do lago da UHE de Tucuruí com 568.667,00 ha. Nele observamos as ZPVS, a APA e as RDS de Alcobaça (36.128,00 ha) e Pucuruí-Ararão (29.049,00 ha).  
Fonte: ARAÚJO&ROCHA, 2008, pág. 12

### **3.4 - AVALIAÇÃO SÓCIO-AMBIENTAL:**

O projeto avaliou as características da população no que se referem a hábitos alimentares, condições habitacionais, qualidade da água consumida, número de indivíduos residentes em um mesmo domicílio, condições sócio-econômicas, renda familiar, grau de instrução, estilo de vida, antecedentes mórbidos e sinais clínicos por meio de um questionário (Anexo I). Estas características foram utilizadas para correlacionar com os dados epidemiológicos.

### **3.5 - ESTUDOS LABORATORIAIS:**

As amostras utilizadas neste estudo fazem parte do projeto de pesquisa a que este estudo está vinculado. A coleta das amostras se deu em dois momentos distintos, em setembro/2008 e março/2009; onde foi coletado uma amostra contendo 8ml de sangue venoso em um tubo sem anticoagulante. No primeiro período foram avaliados 113 indivíduos e no segundo 284 pessoas, totalizando 397 pessoas. Todas as amostras de soros humanos foram analisadas em parceria com o laboratório de Arbovirologia do Instituto Evandro Chagas onde foram submetidas ao teste de Inibição da Hemaglutinação (IH) descrita por Clark e Casals (1958) e adaptado para microplacas para a pesquisa de anticorpos contra 19 tipos de Arbovírus: quatro alphavírus da família Togaviridae (VEEE; VWEE; VMAY; VMUC); nove flavivírus da família Flaviviridae (VILH; VROC; VDEN1; VDEN2; VDEN3; VDEN4; VSLE; VFA silvestre, cepa H111; e o VFA vacinal, cepa 17D); e seis orthobunyavírus da família Bunyaviridae (VCAR; VCATU; VGRO; VTCM; VMAG; e VORO).

As amostras séricas foram tratadas com acetona e adsorvida com hemácias de ganso, resultando numa diluição inicial de 1:20. Os antígenos foram preparados pelo método de extração por Sucrose-Acetona e usados em títulos contendo quatro unidades hemaglutinantes. As amostras testadas foram reveladas numa suspensão de 1:200 de hemácias de ganso em solução de pH 6,2. As amostras positivas a 1:20 foram tituladas para obtenção do título final

usando o mesmo procedimento. Os soros que apresentaram resultado positivo para MAY, ORO, FA – cepa selvagem ou vacinal e DEN (sorotipos 1,2,3 ou 4), foram submetidos à pesquisa de anticorpos da classe IgM utilizando-se a técnica de MAC-ELISA descrita por Monath et al (1984). O teste foi realizado em placas de microtitulação sensibilizadas com anticorpos anti-IgM humana, diluídas em solução tampão de carbonato-bicarbonato com pH 9,0 e incubadas a 37°C por uma hora, onde foram adicionados as amostras séricas, os antígenos, conjugados e substrato revelador. As leituras das placas ocorreu através da determinação da absorbância em comprimento de onda de 410nm.

### **3.6 - ANÁLISE ESTATÍSTICA:**

Para o cálculo estatístico foi utilizado o programa EpiInfo versão 3.5.3, aplicado nas áreas de ciências biológicas e médicas. Os dados foram apresentados em tabelas. Foi estudada a prevalência de casos de EEE e WEE. Realizou-se uma análise descritiva e analítica, sendo empregado o teste qui-quadrado e/ou exato de Fisher a fim de verificar a significância das associações estatísticas entre as variáveis do estudo com um nível alfa de 0,05.

### **3.7 - ASPECTOS ÉTICOS:**

Este estudo é parte de um projeto de pesquisa do Núcleo de Medicina Tropical em parceria com a ELETRONORTE, intitulado “Avaliação da Influência dos níveis do UTH Tucuruí na Incidência e prevalência de doenças infecciosas endêmicas da Amazônia: uma análise multidisciplinar” que seguiu as normas da Resolução 196/96 do Conselho Nacional de Saúde, relativa à pesquisa em seres humanos, que torna necessária à aprovação do protocolo de pesquisa por um Comitê de Ética em Pesquisa Institucional. Por se tratar de pesquisa envolvendo material biológico e também exame clínico dos indivíduos, tal procedimento pressupõe a utilização do consentimento livre e esclarecido conforme explicitado no capítulo IV da Resolução CNS 196/96 (BRASIL, 1996). No termo de consentimento (Anexo II), serão esclarecidas a utilização do material biológico, as características do exame clínico, o sigilo

dos dados obtidos e a livre decisão de participação do indivíduo. Será exigido que todos os participantes da amostra autorizem a sua participação no estudo através de assinatura ou identificação por impressão dactiloscópica. O projeto original foi submetido ao Comitê de Ética em Pesquisa do Núcleo de Medicina Tropical da Universidade Federal do Pará e aprovado através do parecer nº 056/2008 (Anexo III).

#### 4 - RESULTADOS E DISCUSSÃO

A análise das 365 amostras de soro coletada dos moradores sob influência do lago da UHE de Tucuruí confirma a circulação do vírus da EEE e WEE, com positividade de 1,1% para EEE e de 1,6% para WEE. (Tabela 1). Essas amostras tiveram titulações variando de 1:20 a 1:80, com predomínio da titulação de 1:80 para ambos os vírus. (Tabela 2). O resultado para EEE vai de encontro ao relatado por Vasconcelos et al (1991) para as populações da Amazônia, em torno de 1%; contudo nenhum caso foi encontrado para WEE. Bruno-Lobo et al (1961), ao investigar 199 soros no Rio de Janeiro, encontraram a prevalência de 5,6% para EEE e 22,6% para WEE. Romano-Lieber & Iversson (2000) ao realizarem um inquérito sorológico para Arbovírus em 182 indivíduos de uma Reserva Ecológica encontraram prevalência de 21,4% para Alphavírus, sendo 2,2% para EEE e 19,2 para EEV; não sendo encontrando nada relacionado ao vírus da WEE. Vasconcelos et al (1991) afirmam que até este ano não havia estudos com casos confirmados do vírus WEE na Amazônia e Causey & Theiler (1958) encontraram 13 casos confirmados do vírus EEE nas cidades de Abaetetuba e Cametá, no Pará, com 1 e 12 casos, respectivamente; e de 3 casos para o vírus da WEE na cidade de Cametá, considerando que esses casos possam ser em decorrência de reação cruzada com outros Arbovírus do grupo A.

Tabela 1 - Prevalência dos vírus EEE e WEE na região do lago da UHE de Tucuruí.

SOROLOGIA	EEE	WEE
	N / %	N / %
NEGATIVO	361 / 98,9%	359 / 98,4%
POSITIVO	4 / 1,1%	6 / 1,6%
TOTAL	365 / 100%	365 / 100%

Tabela 2 - Titulação dos vírus EEE e WEE

TITULAÇÃO	EEE	WEE
	N / %	N / %
1:20	1 / 25%	2 / 33,3%
1:40	1 / 25%	1 / 16,7%
1:80	2 / 50%	3 / 50%
TOTAL	4 / 100%	6 / 100%

Em relação ao sexo encontramos valor de  $p=0,47$  para os casos de EEE não havendo significância estatística. Romano-Lieber & Iversson (2000) encontraram prevalências semelhantes de infecções para os arbovírus entre homens e mulheres pesquisados nos vários grupos etários. Terzian (2008) estudando Arbovírus encontrou a prevalência para casos positivos de 78,9% para o sexo feminino e 78,46% para o masculino. Já os casos de WEE o  $p=0,02$  demonstra um predomínio dos casos no sexo masculino (Tabela 3). Para compreendermos melhor esse predomínio no estudo, podemos correlacionar com as atividades profissionais dos casos de WEE, onde observamos que 83,3% dos casos positivos acometeram pescadores, uma profissão caracteristicamente e sujeita as variáveis ecológicas. De um modo geral, as profissões mais predominantes na área estudada para tanto para EEE como para WEE foram de pescador, lavrador / roceiro e do lar; onde observamos que houve um predomínio dos casos positivos nas atividades consideradas rurais (Tabela 4).

Tabela 3 - Prevalência dos EEE e WEE em relação ao sexo

SEXO	EEEV p* = 0,47		WEEV p* = 0,02	
	NEGATIVO N / %	POSITIVO N / %	NEGATIVO N / %	POSITIVO N / %
FEMININO	228 / 63,2%	2 / 50%	229 / 63,8%	1 / 16,7%
MASCULINO	133 / 36,8%	2 / 50%	130 / 36,2%	5 / 83,3%
Ntotal	361 / 100%	4 / 100%	359 / 100%	6 / 100%

p\* Teste exato de Fisher

Tabela 4 - Prevalência dos EEE e WEE em relação à profissão

PROFISSÃO	EEE		WEE	
	NEGATIVO N / %	POSITIVO N / %	NEGATIVO N / %	POSITIVO N / %
DO LAR	75 / 21,2%	1 / 25%	76 / 21,6%	0 / 0%
LAVRADOR / ROCEIRO	33 / 9,4%	1 / 25%	26 / 7,4%	0 / 0%
PESCADOR	199 / 56,3%	1 / 25%	195 / 54,8%	5 / 83,3%
OUTROS	45 / 13,1%	1 / 25%	57 / 16,2%	1 / 16,7%
TOTAL	352 / 100%	4 / 100%	352 / 100%	6 / 100%

Tabela 4 - Prevalência dos vírus EEE e WEE em relação ao tempo de residência

TEMPO DE RESIDÊNCIA	EEE p* = 0,56		WEE p* = 0,42	
	NEGATIVO	POSITIVO	NEGATIVO	POSITIVO
	11,1 ± 7,5 ANOS	13 ± 8,8 ANOS	11,2 ± 7,5 ANOS	8,6 ± 5,6 ANOS

p\* Teste de Kruskal-Wallis. ±: Desvio Padrão

Ao analisar as variáveis sócio-demográficas observamos que a média de idade entre os casos de EEE variou de  $40,1 \pm 15$  anos para os negativos e de  $32 \pm 12$  anos para os positivos, com  $p=0,29$  demonstrando não haver diferença estatística. Já nos casos de WEE a idade média ficou em  $39,7 \pm 15,1$  anos para os negativos e  $58,1 \pm 7,1$  anos para os positivos, com  $p=0,003$  revelando uma diferença estatística (Tabela 6). Podemos correlacionar essa relevância com o predomínio dos casos positivos no sexo masculino e em pescadores que, com essa idade média, provavelmente tenham sido expostos ao impacto ecológico na época da construção da UHE de Tucuruí. Além disso, observamos que o tempo de residência dos casos de EEE ficou em média  $11,1 \pm 7,5$  anos para os negativos e  $13 \pm 8,8$  anos para os positivos; e os de WEE apresentaram média de  $11,2 \pm 7,5$  anos para os negativos e  $8,6 \pm 5,6$  anos para os positivos. (Tabela 5). E houve correlação dos casos de EEE e WEE ao uso de mosquiteiro como barreira protetora, pois todos os positivos relataram usar mosquiteiro (Tabela 7).

Tabela 6 - Prevalência dos EEE e WEE em relação à idade

	EEE $p^* = 0,29$		WEE $p^* = 0,003$	
	NEGATIVO	POSITIVO	NEGATIVO	POSITIVO
IDADE	$40,1 \pm 15,2$	$32 \pm 12$	$39,7 \pm 15,1$	$58,1 \pm 7,1$

$p^*$  Teste de Kruskal-Wallis.  $\pm$ : Desvio Padrão

Tabela 5 - Prevalência dos vírus EEE e WEE em relação ao uso de mosquiteiro

Uso de mosquiteiro	EEE $p^* = 0,78$		WEE $p^* = 0,69$	
	NEGATIVO	POSITIVO	NEGATIVO	POSITIVO
	N / %	N / %	N / %	N / %
SIM	21 / 5,8	0 / 0	21 / 5,9	0 / 0
NÃO	338 / 94,2	4 / 100	336 / 94,1	6 / 100

\* Teste exato de Fisher

Quanto às condições de saneamento, observamos que a maioria da população estudada apresenta condição ruim ou razoável, onde todos os casos positivos para EEE têm condição ruim. Já os casos positivos de WEE, 16,7% apresentam condição boa e 83,3% apresentam condição ruim e tiveram significância estatística com  $p=0,02$ , demonstrando que a condição ruim de saneamento é favorável para presença de casos de WEE (Tabela 8). Essa afirmação é ratificada ao analisarmos o tipo de fossa mais utilizado e o tipo de abastecimento de água, onde observamos que 75% dos casos positivos de EEE e 100% dos casos para WEE faziam uso de fossa negra (Tabela 9) e 100% dos casos positivos de EEE e 83,3% dos casos de WEE fazem uso do abastecimento de água de rios e/ou lagos (Tabela 10). Essas condições desfavoráveis de saneamento favorecem o contato com mosquitos vetores do gênero *Aedes e Culex*, responsáveis pela transmissão da EEE e da WEE.

Quanto aos vetores, várias espécies de *Culex* têm sido incriminadas como vetores de vírus de diversas encefalites cujos casos ocorreram nos E.U.A e na Amazônia. No Brasil existem muitas espécies de mosquitos do gênero *Culex*, e a maioria das espécies brasileiras parece ter certa atração por aves, atacando também mamíferos, inclusive o homem. Estão sempre próximos às moradias. Os locais com acúmulo de água rica em matéria orgânica em decomposição e detritos, de aspecto sujo e odor fétido são preferidos como criadouros. Recipientes artificiais transitórios, sombreados, como vasilhames de vários tamanhos são procurados para desova e criação deste mosquito, assim como as águas estagnadas e poluídas no solo, valas de águas servidas que correm próximo as residências sem instalações sanitárias adequadas e deficiência de drenagem, e fossas, ralos, poços e cisternas. A água de chuvas que se acumula no solo e em vários recipientes multiplica seus criadouros, e a presença do mosquito torna-se mais freqüente nos períodos mais quentes e chuvosos. Entretanto, é observado durante o ano inteiro, ininterruptamente (VIANNA, 2000).

Tabela 6 - Prevalência dos vírus EEE e WEE em relação às condições de saneamento

SANEAMENTO	EEE		WEE	
	p* = 0,21		p* = 0,02	
	NEGATIVO	POSITIVO	NEGATIVO	POSITIVO
	N / %	N / %	N / %	N / %
BOM	12 / 3,4%	0 / 0%	11 / 3,1%	1 / 16,7%
RAZOÁVEL	164 / 47,1%	0 / 0%	164 / 47,5%	0 / 0%
RUIM	172 / 49,4%	3 / 100%	170 / 49,3%	5 / 83,3%
TOTAL	348 / 100%	3 / 100%	345 / 100%	6 / 100%

\* Teste Qui-quadrado

Tabela 7 - Prevalência dos EEE e WEE em relação ao tipo de fossa

TIPO DE FOSSA	EEE		WEE	
	p* = 0,99		p* = 0,36	
	NEGATIVO	POSITIVO	NEGATIVO	POSITIVO
	N / %	N / %	N / %	N / %
FOSSA NEGRA	271 / 75,3%	3 / 75%	268 / 74,9%	6 / 100%
SANITÁRIA	88 / 24,4%	1 / 25%	89 / 24,9%	0 / 0%

\* Teste Qui-quadrado

Tabela 8 - Prevalência dos vírus EEE e WEE em relação ao abastecimento de água

ABASTECIMENTO DE ÁGUA	EEE		WEE	
	p* = 0,96		p* = 0,73	
	NEGATIVO	POSITIVO	NEGATIVO	POSITIVO
	N / %	N / %	N / %	N / %
RIOS E LAGOS	290 / 80,6%	4 / 100%	289 / 80,7%	5 / 83,3%
POÇO	49 / 13,6%	0 / 0%	49 / 13,7%	0 / 0%
OUTROS	19 / 5,8%	0 / 0%	20 / 5,6%	1 / 16,7%

\* Teste Qui-quadrado

AGUILAR et al (2007) levanta várias hipóteses para explicar a escassez de casos de EEE na América do Sul, uma delas é que Alphavírus com anticorpos heterólogos promovem uma proteção cruzada contra a infecção e/ou doença pelo vírus da EEE. Para CALISHER (2002) as distâncias antigênicas entre as espécies individuais são correlacionados com o grau de diferença na seqüência de sua proteína capsidial (E1 e E2). Embora o grau de especificidade antigênica varie com o grau de parentesco, a antigenicidade é considerável entre os isolados do mesmo vírus espécies e espécies do mesmo sorogrupo. Algumas espécies de Alphavírus são antigenicamente relacionados, compartilhando alguns epítomos nas proteínas estruturais (40% de homologia entre as espécies) ou nas proteínas não-estruturais (60% de homologia entre as espécies). O vírus WEE está intimamente relacionado com outros vírus do complexo WEEV e ligada a todas os outras Alphavírus. Na Tabela 12 observamos que dos casos positivos para EEE, 100% eram positivos para HI-Flavivírus, 25% para o vírus Maguari, 25% para HI-Mayaro, 25% para HI-Oropouche. Dos casos positivos para WEE, 100% eram positivos para HI-Flavivírus, 33,3% para HI-Mayaro e 16,7% para o vírus Guaroa. Além disso, os casos negativos tanto para EEE como para WEE tiveram positividade para outros Alphavírus sugerindo a ocorrência de proteção cruzada. Os casos negativos para EEE foram positivos para Mucambo (2,2%) e Mayaro (22,2%); já os negativos para WEE foram positivos para Mucambo (2,2%) e Mayaro (22%).

Tabela 91 - Correlação dos vírus EEE e WEE com a presença de outros Arbovírus

ARBOVÍRUS	EEE			WEE		
	NEGATIVO	POSITIVO	p*	NEGATIVO	POSITIVO	p*
	N / %	N / %		N / %	N / %	
CARAPARU	41 / 11,4%	0 / 0%	0,61	41 / 11,4%	0 / 0%	0,48
GUAROA	34 / 9,4%	0 / 0%	0,67	33 / 9,2%	1 / 16,7%	0,44
MAGUARI	5 / 1,43%	1 / 25%	0,06	6 / 1,7%	0 / 0%	0,90
MUCAMBO	8 / 2,2%	0 / 0%	0,87	8 / 2,2%	0 / 0%	0,87
HI-FLAVIVÍRUS	296 / 82,7%	4 / 100%	0,47	294 / 82,6%	6 / 100%	0,32
HI-MAYARO	80 / 22,2%	1 / 25%	0,63	79 / 22%	2 / 33,3%	0,39
HI-OROPOUCHE	57 / 15,8%	1 / 25%	0,50	58 / 16,2%	0 / 0%	0,35
HI-VACINA	74 / 20,5%	0 / 0%	0,49	71 / 19,8%	3 / 50%	0,10

\* Teste exato de Fisher

## **5 - CONCLUSÃO**

O presente estudo confirmou a hipótese alternativa. Demonstrando a circulação dos VEEE e VWEE na população sob influência do lago da UHE de Tucuruí e que alguns fatores sócio-ambientais favorecem a exposição da população aos vetores, como: uso de fossa negra, abastecimento de água através de rios e lagos e condições de saneamento ruim. Além disso, a atividade profissional de pescador demonstrou estar mais suscetível ao vetor de transmissão por ser predominantemente masculina e está sujeita as condições ambientais do lago. O estudo também levantou a relação dos vírus da EEE e WEE apresentarem proteção cruzada com outros Alfavírus e de uma melhor investigação da sintomatologia com os casos positivos.

## REFERENCIAIS BIBLIOGRÁFICAS

AGUILAR, P V; ROBICH, R M; TURELL, M J et al. Endemic Eastern Equine Encephalitis in the Amazon Region of Peru. American Society of Tropical Medicine and Hygiene. 2007 76: 293-298.

AGUIRRE, A A. Wild canids as sentinels of ecological health: a conservation medicine perspective. Review. Parasites & Vectors. 2009, 2 Suppl 1:S7.

ARAÚJO, A R O. Os territórios protegido e a Eletronorte na área de influência da UHE Tucuruí/PA. 2009. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal do Pará, Instituto de Filosofia e Ciências Humanas, Programa de Pós-Graduação em Geografia, Belém.

ARAÚJO, A R O; ROCHA, G M. Unidades de Conservação em Tucuruí/PA como instrumentos de Gestão Territorial. IV Encontro Nacional da Anppas. junho 2008. Brasília-DF.

ARMSTRONG, P M & ANDREADIS, T G. Eastern equine encephalitis virus in mosquitoes and their role as bridge vectors. Emergence Infectious Disease.

BRASIL, ELETROBRÁS. 2010. Manual do Sistema de Gestão Ambiental – UHE Tucuruí. Centrais Elétricas do Norte do Brasil. CPH DIVISÃO DE AÇÕES AMBIENTAIS DE GERAÇÃO – CPHM, Rio de Janeiro, RJ.

BRASIL. Empresa de Pesquisa Energética. Plano Nacional de Energia 2030. Rio de Janeiro: EPE, 2007.

BRASIL. Ministério da Saúde. Conselho Nacional de Saúde. Resolução nº 196 de 10 de outubro de 1996. 1996. Disponível em [www.saude.gov.br](http://www.saude.gov.br). Acesso em 15 mar 2010.

BRASIL. Organização Pan-Americana da Saúde (OPAS)/MS. 2008. Mudanças climáticas e ambientais e seus efeitos na saúde: cenários e incertezas para o Brasil. Série Saúde Ambiental. 1 (1): 1-15.

BRUNO-LOBO G G; BRUNO-LOBO M; TRAVASSOS J; PINHEIRO F; PAZIN I P. Estudos sobre arbovirus III. Isolamento de um vírus sorologicamente relacionado ao subgrupo Western-Sindbis de um caso de encefalomielite equina ocorrido no Rio de Janeiro. An Microbiol Rio de Janeiro 1961; 9:183-95.

BULCÃO, J A S. Avaliação de impactos sobre a saúde da população afetada por projetos hidrelétricos no Brasil. Furnas Centrais Elétricas S.A. Rio de Janeiro, outubro 2006.

CALISHER, C H. Western equine encephalitis virus. (online). 2002. <http://www.ictvdb.org/ICTVdb/00.073.0.01.027.htm>. Acesso em: 15 janeiro 2011

CAUSEY, O R & THEILER, M. Virus antibody on sera of residents of the Amazon Valley in Brazil. *Amer. J. Trop. med. Hyg.*, 7:36-41, 1958.

CLARK, D H & CASALS, J. Techniques for hemagglutination and hemagglutination-inhibition with arthropod-borne viruses. *Am J Trop Med Hyg* v. 7, p. 561-573, 1958.

COSTA, L T. Estratégias de reabilitação de áreas degradadas em empreendimentos hidrelétricos na Amazônia, Tucuruí – PA. 2006. 95 f. Dissertação (Mestrado) Instituto de Florestas. Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro.

DAVIS, L E; BECKHAM, J D & TYLER, K L. North American encephalitic arboviruses. *Neurologic Clinics*. 2008. 26: 727-757.

DONALISIO, M R; VASCONCELOS, C H et al. Aspectos climáticos em áreas de transmissão de hantavirose no Estado de São Paulo, Brasil. *Cad. Saúde Pública*, Maio 2008, vol.24, no.5, p.1141-1150.

FIGUEIREDO, L. T. M. Emergent arboviruses in Brazil. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.*, Uberaba, v. 40, n. 2, Apr. 2007.

GARMASHOVA, N; GORCHAKOV, R; VOLKOVA, E et al. The Old World and New World Alphaviruses Use Different Virus-Specific Proteins for Induction of Transcriptional Shutoff *J. Virol.* 2007 81: 2472-2484.

GRIFFIN, D E. Alphaviruses. In: KNIPE, D M; HOWLEY, P M. *Fields virology* Fifth Edition. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins. vol. II, Cap. 31, p.1742-1789, 2007.

HALES, S; WOODRUFF, R; MCMICHAEL, A. Climate change and human health: present and future risks. *The Lancet*, 2006 Mar 11; 367 (9513):859-69.

HOLLIDGE, B S; GONZÁLEZ-SCARANO, F; SOLDAN, S S. Arboviral Encephalitides: Transmission, Emergence, and Pathogenesis. *J Neuroimmune Pharmacol* (2010) 5:428–442.

KANG, X; LI, Y; LIU, H et al. A duplex real-time reverse transcriptase polymerase chain reaction assay for detecting western equine and eastern equine encephalitis viruses. *Virology Journal* 2010 7:284.

KUHN, R J. *Togaviridae: The Viruses and Their Replication*. In: KNIPE, D M; HOWLEY, P M. *Fields virology Fifth Edition*. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins. vol. II, Cap. 30, p.1742-1789, 2007.

LÓPEZ, P L; UDAETA, M M; BURANI, G F. *O Brasil e a Integração Energética*. Rio Oil & Gas Expo and Conference 2008. Rio de Janeiro.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. Cadastramento familiar no Programa Saúde da Família do município de Tucuruí, zona rural. Disponível em: <<http://tabnet.datasus.gov.br/cgi/tabcgi.exe?siab/cnv/SIABFpa.def>>. Acesso em: 25 de maio de 2010.

MONATH, T P; NYSTRON, R R et al. Immunoglobulin M antibody capture enzyme-linked immunosorbent assay for diagnosis of St. Louis encephalitis. *J Clin Microbiol* v. 20, p.784-790, 1984.

OLIVEIRA, F A S; HEUKELBACH, J; MOURA, R C S et al. *Grandes Represas e seu Impacto em Saúde Pública I: Efeitos a Montante*. *Cadernos Saúde Coletiva*, 14 (4): 575 - 596, 2006.

OLIVEIRA, F A S; HEUKELBACH, J; MOURA, R C S et al. *Grandes Represas e seu Impacto em Saúde Pública II: Efeitos a Jusante*. *Cadernos Saúde Coletiva*, Rio de Janeiro, 15 (1): 9 - 26, 2007.

PFEFFER, M & DOBLER, G. Emergence of zoonotic arboviroses by animal trade and migration. *Parasites & Vectors* 2010, 3:35.

ROMANO-LIEBER, N S & IVERSSON, L B. Inquérito soropidemiológico para pesquisa de infecções por arbovírus em moradores de reserva ecológica *Rev. Saúde Pública*, 34 (3): 236-42, 2000.

SANCHES, F & FISCH, G. As possíveis alterações microclimáticas devido a formação do lago artificial da hidrelétrica de Tucuruí -PA. *Acta Amaz.* 2005, vol.35, n.1, pp. 41-50.

SANTANA, V S. Estudo de arboviroses em pacientes positivos para malária da região Amazônica. 2010. 74f. Dissertação (Mestrado). Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas Universidade Estadual Paulista. São José do Rio Preto.

SCHWARTZ, O & ALBERT, M L. Biology and pathogenesis of chikungunya virus. *Nature Reviews Microbiology* 8, 491-500 (July 2010).

SILVA, M L C R. Raiva e encefalite viral equina leste no semiárido nordestino, Brasil. 2010. 115f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária). Centro de Saúde e Tecnologia Rural. Universidade Federal de Campina Grande. Paraíba.

SOUSA, N R; CANETE, V R; SOUZA, C L. Lições não aprendidas: Hidrelétricas, atores sociais, impactos socioambientais e política Nacional de recursos Hídrico na Amazônia. IV Encontro Nacional da Anppas. junho 2008. Brasília-DF.

STEELE, K E & TWENHAFEL, N A. REVIEW PAPER: Pathology of Animal Models of Alphavirus Encephalitis *Vet Pathol* September 2010 47: 790-805, first published on June 15, 2010.

STEELE, K E; REED, D S; GLASS, P J; HART, M K et al. ALPHAVIRUS ENCEPHALITIDES. In: DEMBEK, Z.F. *Medical Aspects of Biological Warfare*. Cap. 12, p.241-270, 2007.

SWAYZE, R D, BHOGAL, H S, BARABÉ, N D et al. Envelope protein E1 as vaccine target for western equine encephalitis virus. *Vaccine*, 29(4). 2011. pp. 813-820.

TERZIAN, A C B. Diagnostico molecular de arboviroses brasileiras em soros de pacientes com doença febril aguda. 2008. 71f. Dissertacao (mestrado) - Instituto de Biociencias, Letras e Ciencias Exatas. Universidade Estadual Paulista . São Paulo.

VASCONCELOS, P F C; TRAVASSOS DA ROSA, J F S; TRAVASSOS DA ROSA, A P A et al . Epidemiologia das encefalites por arbovírus na amazônia brasileira. *Rev. Inst. Med. trop. S. Paulo*, São Paulo, v. 33, n. 6, Dec. 1991.

VASCONCELOS, P F C; TRAVASSOS DA ROSA, J F S; TRAVASSOS DA ROSA, A P A et al . Inadequate management of natural ecosystem in the Brazilian Amazon region

results in the emergence and reemergence of arboviruses. *Cad. Saúde Pública*. 2001, vol.17, suppl., pp. S155-S164.

VIANNA, M S R. A transmissão das Arboviroses e Encefalites 2000. Secretaria Municipal de Saúde: Superintendência de Controle de Zoonoses. *Boletim de Divulgação Técnica e Científica* (8). setembro/2000. Rio de Janeiro – RJ.

WEAVER, S C & REISEN, W K. Present and future arboviral threats. *Antiviral Research* 2010, 85:328-345.

WEAVER, S C; FORRESTER, N L; KENNEY, J L, DEARDORFF, E & WANG, E. Western equine encephalitis submergence: lack of evidence for a decline in virus virulence. *Virology* 380. 2008, 170–172.

[WWW.CIDADEBRASILEIRA.BRASILOLA.COM](http://WWW.CIDADEBRASILEIRA.BRASILOLA.COM)

[WWW.INTERNATIONALRIVERS.ORG](http://WWW.INTERNATIONALRIVERS.ORG)

# **ANEXOS**

# ANEXO I

## QUESTIONÁRIO

### I - IDENTIFICAÇÃO

Nome: \_\_\_\_\_ Idade: \_\_\_\_\_

Sexo: ( ) Masc. ( ) Fem. Peso: \_\_\_\_\_ Altura: \_\_\_\_\_ Cor: \_\_\_\_\_

Naturalidade: \_\_\_\_\_ Data de nascimento: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

Estado Civil: ( ) Solteiro ( ) Casado ( ) Separado ( ) Viúvo

Residência atual: \_\_\_\_\_

Tempo de residência na área: \_\_\_\_\_

Telefones: ( ) \_\_\_\_\_

### II – CONDIÇÕES HABITACIONAIS:

Saneamento: ( ) Bom ( ) Razoável ( ) Ruim

Abastecimento de água: ( ) Encanada ( ) Poço ( ) Rios e Lagos

Fossa: ( ) Sanitária ( ) Fossa Negra ( ) Esgoto

Números de pessoas na casa: \_\_\_\_\_ Adultos ( ) ( ) Crianças

Números de cômodos da casa: \_\_\_\_\_

### III – CONDIÇÕES SÓCIO-ECONÔMICAS:

Escolaridade: \_\_\_\_\_ Profissão: \_\_\_\_\_

Salário Familiar:

( ) < que 1 mínimo ( ) de 3 a 5 mínimos

( ) 1 mínimo ( ) de 5 a 10 mínimos

( ) 2 mínimos ( ) > que 10 mínimos

### IV – ESTILO DE VIDA:

Uso de anticoncepcional: ( ) Sim ( ) Não Qual? \_\_\_\_\_

Ainda menstrua? ( ) Sim ( ) Não

Uso de álcool: ( ) Frequentemente ( ) Eventualmente ( ) Nunca

Fumo: ( ) Frequentemente ( ) Eventualmente ( ) Nunca

Uso de drogas: ( ) Sim ( ) Não Qual? \_\_\_\_\_

Usa mosquiteiro? ( ) Sim ( ) Não Fica à noite perto do rio? ( ) Sim ( ) Não

### V – ANTECEDENTES MÓRBIDOS:

Transfusão sanguínea? ( ) Não ( ) Sim Quantas vezes? \_\_\_\_\_

Internação hospitalar? ( ) Não ( ) Sim Quantas vezes? \_\_\_\_\_

Submetido à cirurgia? ( ) Não ( ) Sim Quantas vezes? \_\_\_\_\_

Doenças anteriores:

Diabetes	( )	AVC	( )	Tuberculose	( )	Hepatite	( )
Hipertensão	( )	Câncer	( )	Hanseníase	( )	Dengue	( )
Cardiopatia	( )	Epilepsia	( )	Malária	( )	Sífilis	( )
Doença renal	( )	Asma brônquica	( )	Leishmaniose	( )	Gonorréia	( )

Outras: \_\_\_\_\_

Toma algum medicamento controlado ( ) Qual? \_\_\_\_\_

Já teve malária ( ) Quantas? 1 a 2X ( ) 3 a 4X ( ) + de 5X ( ) + de 10X ( ) + de 20X ( )

#### VI – SINAIS E SINTOMAS

Febre	( )	Dor abdominal	( )	Edema	( )	Dormência	( )
Cefaléia	( )	Tosse	( )	Lombalgia	( )	Cãimbra	( )
Calafrio	( )	Dispnéia	( )	Mialgia	( )	Fraqueza nas	( )
Náusea/vômito	( )	Urina escura	( )	Convulsão	( )	pernas	( )
Diarréia	( )	Disúria	( )	Tonturas	( )	Dor nos Mis	( )

Outros sintomas: \_\_\_\_\_

#### VII - EXAME DA PELE

Presença de manchas? Sim ( ) Não ( ) Quanto tempo?

Alteração de sensibilidade? Sim ( ) Não ( )

Presença de úlceras? Sim ( ) Não ( ) Nódulos? Sim ( ) Não ( )

Número de lesões?

Contato de hanseníase? Sim ( ) Não ( )

#### VIII – ALIMENTAÇÃO

	Diária	6 a 9X	3 a 6X	1 a 2X	Raramente
Farinha	( )	( )	( )	( )	( )
Feijão	( )	( )	( )	( )	( )
Arroz	( )	( )	( )	( )	( )
Ovos	( )	( )	( )	( )	( )
Peixe	( )	( )	( )	( )	( )
Carne de gado	( )	( )	( )	( )	( )
Frango	( )	( )	( )	( )	( )
Café	( )	( )	( )	( )	( )
Leite	( )	( )	( )	( )	( )
Frutas	( )	( )	( )	( )	( )
Legumes/verd.	( )	( )	( )	( )	( )

Que peixe(s) consome atualmente? \_\_\_\_\_

Responsável pela coleta: \_\_\_\_\_

## ANEXO II

### Termo de Consentimento Livre e Esclarecido - TCLE

#### Projeto Pesquisa: Avaliação da influência dos níveis da UTH de Tucuruí na incidência e prevalência de doenças infecciosas endêmicas da Amazônia: Uma análise multidisciplinar.

Este projeto irá investigar a influência dos níveis do lago da Usina Hidrelétrica de Tucuruí (períodos de cheia e vazante) na ocorrência de doenças infecciosas na população deste lago. Para isso, será realizado exame físico, preenchimento de um questionário e serão coletadas amostras de sangue e fezes para a realização dos exames, tanto para verificar a condição de saúde como para diagnóstico das doenças. Caso ocorra suspeita de tuberculose, será colhida amostra de escarro. Em relação à leishmaniose será coletado raspado da ferida. Em caso de hanseníase, será coletada uma pequena quantidade de líquido (linfa) da orelha. Os exames serão feitos em Belém, no Núcleo de Medicina Tropical – UFPA. Os exames serão para as seguintes doenças: hepatites virais, arboviroses (como a dengue e febre amarela), leishmaniose tegumentar e visceral, malária e as parasitoses intestinais, hanseníase, tuberculose, HTLV, HIV, e sífilis. Além disso, serão realizados exames de rotina como hemograma, colesterol total, HDL, LDL, bilirrubinas, triglicérides, glicemia, TGP e TGO. As amostras serão guardadas em freezer e se necessário, elas serão utilizadas para realização de outro teste para melhor o diagnóstico e investigação dessas doenças.

Se você tiver qualquer pergunta sobre este estudo ou riscos, você pode entrar em contato com o Dr. Juarez Antônio Simões Quaresma, telefone (91) 3241-0032 ou Dra. Hellen Fuzii. Se você tiver dúvidas sobre seus direitos ou com relação aos aspectos éticos do trabalho, você pode entrar em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa Envolvendo Seres Humanos (CEP) do Núcleo de Medicina Tropical – UFPA – Av. Generalíssimo Deodoro, 92, Umarizal, Belém – Pará; telefone 3241-0032.

É garantida a liberdade de retirar o consentimento a qualquer momento e deixar de participar da pesquisa. As informações serão analisadas em conjunto com outros pacientes, não sendo divulgada a identificação de nenhum paciente. Não há nenhuma despesa adicional ao participante neste estudo. Também não haverá compensação financeira relacionada à sua participação. Os dados obtidos por sua participação serão apenas utilizados para este estudo e trabalhos que estejam vinculados a este.

**Consentimento:** Acredito ter sido suficientemente informado a respeito das informações que li ou que foram lidas para mim, descrevendo o estudo “Avaliação dos níveis da UTH de Tucuruí na incidência e prevalência de doenças infecciosas e endêmicas da Amazônia: Uma análise multidisciplinar”.

Eu discuti com o Dr. Juarez Antônio Simões Quaresma, sobre a minha decisão em participar nesse estudo. Ficaram claros pra mim, quais são os propósitos do estudo, os procedimentos a serem realizados, seus desconfortos e riscos, as garantias de confidencialidade e esclarecimentos permanentes. Ficou claro também que a minha participação é isenta de despesas e que tenha garantia do acesso a tratamento hospitalar quando necessário. Concordo voluntariamente em participar deste estudo e poderei retirar meu consentimento a qualquer momento, antes ou durante o mesmo, sem penalidades ou prejuízo ou perda de qualquer benefício que eu possa ter adquirido.

\_\_\_\_\_  
Participante

Belém \_\_\_/\_\_\_/200\_\_

\_\_\_\_\_  
Testemunha

Belém \_\_\_/\_\_\_/200\_\_

Declaro que obtive de forma apropriada e voluntária o Consentimento Livre e Esclarecido deste paciente para participação neste estudo.

\_\_\_\_\_  
Pesquisador

Belém \_\_\_/\_\_\_/200\_\_

## ANEXO III



UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ  
NÚCLO DE MEDICINA TROPICAL  
COMITÉ DE ÉTICA EM PESQUISA ENVOLVENDO SERES HUMANOS

### PARECER DE ÉTICA DE PROJETO DE PESQUISA ENVOLVENDO SERES HUMANOS

1. **Protocolo:** Nº056 /2008-CEP/NMT
2. **Projeto de Pesquisa:** AVALIAÇÃO DA INFLUÊNCIA DOS NÍVEIS DO UTH DE TUCURUI NA INCIDÊNCIA E PREVALÊNCIA DE DOENÇAS INFECCIOSAS ENDÊMICAS DA AMAZÔNIA: UMA ANÁLISE MULTIDISCIPLINAR.
3. **Pesquisador Responsável:** JUARES ANTONIO SIMÕES QUARESMA.
4. **Instituição / Unidade:** NMT/UFPA.
5. **Data de Entrada:** 07/11/2008
6. **Data do Parecer:** 14/11/2008.

#### PARECER

Considerando: - a urgência em iniciar o estudo referente a proposta em tela; - que o protocolo apresentado, atende as exigências da resolução 196/96/CNS/MS, decidimos aprová-lo "ad referendum" e , apresentá-lo à próxima reunião prevista para 26/11/2008.

Parecer: **APROVADO**

Belém, 14 de novembro de 2008.

**Profº Teiichi Oikawa**  
Coordenador do CEP-NMT/UFPA.