

INFECÇÃO HUMANA ADQUIRIDA EM LABORATÓRIO CAUSADA PELO VIRUS SP H 114202 (*Arenavirus*: FAMÍLIA ARENAVIRIDAE): ASPECTOS CLÍNICOS E LABORATORIAIS

Pedro Fernando da Costa VASCONCELOS (1), Amélia Paes de Andrade TRAVASSOS DA ROSA (1),
Sueli Guerreiro RODRIGUES (1), Robert TESH (2), Jorge Fernando Soares TRAVASSOS DA ROSA (1)
& Elizabeth Salbé TRAVASSOS DA ROSA (1).

RESUMO

São descritos os achados clínico-laboratoriais da infecção acidental pelo vírus SP H 114202 (*Arenavirus*, família Arenaviridae), um vírus novo causador de febre hemorrágica humana. O paciente, técnico de laboratório, apresentou quadro febril por 13 dias. A doença cursou com febre elevada (39°C.) diária, cefaléia, calafrios e mialgias por 8 dias. A partir do 3º dia surgiram náuseas, vômitos alimentares e anorexia e no 10º dia, epigastria, diarreia e gengivorragia. Laboratorialmente, foram observadas as seguintes alterações: leucopenia gradativa com linfocitose a medida que a doença evoluía, passando de 5800 para 4100, 3400 e 2500 leucócitos por mm³ de sangue com 2, 5, 9 e 11 dias de doença, respectivamente. Ocorreram ainda, discretas alterações nas transaminases (TGO=54 e TGP=52) no 9º dia de doença. O coagulograma e velocidade de hemossedimentação foram normais. Conversão sorológica para o vírus em apreço, foi detectada através dos testes de fixação do complemento, neutralização e ELISA. Sangue do paciente inoculado em camundongos recém nascidos, hamsters e células VERO, apresentou resultado negativo para isolamento de vírus.

Esse vírus foi isolado pela primeira vez em São Paulo, em 1990, a partir do sangue de um paciente que apresentou febre hemorrágica com evolução fatal. Recomenda-se extremo cuidado no manuseio desse vírus por tratar-se de patógeno com riscos de transmissão por aerossóis (contaminante classe III ou IV).

UNITERMOS: *Arenavirus*; Síndrome febril; Doença humana; Infecção de laboratório

INTRODUÇÃO

Em janeiro de 1990 foi isolada pelo Instituto Adolpho Lutz (IAL) em São Paulo, uma amostra viral (SP H 114202), a partir de um caso fatal de febre hemorrágica¹. Esse vírus testado contra soros imunes de vários arbovirus apresentou resultado negativo. Em junho de 1992, o IAL enviou ao Instituto Evandro Chagas (IEC) em Belém, a referida amostra para testes objetivando a sua identificação. No IEC, foram preparados antígeno de cérebros de camundongos recém nascidos infectados, tratados por sucrose-acetona e, soro imune específico. Testes de fixação de complemento

(FC) foram realizados e mostraram que a amostra SP H 114202 constituía um novo vírus dentro do gênero *Arenavirus* (Arenaviridae), grupo Tacaribe, da classificação de CASALS². Esses resultados foram confirmados no *Yale Arbovirus Research Unit* através dos testes de imunofluorescência indireta (TESH, R., informação pessoal) e sequenciamento (RICO-HESSE, R., informação pessoal).

Os *Arenavirus* têm sido isolados no Velho Mundo (LCM, Lassa e Mobala) e no Novo Mundo⁶. Esses vírus

(1) Serviço de Arbovirus, Instituto Evandro Chagas, FNS/MS, Av. Almirante Barroso 492, CP 1128, 66090-000, Belém, Pará, Brasil.

(2) Yale Arbovirus Research Unit, Yale University, New Haven, Connecticut, USA.

são envolvidos com doenças febris hemorrágicas em vários países (Tabela 1).

Na América do Sul, os vírus Junin, Machupo e Guanarito são os responsáveis por quadros de febres hemorrágicas na Argentina, Bolívia e Venezuela, respectivamente^{6,13}. Esses 3 vírus apresentam elevada mortalidade entre os pacientes infectados. No Brasil, outros *Arenavirus*, quais sejam Amapari e Flexal, foram isolados no IEC¹². O Flexal causou em 1978, um caso de infecção de laboratório¹¹.

Os vírus do grupo Tacaribe são mantidos na natureza em roedores que se apresentam perenemente infectados, sendo transmitidos ao homem por secreções eliminadas por esses animais. A transmissão é feita basicamente por inalação de aerossóis¹⁰.

O presente trabalho descreve a ocorrência de um caso de infecção humana adquirida em laboratório por um técnico que trabalhou com o vírus SP II 114202, durante sua fase de caracterização.

DESCRIÇÃO DO CASO

O paciente B.S.B., 39 anos, adoeceu no dia 30/08/92, tendo iniciado quadro com mal estar geral, calafrios e dores musculares. Algumas horas após, ainda no mesmo dia, passou a apresentar febre variando a intensidade de moderada a elevada (38°-40°C.), cefaléia holocraniana e calafrios intensos. No dia seguinte, o paciente

evoluiu com os mesmos sintomas. No dia 01/09/92, procurou atendimento médico pois o quadro havia piorado, passando a apresentar, além dos sintomas acima mencionados, náuseas com vômitos alimentares e anorexia; ademais as dores musculares generalizaram-se. A temperatura axilar do paciente ficou constante em torno de 39°C. Os calafrios e a cefaléia tornaram-se mais intensos. A febre e cefaléia aliviaram, sem no entanto ceder ao uso de antitérmicos e analgésicos. O hemograma realizado nesse dia (01/09) apresentou 5.800 leucócitos com linfocitose (Tabela 2). Os demais exames, quais sejam velocidade de hemossedimentação (VIIS), coagulograma (203.000 plaquetas por mm³ de sangue), transaminases (Tabela 3) e pesquisa de plasmódio, apresentaram resultados normais ou negativos. Nos dias 04/09 e 08/09 o hemograma mostrava leucopenia, com 4.100 e 3.400 leucócitos, respectivamente, com fórmula leucocitária apresentando valores percentuais normais (Tabela 2).

O paciente foi internado em 08/09, quando passou a apresentar além dos sintomas acima descritos, ulcerações da mucosa oral, diarreia, epigastralgia e discreta gengivorragia (ao realizar higiene bucal). A febre apresentava-se muito elevada, os vômitos alimentares precedidos de náuseas eram bastante frequentes, as mialgias muito intensas. Nova pesquisa de plasmódio realizada apresentou resultado negativo. As transaminases no entanto, mostraram discreto aumento (Tabela 3).

Tabela 1

Distribuição dos *Arenavirus* isolados de acordo com o local, ano de isolamento e capacidade de causar doença humana (adaptado de KARABATSOS, 1985)^{6*}.

VÍRUS	LOCAL DE ISOLAMENTO	ANO	DOENÇA NO HOMEM
AMAPARI	Amapá-Brasil	1964	NÃO
FLEXAL	Pará-Brasil	1975	SIM **
GUANARITO	Venezuela	1990	SIM
IPPY	Rep.Centro-Africana	1970	NÃO
JUNIN	Argentina	1958	SIM
LATINO	Bolívia	1965	NÃO
LASSA	Nigéria	1969	SIM
MACHUPO	Bolívia	1963	SIM
MOBALA	Rep.Centro-Africana	1981	NÃO
PARANA	Paraguai	1965	NÃO
PICHINDE	Colômbia	1965	NÃO
TACARIBE	Trinidade	1956	NÃO
TAMIAMI	USA	1965	NÃO
SP II 114202	São Paulo-Brasil	1990	SIM

* O vírus Lymphocytic meningitis (LCM) não é registrado mas faz parte do gênero *Arenavirus*

** somente um caso de infecção de laboratório

Tabela 2

Resultados dos leucogramas realizados pelo paciente infectado com o vírus SP H 114202

Células/Datas	FASE AGUDA				FASE CONVALESCENTE		
	01/09	04/09	08/09	10/09	14/09	21/09	17/10
Leucócitos	5.800	4.100	3.400	2.500	4.100	4.700	5.200
BASÓFILOS	0	1	0	0	0	0	0
EOSINÓFILOS	1	1	1	0	1	2	12
BASTONETES*	0	2	3	2	2	0	0
SEGMENTADOS*	51	49	56	27	49	42	46
LINFÓCITOS	47	41	38	68	41	55	42
MONÓCITOS	1	6	2	3	6	1	0

* Neutrófilos

No dia 10/09/92 o hemograma revelou intensa leucopenia (2.500 leucócitos) com linfocitose e neutropenia (Tabela 2). Os outros exames realizados (VHS, bilirrubina, coagulograma, transaminases e urina tipo I) apresentaram resultados normais. Eletrocardiograma, realizado nesse dia não apresentou qualquer alteração em seu traçado. Clinicamente, o paciente ainda apresentava febre com intensa hiperemia do orofaringe, mas com diminuição significativa dos outros sintomas.

A partir do 4º até o 6º dia de internamento houve evolução do quadro geral com melhora gradativa dos sintomas, tendo recebido alta hospitalar no 7º dia de internação (14º dia de doença).

Em nenhum momento, o paciente apresentou trombocitopenia, com os valores das plaquetas sempre acima de 200.000 por mm³ de sangue. Ademais, as outras provas do coagulograma também apresentaram resultados dentro dos valores considerados normais.

Tabela 3

Resultados dos exames de hemossedimentação, transaminases e coagulograma.

DATA	V.H.S.1	T.G.O.2	T.G.P.3	COAGULOGRAMA
01/09	4	27	22	N.R.
08/09	N.R.	54	52	NORMAL
10/09	8	40	36	NORMAL
17/10	N.R.	22	17	NORMAL

Valores normais: 1 = até 10 mm/ 1ª hora
2 = 8 - 40 UK R.F.
3 = 5 - 32 UK R.F.
N.R. = Não realizado

Os sintomas negativos são exantema, petéquias, dor retro-ocular, conjuntivite, alterações do nível de consciência, alterações da marcha e outros sinais e sintomas de comprometimento neurológico.

Amostras de sangue colhidas nos dias 01 e 05 de setembro (2 e 7 dias de doença) foram inoculadas em camundongos e hamsters recém nascidos, bem como, em células Vero para tentativa de isolamento viral. Ambas foram negativas.

As amostras de soro para pesquisa de anticorpos específicos foram testadas por fixação de complemento (FC), neutralização (TN) e ensaio imunoenzimático para detecção de IgM pelo método de captura (MAC ELISA)^{14,15}. Os resultados mostraram conversão sorológica pelos três testes utilizados. No teste de MAC ELISA, inclusive IgM específica foi detectada em 3 amostras nos 16º, 23º e 39º dias de doença (Tabela 4).

DISCUSSÃO

Os *Arenavirus* comumente apresentam distribuição focal, ou seja, incidem exclusivamente em uma região bem delimitada, onde roedores são abundantes. A exceção é o vírus Lassa, que se distribui amplamente, do Egito à África do Sul^{6,9}.

Infecções adquiridas em laboratório têm sido registradas por vários *Arenavirus*⁴. Os mais associados com esse tipo de infecção são os vírus Machupo, Lassa, Junin e LCM (vírus não registrado que pertence ao gênero *Arenavirus*, vide Tabela 1). O quadro clínico tem variado desde síndromes febris incompletas até formas hemorrágicas fatais^{1,8,9}. Em qualquer caso, sempre estão presentes febre elevada, cefaléia, dor no orofaringe, tosse, diarreia, dor abdominal e mialgias. Esses sinto-

Tabela 4

Resultados dos testes sorológicos (FC, TN e ELISA) com os soros do paciente durante as fases aguda e convalescente.

TESTES	FASE AGUDA			FASE CONVALESCENTE				
	01/09	04/09	08/09	14/09	21/09	07/10	27/10	12/11
FC	<8	<8	<8	8	32	>64	32	32
TN	<1.2*	NR	<1.4	2.6	2.4	NR	3.4	NR
ELISA	-	NR	-	+ ¹	+ ²	+ ³	-	-
DIAS DE DOENÇA	3°	6°	10°	16°	23°	39°	49°	75°

* = Expresso em índice logarítmico de neutralização

NR = Não realizado

- = Negativo, Densidade ótica <0.200

+ = Positivo; Densidade ótica de : +¹ = 0.430; +² = 0.411; +³ = 0.234

mas gerais duram por volta de 7-15 dias, quando então, ou diminuem até cessar ou evoluem para as formas mais graves da doença.

No Brasil, há descrição de um caso de infecção de laboratório pelo *Arenavirus* Flexal (FLE), ocorrida em 1978¹¹. Nesse episódio, o período de incubação foi de aproximadamente 5 semanas; a paciente desenvolveu uma síndrome febril que durou 4 semanas. Além da febre elevada, observou-se calafrios, cefaléia, tontura, mialgias generalizadas, dores nos globos oculares, no epigastrio e dorso, náuseas, vômitos e diarreia. Laboratorialmente, as principais alterações foram a aceleração na velocidade de hemossedimentação (28 mm e 43 mm no 4° e 14° dias de doença, respectivamente), o que não foi observado no presente caso (Tabela 3). A diarreia na infecção pelo FLE, durou uma semana, o que não foi observado no caso presentemente descrito. No caso ocorrido em 1978, não houve alterações nas transaminases. Já no presente relato, o paciente apresentou discretas alterações nas transaminases, principalmente da TGO (Tabela 3), o que está de acordo com a literatura^{5,7}.

O quadro apresentado pelo paciente em estudo, pode ser enquadrado como uma síndrome febril com sintomatologia geral um pouco mais severa que o comumente observado em outras síndromes febris. Febre, mialgias e dor no orofaringe foram os sintomas que mais incomodaram o paciente. A garganta do paciente apresentava-se bastante hiperemiada, com as tonsilas amigdalíneas tumefeitas. O paciente relatou extremo desconforto à deglutição, o que têm sido observado com frequência nos casos de infecções por *Arenavirus*¹³. No caso em pauta, o paciente trabalhou com o vírus a partir do dia 30/07 ou seja, 1 mês antes

de adoecer, quando realizou passagem do vírus para estoque. Dia 07/08, isto é, cerca de 3 semanas antecedendo o início da doença, começou a imunizar camundongos para obtenção de soro imune. Considerando essas duas datas como as mais prováveis datas de contaminação, estimamos que o período de incubação foi de três a quatro semanas.

No que diz respeito as alterações neurológicas, os sinais e sintomas comumente observados em pacientes infectados por *Arenavirus* são caracterizados por insônia, sonolência, irritabilidade, hipotonia muscular, hipo ou arreflexia profunda, alteração da marcha, tremor das mãos e língua, nistagmo e anisocoria¹. O paciente BSB, não apresentou nenhuma alteração motora, comportamental ou do nível de consciência que justificasse um exame neurológico por especialista. A ausência de manifestações neurológicas por certo, foi um dado que melhorou o prognóstico do paciente.

Os testes sorológicos realizados para caracterização da amostra SP H 114202, mostraram que este vírus é antígenicamente mais relacionado com o Machupo, Guanarito e Amapari, sendo mais distante do Flexal, Tacaribe, Tamiami e Parana. O vírus Machupo tem sido responsável por inúmeros surtos de febre hemorrágica boliviana, com elevada letalidade^{6,8}. Mais recentemente, em 1989, o vírus Guanarito foi isolado de casos de febre hemorrágica durante a epidemia de febre hemorrágica do dengue na Venezuela. De 14 casos confirmados, 11 dos quais por isolamento viral, 9 (64.3%) foram fatais¹³.

Os resultados sorológicos com as amostras de soro do paciente, demonstram claramente a viragem no nível dos títulos de anticorpos para o vírus em questão. Fato

interessante foi a detecção de IgM específica para o vírus, através da técnica de MAC ELISA, em amostras coletadas entre o 16º e 39º dias de doença.

SUMMARY

Laboratory acquired infection by the virus SP H 114202 (*Arenavirus*: *Arenaviridae*): clinical and laboratory findings.

Here in is described the clinical and laboratorial findings of a laboratory-acquired infection caused by the virus SP H 114202 (*Arenavirus*, family *Arenaviridae*) a recently discovered agent responsible for a viral hemorrhagic fever. The patient was sick for 13 days. The disease had an abrupt onset characterized by high fever (39°C.), headache, chills and myalgias for 8 days. In addition, on the 3rd day, the patient developed nauseas and vomiting, and in the 10th, epigastralgia, diarrhea and gengivorrhagia. Leucopenia was seen within the 1st week of onset, with counts as low as 2,500 white cells per mm³. Counts performed after the 23th day of the onset were within normal limits. With the exception of moderate lymphocytosis, no changes were observed in differential counts.

An increase in the titer of antibodies by complement fixation, neutralization and ELISA (IgM) was detected. Suckling mice and baby hamsters were inoculated intracerebrally with 0.02 ml of blood samples collected in the 2nd and 7th days of disease. Attempts to isolate the virus were also made in Vero cells. No virus was isolated.

This virus was isolated before in a single occasion in São Paulo State, in 1990, from the blood of a patient with hemorrhagic fever with a fatal outcome. The manipulation of the virus under study, must be done carefully, since the transmission can occur through aerosols.

AGRADECIMENTOS

Somos gratos ao Sr. Basílio Silva Buna pelo apoio na realização dos testes sorológicos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BIQUARD, C.; FIGINI, H.A.; MONTEVERDE, D.A.; SOMOZA, M.J. & ALVAREZ, A. - Manifestaciones neurológicas de la fiebre hemorrágica argentina. *Medicina (B.Aires)*, 37 (supl.3): 193-199, 1977.
- CASALS, J. - The arthropod-borne group of animal viruses. *Trans. N.Y. Acad. Sci.*, 19: 219-235, 1957.
- COIMBRA, T.L.M.; NASSAR, E.S.; SOUZA, L.T.M.; FERREIRA, I.B.; ROCCO, I.M.; TRAVASSOS DA ROSA, A. & TESH, R.B. - Febre hemorrágica por *Arenavirus* no Estado de São Paulo. In: CONGRESSO DA SOCIEDADE BRASILEIRA MEDICINA TROPICAL, 29, Fortaleza, 1993. *Resumos*. p. 331.
- HANSON, R.P.; SULKIN, S.E.; BUESCHER, E.L.; HAMMON, W.McD.; MCKINNEY, R.W. & WORK, T.H. - Arbovirus infections of laboratory workers. *Science*, 158: 1283-1286, 1967.
- JOHNSON, K. M.; MCCORMICK, J. B.; WEBB, P. A.; SMITH, E. S.; ELLIOTT, L. H. & KING, I. J. - Clinical virology of Lassa fever in hospitalized patients. *J. infect. Dis.*, 55: 456-464, 1987.
- KARABATSOS, N., ed. - International catalogue of arboviruses including certain other viruses of vertebrates. San Antonio, USA, American Society of Tropical Medicine and Hygiene, 1985.
- MANDÓ, O. G. - Alteraciones hepáticas y enzimáticas de la fiebre hemorrágica argentina. *Medicina (B.Aires)*, 37 (supl.3): 190-192, 1977.
- MERCADO, R. - Evolución clínica y tratamiento de la fiebre hemorrágica boliviana. *Medicina (B.Aires)*, 37 (supl.3): 216-219, 1977.
- MONATH, T. P. - Lassa fever: past, present and possible future status. *Medicina (B. Aires)*, 37 (supl.3): 167-174, 1977.
- PFAU, C. J. - The role of defective interfering (DI) virus in *Arenavirus* infection. *Medicina (B.Aires)*, 37 (supl.3): 32-38, 1977.
- PINHEIRO, F. P.; TRAVASSOS DA ROSA, A. P. A.; FREITAS, R. B.; TRAVASSOS DA ROSA, J. F. S. & VASCONCELOS, P. F. C. - Arboviroses, aspectos clínico-epidemiológicos. In: INSTITUTO EVANDRO CHAGAS: 50 ANOS DE CONTRIBUIÇÃO ÀS CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E À MEDICINA TROPICAL, Belém, Fundação SESP, 1986. v.1, p. 375-408.
- PINHEIRO, F. P.; WOODALL, J. P.; TRAVASSOS DA ROSA, A. P. A. & TRAVASSOS DA ROSA, J. F. S. - Studies on *Arenaviruses* in Brazil. *Medicina (B. Aires)*, 37 (supl.3): p. 175-181, 1977.
- SALAS, R.; MANZIONE, N.; TESH, R.B.; RICO-HESS, R.; SHOPE, R.E.; BETANCOURT, A.; GODOY, O.; BRUZUAL, R.; PACHECO, M.E.; RAMOS, B.; TAIBO, M.E.; TAMAYO, J.G.; JAMES, E.; VASQUEZ, C.; ARAOZ, F. & QUERALES, J. - Venezuelan haemorrhagic fever. *Lancet*, 338: 1033-1036, 1991.
- SHOPE, R. E. & SATHIER, G. E. - The arboviruses. In: LENNETTE, E. H. & SCHMIDT, N. J., ed. *Diagnostic procedures for viral, rickettsial and chlamydial infections*. 5 ed. Washington, American Public Health Association, 1979. p. 767-814.
- VASCONCELOS, P. F. C.; TRAVASSOS DA ROSA, J. F. S.; GUERREIRO, S. C.; DÉGALLIER, N.; TRAVASSOS DA ROSA, E. S. & TRAVASSOS DA ROSA, A. P. A. - Primeiro registro de epidemias causadas pelo vírus Oropouche nos estados do Maranhão e Goiás, Brasil. *Rev. Inst. Med. trop. S. Paulo*, 31: 271-278, 1989.

Recebido para publicação em 29/03/1993
Aceito para publicação em 22/07/1993