

## **A FEBRE DO OROPOUCHE: UMA REVISÃO DOS ASPECTOS EPIDEMIOLÓGICOS E MOLECULARES NA AMAZÔNIA BRASILEIRA**

*Oropouche fever: an overview of the epidemiological and molecular aspects in the brazilian Amazon region*

Marcio Roberto Teixeira Nunes<sup>1</sup>, Helena Baldez Vasconcelos<sup>2</sup>, Daniele Barbosa de Almeida Medeiros<sup>3</sup>, Sueli Gerreiro Rodrigues<sup>4</sup>, Raimunda do Socorro da Silva Azevedo<sup>5</sup>, Jannifer Oliveira Chiang<sup>6</sup>, Livia Carício Martins<sup>7</sup>, Pedro Fernando da Costa Vasconcelos<sup>8</sup>

### RESUMO

O vírus Oropouche (VORO; *Bunyaviridae*, *Orthobunyavirus*) é um dos mais importantes arbovírus que infectam humanos na Amazônia Brasileira, sendo o agente causador da febre do Oropouche. Entre os anos de 1961 e 2006, um grande número de epidemias foi registrado em diferentes centros urbanos do estado do Pará (Belém, Santa Isabel, Castanhal, Santarém, Oriximiná, Serra Pelada, zona Bragantina – Igarapé Açu, Maracanã e Magalhães Barata), do Amazonas (Manaus e Barcelos), Acre (Xapuri), Amapá (Mazagão), Maranhão (Porto Franco), Tocantins (Tocantinópolis) e Rondônia (Ariquemes e Oro Preto D'Oeste). Estudos moleculares têm demonstrado a presença de pelo menos três linhagens distintas do VORO na Amazônia Brasileira (genótipos I, II e III), sendo os genótipos I e II os mais freqüentemente encontrados em regiões da Amazônia ocidental e oriental, respectivamente. O genótipo III do VORO, previamente encontrado somente no Panamá, foi recentemente descrito na região Sudeste do Brasil. A associação de dados epidemiológicos e moleculares vêm contribuindo substancialmente para a caracterização das cepas do VORO isoladas durante epidemias, no período de pelo menos quatro décadas, bem como permitindo um melhor

<sup>1</sup> Doutor em Biologia de Agentes Infecciosos e Parasitários. Pesquisador da Seção de Arbovirologia e Febres Hemorrágicas do Instituto Evandro Chagas / SVS/MS.

<sup>2</sup> Enfermeira. Especialização em Saúde Pública. Pesquisadora da Seção de Arbovirologia e Febres Hemorrágicas do Instituto Evandro Chagas / SVS/MS.

<sup>3</sup> Doutora em Biologia de Agentes Infecciosos e Parasitários. Pesquisadora da Seção de Arbovirologia e Febres Hemorrágicas do Instituto Evandro Chagas / SVS/MS.

<sup>4</sup> Mestre em Biologia de Agentes Infecciosos e Parasitários. Pesquisadora da Seção de Arbovirologia e Febres Hemorrágicas do Instituto Evandro Chagas / SVS/MS.

<sup>5</sup> Mestre em Biologia de Agentes Infecciosos e Parasitários. Pesquisadora da Seção de Arbovirologia e Febres Hemorrágicas do Instituto Evandro Chagas / SVS/MS.

<sup>6</sup> Doutora em Biologia de Agentes Infecciosos e Parasitários. Pesquisadora da Seção de Arbovirologia e Febres Hemorrágicas do Instituto Evandro Chagas / SVS/MS.

<sup>7</sup> Doutora em Ciências Biológicas. Pesquisadora da Seção de Arbovirologia e Febres Hemorrágicas do Instituto Evandro Chagas / SVS/MS.

<sup>8</sup> Doutor em Medicina. Pesquisador e chefe da Seção de Arbovirologia e Febres Hemorrágicas do Instituto Evandro Chagas / SVS/MS - Av. Almirante Barroso, 492, CEP: 66093-020, Belém - PA. E-mail: pedrovasconcelos@iec.pa.gov.br

entendimento a respeito da epidemiologia molecular do VORO no que tange à emergência de novas linhagens genéticas e à dinâmica evolutiva desse arbovírus nas Américas e principalmente na Amazônia Brasileira. Este trabalho tem por objetivo apresentar uma revisão dos aspectos epidemiológicos e moleculares do VORO enfatizando sua distribuição, a dinâmica das epidemias ocorridas entre 1961 e 2006, bem como a dispersão de diferentes genótipos no Brasil.

#### PALAVRAS-CHAVE

Vírus Oropouche, epidemiologia molecular, Amazônia Brasileira

#### ABSTRACT

The Oropouche virus (OROV; *Bunyaviridae*, *Orthobunyavirus*) is one of the most important arbovirus that infect humans in the Amazon region causing an arboviral disease denominated Oropouche fever. Between 1961 and 2006, several outbreaks were reported in different urban areas of Pará (Belém, Santa Isabel, Castanhal, Santarém, Oriximiná, Serra Pelada, zone Bragantina – Igarapé Açu, Maracanã e Magalhães Barata), Amazonas (Manaus e Barcelos), Acre (Xapuri), Amapá (Mazagão), Maranhão (Porto Franco), Tocantins (Tocantinópolis) and Rondônia (Ariquemes e Oro Preto D'Oeste) states. Molecular studies recently conducted have demonstrated the circulation of at least three major OROV lineages in the Amazon region (genotypes I, II and III). The genotypes I and II are more frequently detected in the western and eastern Amazon, respectively. The genotype III, previously recognized only in Panama, was recently described in Southeast region of Brazil. The association of molecular and epidemiological data has contributed substantially for the genetic characterization of OROV strains isolated during different outbreaks in the past four decades, as well as providing a better understanding regarding its molecular epidemiology in terms of emergence of new lineages and dynamic of evolution of these arboviruses in the Americas mainly in the Amazon region. This work aims to present a comprehensive review regarding the epidemiological and molecular aspects of the OROV emphasizing its geographic distribution, dynamics of the outbreaks occurred between 1961 and 2006, as well as the genotype dispersion in Brazil.

#### KEY WORDS

Oropouche virus, molecular epidemiology, Amazon region

## 1. INTRODUÇÃO

Na Amazônia Brasileira, a febre do Oropouche é considerada a mais frequente arbovirose que acomete o homem depois da dengue, sendo caracterizada por episódios de doença febril aguda acompanhada principalmente por cefaléia, artralgia, mialgia, fotofobia e outras manifestações sistêmicas. Mais raramente, alguns pacientes podem apresentar um quadro de meningite asséptica com sinais e sintomas típicos de comprometimento das meninges. Interessante é que os sintomas da febre do Oropouche geralmente reaparecem poucos dias após o final do episódio febril inicial, no entanto são usualmente menos severos. Os pacientes acometidos pela febre do Oropouche se recuperam completamente e sem seqüelas, mesmo em casos

mais severos. Até o momento, nenhum caso fatal foi registrado e/ou associado à febre do Oropouche. Uma das mais importantes características do *vírus Oropouche* (VORO) é a sua capacidade de causar epidemias em centros urbanos, das quais a maioria foi registrada na Amazônia Brasileira (Pinheiro *et al.*, 1981; 2004).

O VORO foi isolado pela primeira vez em 1955 em amostra de sangue de um paciente febril residente no vilarejo denominado Vega de Oropouche em Trinidad, bem como de um lote de mosquitos *Coquillettidia venezuelensis* (Anderson *et al.*, 1961). No Brasil, o vírus foi isolado pela primeira vez em 1960 a partir do sangue de uma preguiça (*Bradypus trydactylus*) capturada em uma área silvestre durante a construção da rodovia Belém-Brasília e de um lote de mosquitos *Ochlerotatus serratus* capturados próximo à mesma área (Pinheiro *et al.*, 1962). No ano seguinte, a doença foi detectada na capital Paraense, ocasião em que o vírus causou uma grande epidemia, na qual cerca de 11.000 pessoas foram afetadas pela doença (Pinheiro *et al.*, 1962). A partir deste momento, o VORO demonstrou seu potencial epidêmico causando outras epidemias em diferentes centros urbanos da região Norte e Nordeste do Brasil, mais especificamente nos estados do Pará, Amapá, Amazonas, Acre, Tocantins, Maranhão e Rondônia (Pinheiro *et al.*, 2004). Fora do Brasil, epidemias causadas pelo VORO foram registradas no Panamá (1989) (Pinheiro *et al.*, 2004), bem como na região Amazônica Peruana (1992 e 1994) (Chavez *et al.*, 1992; Watts *et al.*, 1997).

Este trabalho tem por objetivo apresentar uma revisão dos aspectos moleculares e epidemiológicos do VORO, enfatizando a distribuição geográfica desse importante arbovírus Amazônico, a dinâmica das epidemias registradas entre os anos de 1961 e 2006, bem como dados moleculares recentes no que tange a dispersão dos diferentes genótipos do VORO no Brasil. Todos os dados apresentados foram obtidos a partir de estudos epidemiológicos e moleculares publicados em revistas científicas nacionais e internacionais, bem como a partir de comunicações pessoais de diferentes pesquisadores envolvidos com pesquisas sobre o VORO.

## 2. O VÍRUS OROPOUCHE (VORO)

A febre do Oropouche é causada pelo VORO, um arbovírus que pertence à família *Bunyaviridae*, gênero *Orthobunyavirus* (Fauquet *et al.*, 2005). A partícula viral apresenta-se sob a forma esférica, cujo diâmetro varia de 90 a 100 nm. Por apresentar envelope, o vírus é sensível à ação de solventes orgânicos (éter e clorofórmio) e detergentes (desoxicolado de sódio) (Karabatsos, 1985). A simetria dos virions é helicoidal apresentando como material genético o ácido ribonucléico (RNA) (Bishop & Shope, 1979). O genoma deste vírus, assim como os demais orthobunyavírus, é constituído por três moléculas de RNA fita simples, polaridade negativa, denominados SRNA, MRNA e LRNA correspondentes aos segmentos

pequeno, médio e grande, respectivamente (Fauquet *et al.*, 2005). Estes segmentos são responsáveis pela codificação de seis proteínas, sendo três estruturais, uma delas a proteína de nucleocapsídeo, N, que é codificada no segmento SRNA, e outras duas, glicoproteínas de superfície, Gn e GC, codificadas no segmento MRNA. As proteínas não estruturais NSs, NSm e L (polimerase viral) são codificadas nos segmentos S, M e LRNAs, respectivamente (Fauquet *et al.*, 2005). O VORO possui hemaglutinina que apresenta atividade hemaglutinante para hemácias de gansos, podendo esta ser recuperada do soro de hamsters (*Mesocricetus auratus*) infectados tratados pelo método da sucrose-acetona (Travassos da Rosa *et al.*, comunicação pessoal, 1969). Em termos de patogenia, a inoculação do VORO em camundongos recém-nascidos (2-3 dias) pelas vias intracerebral (i.c) e intraperitoneal (i.p), bem como em hamsters adultos pelas vias i.c, i.p e subcutânea, produzem infecção letal para esses animais. O vírus se replica em um grande número de sistemas celulares, incluindo as células VERO, BHK-21 e células embrionárias de pinto (fibroblastos), causando efeito citopatogênico (Pinheiro *et al.*, 1994).

Estudos laboratoriais e de campo realizados por pesquisadores da Seção de Arbovirologia e Febres Hemorrágicas do Instituto Evandro Chagas (IEC) durante o curso das inúmeras epidemias ocorridas na Amazônia Brasileira demonstraram a importância do inseto *Culicoides paraensis* (família *Ceratopogonidae*) como vetor urbano para o VORO (Pinheiro *et al.* 1981a; 1982). Este diminuto inseto comumente chamado de “maruim” na região Amazônica é encontrado em áreas tropicais e subtropicais das Américas sendo ativo durante o dia, mais especificamente no período da tarde, cuja hematofagia em humanos é exercida tanto dentro quanto fora do domicílio (Hoch *et al.*, 1990; Karabatsos, 1985; Pinheiro *et al.*, 1976).

O VORO é mantido em natureza mediante dois ciclos distintos: um ciclo urbano e outro silvestre (Pinheiro *et al.*, 1981b). No ciclo urbano, conhecido também como ciclo epidêmico, o vírus é transmitido entre indivíduos infectados e indivíduos sadios suscetíveis pela picada do *C. paraensis* durante a realização do repasto sanguíneo. Este inseto se multiplica principalmente em áreas com acúmulo de material orgânico em decomposição, tais como cascas de cacau, cachos de bananas e troncos de bananeiras (Linley *et al.*, 1983). Estudos utilizando hamsters como modelo experimental evidenciaram a transmissão do VORO entre estes animais tendo o mosquito *Culex quinquefasciatus* (um mosquito comumente encontrado em centros urbanos da Amazônia) como vetor. No entanto, a transmissão ocorreu somente quando altos níveis de viremia eram observados nos hamsters, níveis estes que raramente ocorrem em humanos infectados. Estes dados praticamente descartam mosquitos *Culex* como vetores urbanos envolvidos na transmissão do VORO durante as epidemias (Pinheiro *et al.*, 1981b).

Em relação ao ciclo silvestre, evidências sugerem que, entre os vertebrados, as preguiças (*Bradypus tridactylus*), macacos e, possivelmente, determinadas espécies de aves silvestres podem servir como hospedeiros para o VORO (Pinheiro *et al.*, 1962; 2004; Nunes *et al.*, 2005). Embora o VORO tenha sido isolado uma única vez de um lote de mosquitos *Aedes serratus* no Brasil e de um lote de *Coquillettidia venezuelensis* em Trinidad (Pinheiro *et al.*, 1981b), até o momento nenhum tipo de estudo foi realizado objetivando avaliar o envolvimento do maruim na transmissão do vírus no que tange o ciclo silvestre. A ligação entre os dois ciclos de manutenção do VORO provavelmente é feita pelo próprio homem, que ao se infectar em áreas enzoóticas silvestres retorna aos centros urbanos ainda em período virêmico, tornando-se uma fonte de vírus em potencial para a infecção de novos maruims. O VORO se replica nos tecidos do maruim, que após um período extrínseco de incubação realiza o repasto sangüíneo e infecta novos indivíduos suscetíveis, dando início a uma cadeia de infecção que culmina em epidemias (Pinheiro *et al.*, 2004).

### 3. DISTRIBUIÇÃO GEOGRÁFICA E DISPERSÃO DAS EPIDEMIAS

Até o momento, os únicos casos de febre por Oropouche, bem como o isolamento do vírus, têm sido registrados e descritos no Brasil, Panamá, Peru e Trinidad. No Brasil, desde o primeiro isolamento do vírus em 1960 até 1980 o VORO causou diversas epidemias, porém restritas ao estado do Pará, atingindo diferentes municípios das mesorregiões Metropolitana de Belém (Belém, Ananindeua, Benfica, Caraparu, Castanhal e Santa Isabel do Pará), Nordeste (Abaetetuba, Augusto Correa, Baião, Bragança, Capanema, Curuçá, Tomé-Açu, Vigia, Viseu), Sudeste (Itupiranga), Baixo Amazonas (Belterra, Mojuí dos Campos Santarém) e Marajó (Portel). Neste período, apenas a mesorregião Sudoeste do Estado não registrou casos de febre por Oropouche (Pinheiro *et al.*, 1962; 1976; Freitas *et al.*, 1982; Dixon *et al.*, 1981) (Figura 1).

Entre os anos de 1981 e 1996, casos de febre por Oropouche foram registrados tanto no estado do Pará (Oriximiná, mesorrião do Baixo Amazonas; e Altamira, mesorregião Sudoeste) quanto fora do estado nas cidades de Manaus e Barcelos (Amazonas), Mazagão (Amapá), Xapuri (Acre), Ariquemes e Ouro Preto D'Oeste (Rondônia), Porto Franco (Maranhão) e Tocantinópolis (Tocantins) (Le Duc *et al.*, 1981; Pinheiro *et al.*, 1981b; Borborema *et al.*, 1982; Vasconcelos *et al.*, 1989; Pinheiro *et al.*, 1998; Travassos da Rosa *et al.*, 1996) (Figura 1). Em 2003 e 2004, surtos de febre por Oropouche foram registradas nos municípios paraenses de Parauapebas (mesorregião Sudeste) e Porto de Moz (mesorregião do Baixo Amazonas), respectivamente (Azevedo *et al.*, 2007). Em 2006, o VORO voltou a causar epidemias, desta vez em municípios de Maracanã, Igarapé-Açu, Magalhães Barata e Viseu localizados na

zona Bragantina do Nordeste paraense, evidenciando a reemergência deste vírus após 26 anos de silêncio epidemiológico na região (Vasconcelos *et al.*, comunicação pessoal, 2007) (Figura 1).



Figura 1

Epidemias de Febre por Oropouche ocorridas nas Américas Central e do Sul entre 1961 e 2006.

\* Detecção de anticorpos IgM para o VORO e genoma viral em amostras de soros de soros de pacientes clinicamente suspeitos de febre por Oropouche.

A dispersão da virose provavelmente é resultado da movimentação de pessoas em fase virêmica pelas localidades onde existe o vetor transmissor (Pinheiro *et al.*, 2004).

Estudos soroepidemiológicos realizados no Brasil e nas Américas indicam que, entre 1961 e 2007, aproximadamente 357000 pessoas tenham sido infectadas pelo vírus. No entanto, estes dados parecem estar subestimados uma vez que a incidência dessa arbovirose não foi computada em importantes epidemias como as ocorridas em Belém no ano de 1968, em Porto Franco (Estado do Maranhão) e Tocantinópolis (Estado do Tocantins) em 1988. Portanto, acredita-se que mais de meio milhão de pessoas residentes na Amazônia Brasileira tenham sido infectadas pelo VORO desde o início da década de 1960 (Freitas *et al.*, 1980; Pinheiro *et al.*, 1981b; 1986; Pinheiro, 1983).

Fora do Brasil, epidemias têm sido registradas no Panamá e no Peru. A epidemia ocorrida no Panamá foi registrada no ano de 1989 no vilarejo de Benjuco localizado aproximadamente a 50 km a oeste da cidade do Panamá, capital do país (Evelia Quiroz, comunicação pessoal, 1989; Pinheiro *et al.*, 2004). No Peru, a febre por Oropouche foi clínica e laboratorialmente documentada no ano de 1992 quando o VORO causou uma epidemia em Iquitos (Chavez *et al.*, 1992; Watts *et al.*, 1997). Duas outras epidemias foram registradas no ano de 1994 nas cidades de Puerto Maldonado e Madre de Dios, ambas pertencentes à Amazônia peruana (Ministério da Saúde do Peru & NAMRID, dados não publicados, 1994). Em 2005, estudos soropidemiológicos e moleculares realizados em amostras coletadas na província de Jujuy na Argentina demonstraram a presença de anticorpos IgM, bem como do genoma viral, em soros de pacientes febris evidenciando a circulação do vírus na região (Nunes, comunicação pessoal, 2005) (Figura 1).

#### 4. BIOLOGIA MOLECULAR

Mais recentemente, com o advento de estudos moleculares direcionados ao seqüenciamento nucleotídico do gene N (segmento SRNA) de 55 cepas do VORO isolados de diferentes regiões das Américas do Sul e Central (Brasil, Peru, Panamá e Trinidad), de diferentes hospedeiros (humanos, artrópodes, primatas não-humanos e preguiças), bem como durante diferentes períodos de tempo (de 1955 a 2007) (Tabela 1) (Saeed *et al.*, 2000; Nunes *et al.*, 2005; Azevedo *et al.*, 2007), pode-se demonstrar a presença de pelo menos três distintos genótipos do VORO (I, II e III) que circulam nas Américas Central e do Sul (Saeed *et al.*, 2000). Em Trinidad, apenas o genótipo I foi detectado, enquanto que no Peru apenas o genótipo II foi descrito. No Brasil, inicialmente apenas o genótipo I e II foram detectados com circulação ativa, sendo o genótipo I mais predominante na região da Amazônia ocidental e o genótipo II, na Amazônia oriental (Saeed *et al.*, 2000). Em 2000, uma cepa do VORO isolada de um novo hospedeiro (*Callithrix* sp) no estado de Minas Gerais, na região Sudeste do Brasil, foi identificada como pertencente ao genótipo III, genótipo até então encontrado somente no Panamá, sugerindo um possível potencial de dispersão a regiões mais populosas e suscetíveis (Nunes *et al.*, 2005). Entre os anos de 2003 e 2004, duas epidemias de febre do Oropouche ocorreram nos municípios de Parauapebas e Porto de Moz, respectivamente (Azevedo *et al.*, 2007), e, mais recentemente, em 2006, nova epidemia foi registrada na região bragantina do estado do Pará, atingindo os municípios de Igarapé Açu, Maracanã, Magalhães Barata e Viseu (Vasconcelos *et al.*, comunicação pessoal, 2007, dados não publicados). A análise genética das cepas isoladas entre 2003 e 2006, identificou a presença do genótipo II na Amazônia Ocidental (Município de Porto de Moz), previamente encontrado somente no Peru e na região oeste da Amazônia Brasileira (Figura 2).

Tabela 1

Cepas do vírus Oropouche utilizadas para a análise filogenética de acordo com o local, ano de isolamento e hospedeiro.

Cepa viral	Hospedeiro	Amostra	Ano	Localidade (Cidade/Estado/País)	Legenda	Nº de acesso ao GenBank
TRVL 9760	humano	sangue	1955	Trinidad	Trinidad 55	AF164531
BeAn 19991	<i>Bradypus trydactylus</i>	sangue	1960	São Miguel-Pará	Brasil 60	AF164532
AR 136921	<i>Culex (Culex) fatigans</i>	lote	1968	Belém-Pará	Brasil 68	NR
BeH 271815	humano	sangue	1975	Santarém-Pará	Brasil 75	AF164533
BeAn 206119	<i>Bradypus trydactylus</i>	sangue	1971	Maracanã-Pará	Brasil 71a	AY993909
BeAn 208402	<i>Bradypus trydactylus</i>	sangue	1971	Maracanã-Pará	Brasil 71b	AY993910
BeAn 208819	<i>Bradypus trydactylus</i>	sangue	1971	Maracanã-Pará	Brasil 71c	AY993911
BeAn 208823	<i>Bradypus trydactylus</i>	sangue	1971	Maracanã-Pará	Brasil 71d	AY993912
BeH 390233	humano	sangue	1980	Manaus-Amazonas	Brasil 80c	AF164536
BeH 381114	humano	sangue	1980	Belém-Pará	Brasil 80b	AF164535
BeH 379693	humano	sangue	1980	Castanhal-Pará	Brasil 80a	AF164534
BeH 472200	humano	sangue	1988	Porto Franco-Maranhão	Brasil 88a	AF164537
BeH 472204	humano	sangue	1988	Tocantinópolis-Tocantins	Brasil 88b	AF164538
BeAr 473358	<i>Culicoides paraensis</i>	lote	1988	Porto Franco-Maranhão	Brasil 88c	AF164539
BeH 475248	humano	sangue	1988	Tucuruí-Pará	Brasil 88d	AF164540
GLM 444477	humano	sangue	1989	Panama	Panama 89a	AF164555
GLM 444911	humano	sangue	1989	Panama	Panama 89b	AF164556
GLM 445252	humano	sangue	1989	Panama	Panama 89c	AF164557
GLM 450093	humano	sangue	1989	Panama	Panama 89d	AF164558
BeH 505514	humano	sangue	1991	Santa Isabel-Pará	Brasil 91a	AF164541
BeH 505442	humano	sangue	1991	Ouro Preto D'Oeste-Rondônia	Brasil 91b	AF164542
BeH 505663	humano	sangue	1991	Ariquemes-Rondônia	Brasil 91c	AF164543
IQT 1690	humano	sangue	1992	Peru	Peru 92	AF164549
MD 023	humano	sangue	1993	Peru	Peru 93a	AF164550
DEI 209	humano	sangue	1993	Peru	Peru 93b	AF164551
BeH 521086	humano	soro	1993	Barra do Corda-Maranhão	Brasil 93	AY704559
BeH 541863	humano	sangue	1996	Altamira-Pará	Brasil 96a	AF164544
BeH 543033	humano	sangue	1996	Oriximiná-Pará	Brasil 96b	AF164545
BeH 544552	humano	sangue	1996	Brasil Novo-Pará	Brasil 96c	AF164546
BeH 543087	humano	sangue	1996	Xapuri-Acre	Brasil 96d	AF164547
BeH 543618	humano	sangue	1996	Oriximiná-Pará	Brasil 96e	AF164548
BeH 543733	humano	serum	1996	Oriximiná-Brasil	Brasil 96f	AY704560
BeH 543745	humano	sangue	1996	Oriximiná-Pará	Brasil 96g	NR
BeH 543854	humano	soro	1996	Oriximiná-Pará	Brasil 96 h	NR
BeH 543880	humano	sangue	1996	Oriximiná-Pará	Brasil 96 i	NR
BeH 543790	humano	sangue	1996	Oriximiná-Pará	Brasil 96 j	NR
BeH 543638	humano	sangue	1996	Oriximiná-Pará	Brasil 96 k	NR
BeH 543629	humano	sangue	1996	Oriximiná-Pará	Brasil 96 L	NR
BeH 543735	humano	sangue	1996	Oriximiná-Pará	Brasil 96 m	NR
BeH 543857	humano	sangue	1996	Oriximiná-Pará	Brasil 96 n	NR
IQT 4083	humano	sangue	1997	Peru	Peru 97	AF164552
01-812-98	humano	sangue	1998	Peru	Peru 98a	AF164553
IQT 7085	humano	sangue	1998	Peru	Peru 98b	AF164554
BeAn 626990	<i>Callithrix sp</i>	viscera	2000	Arimos- Minas Gerais	Brasil 00	AY117135
BeH 622544	humano	sangue	2002	Paraná-Tocantins	Brasil 02	EF 467368
BeH 669314	humano	sangue	2003	Parauapebas-Pará	Brasil 03a	EF467370
Be H 669315	humano	sangue	2003	Parauapebas-Pará	Brasil 03b	EF467369
BeH 682426	humano	sangue	2004	Porto de Moz-Pará	Brasil 04a	EF467371
BeH 682431	humano	sangue	2004	Porto de Moz-Pará	Brasil 04b	EF 467372
IÇU 486	H 706890	soro	2006	Igarapé-Açu-Pará	Brasil 06 f	NR
IÇU 489	H 706893	soro	2006	Igarapé-Açu-Pará	Brasil 06d	NR
MCN 3860	H 707157	soro	2006	Maracanã-Pará	Brasil 06 a	NR
MCN 3862	H 707159	soro	2006	Maracanã-Pará	Brasil 06 b	NR
MAB 65	H 707289	soro	2006	Magalhães Barata-Pará	Brasil 06 c	NR
MAB 126	H 708139	soro	2006	Magalhães Barata-Pará	Brasil 06e	NR





## 5. DISCUSSÃO

Em mais de cinco décadas desde o isolamento original, o VORO vem causando epidemias e infectando dezenas de milhares de pessoas em diferentes centros urbanos localizados em regiões tropicais e subtropicais das Américas do Sul e Central. Os diversos estudos soroepidemiológicos e de patologia experimental realizados durante este período ajudaram a elucidar e definir aspectos importantes a respeito do agente etiológico, tais como ciclos de transmissão, distribuição geográfica, prevalência de anticorpos, aspectos clínicos da doença, além de evidenciar o real potencial epidêmico do VORO como um importante patógeno humano (Pinheiro *et al.*, 1962; 1976; 1981a; 1998; Araújo *et al.*, 1979; Freitas *et al.*, 1980; 1982; Dixon *et al.*, 1981; Le Duc *et al.*, 1981; Roberts *et al.*, 1981; Borborema *et al.*, 1982; Vasconcelos *et al.*, 1989; Hoch *et al.*, 1990; Travassos da Rosa *et al.*, 1996).

O conhecimento a respeito da diversidade genética do vírus pôde ser ampliado com a utilização de técnicas moleculares de detecção do genoma e seqüenciamento nucleotídico. Atualmente, sabe-se que pelo menos três diferentes genótipos do VORO circulam ativamente nas Américas. Diferentemente de Trinidad, Peru e Panamá, onde apenas os genótipos I, II e III circulam (Saeed *et al.*, 2000), respectivamente, no Brasil as três diferentes linhagens têm sido encontradas (Nunes *et al.*, 2005; Azevedo *et al.*, 2007).

Em termos evolutivos, os dados filogenéticos disponíveis até o momento nos sugerem que o VORO constitui um grupo monofilético, ou seja, um grupo que apresenta um único ancestral quando comparado a outros arbovírus pertencentes ao grupo Simbu (grupo sorológico ao qual o VORO está antígenicamente relacionado) e a outros membros do gênero *Orthobunyavirus*. É importante observar que as cepas brasileiras isoladas na Amazônia oriental (Pará, Amapá, Tocantins e também o estado do Maranhão) em sua maioria são mais geneticamente relacionadas às cepas de Trinidad (genótipo I), enquanto que as cepas isoladas na região ocidental da Amazônia Brasileira (Acre, Amazonas e Rondônia) são predominantemente mais semelhantes às cepas isoladas no Peru (genótipo II), que sugerem prováveis origens evolutivas diferentes para os genótipos brasileiros.

Outra observação importante refere-se à introdução de genótipos previamente restritos a determinadas regiões geográficas das Américas ou da Amazônia Brasileira em outras áreas aonde tais linhagens não eram detectadas. Como exemplo, podemos citar o genótipo III, detectado previamente somente no Panamá e atualmente encontrado no Brasil no estado de Minas Gerais (Nunes *et al.*, 2005). Do mesmo modo, o genótipo II, detectado somente no Peru e em certos estados da Amazônia Brasileira ocidental (Acre e Rondônia), recentemente foi encontrado na Amazônia oriental (Estado do Pará).

Estes fatos podem estar fortemente relacionados à facilidade de deslocamento de indivíduos infectados com um dado genótipo durante a fase virêmica de uma região endêmica para outra, ou numa forma de tráfico de vírus semelhante ao que tem sido sugerido para o vírus da febre amarela (Vasconcelos *et al.*, 2004). Outra possibilidade seria o deslocamento natural de hospedeiros preferenciais do VORO (preguiça, macacos e aves silvestres) em fase virêmica, ou por meio de atividades ilegais de tráfico de animais silvestres, o que é muito comum na região Amazônica.

Em relação à origem evolutiva da cepa de VORO isolada na região Sudeste do Brasil e identificada como genótipo III, filogeneticamente a mesma é relacionada às cepas panamenhas. Estudos utilizando a associação de dados genéticos aos epidemiológicos proporcionaram um melhor entendimento a respeito da epidemiologia molecular deste importante patógeno humano e novos estudos adiante, nos permitirão descrever com maior precisão a dinâmica evolutiva deste vírus no que tange à origem das cepas brasileiras, bem como à dispersão dos genótipos circulantes na Amazônia. Esses mesmos estudos servem também para verificar a possibilidade de rearranjo genético entre as cepas como mecanismo de biodiversidade deste agente viral, fato comum entre vírus de RNA com genoma segmentado, como é o caso do VORO, o que, aliás, já foi demonstrado para membros dos grupos sorológicos Simbu (Jatobal), Bunyamwera (Ngari) e para certos orthobunyavírus do grupo C (Saeed *et al.*, 2001; Nunes *et al.*, 2005; Briese *et al.*, 2006). Portanto, certamente novas informações serão geradas a partir da associação de estudos soropidemiológicos e moleculares utilizando as cepas do VORO disponíveis na coleção de vírus da Seção de Arbovirologia e Febres Hemorrágicas do IEC.

\* Agradecimentos: Os autores são gratos a diversos pesquisadores que há várias décadas têm se dedicado ao estudo do vírus Oropouche, em particular os Dr. Francisco de Paula Pinheiro e Amélia Paes de Andrade Travassos da Rosa, bem como às diversas equipes de técnicos do Instituto Evandro Chagas pelas atividades de campo e de laboratório, que muito contribuíram para o entendimento dos aspectos epidemiológicos e moleculares desse arbovírus. Esse trabalho também foi apoiado com recursos do CNPq (processo 300460/2005-8).

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANDERSON, C.; SPENCE, L.; DOWNS, W. G.; AITKEN, T. H. Oropouche virus: a new human disease agent from Trinidad, West Indies. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*. v. 10, p. 574 - 578, Jul., 1961.

ARAÚJO, R.; PINHEIRO, F. P.; ARAÚJO, M. T.; PETERES, D. A.; DIAS, L. B. Patogenia das lesões hepáticas na infecção experimental com o vírus Oropouche

(BeAn 1991): análise comparativa das curvas virêmicas e de infectividade com as alterações ultra-estruturais. *Hiléia Médica*. Belém, v. 1, p. 7 - 12, 1979.

AZEVEDO, R. S. S.; NUNES, M. R. T.; CHIANG, J. O.; BENSABATH, G.; VASCONCELOS, H. B.; PINTO, A. Y. N.; MARTINS, L. C.; MONTEIRO, H. A. O.; RODRIGUES, S. G.; VASCONCELOS, P. F. C. Reemergence of Oropouche fever, northern Brazil. *Emerging Infectious Diseases*. v. 13, n. 6, p. 912 - 915, 2007.

BISHOP, D. H. L.; SHOPE, R. E. Bunyaviridae. In: FRAENKEL-CONRAT, H.; WAGNER, R. R. (Ed.). *Comprehensive virology*. New York: Plenum Press, v. 14, p. 1 - 156, 1979.

BORBOREMA, C. A.; PINHEIRO, F. P.; ALBUQUERQUE, B. C.; TRAVASSOS DA ROSA, A. P.; DA ROSA, J. F.; DOURADO, H. V. Primeiro registro de epidemia causada pelo vírus Oropouche no estado do Amazonas. *Revista do Instituto de Medicina Tropical*. São Paulo, v. 24, n. 3, p. 132 - 139, 1982.

BRIESE, T.; BIRD, B.; KAPOOR, V.; NICHOL, S. T.; LIPKIN, W. I. Batai and Ngari viruses: M segment reassortment and association with severe febrile disease outbreaks in East Africa. *Journal of Virology*. v. 80, n. 11, p. 5627 - 5630, 2006.

CHAVEZ, R.; COLAN, E.; PHILIPS, I. Fiebre de Oropouche em Iquitos: reporte preliminar de 5 casos. *Revista de Farmacología y Terapéutica*. v. 2, n. 1 p. 12 - 14, 1992.

DIXON, K. E.; TRAVASSOS DA ROSA, A. P. A.; TRAVASSOS DA ROSA, J. F. S.; LLEWELLYN, C. H. Oropouche vírus. II. Epidemiological observation during na epidemic in Santarém, Pará, Brazil, in 1975. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*. v. 30, n. 1, p. 161 - 164, 1981.

FAUQUET, C. M.; MAYO, M. A.; MANIHOFF, J.; DESSELBERGER, U.; BALL, L. A. *Virus taxonomy – eighth report of the International Committee on Taxonomy of Viruses*, San Diego: Elsevier Academic Press, 2005. 1164p.

FREITAS, R. B.; PINHEIRO, F. P.; SANTOS, M. A. V.; TRAVASSOS DA ROSA, A. P. A.; TRAVASSOS DA ROSA, J. F. S.; FREITAS, E. N. Epidemia de Vírus Oropouche no leste do estado do Pará, 1979. *Revista da Fundação SESP*. Rio de Janeiro, v. 25, n. 2, p. 59 - 72, 1980.

\_\_\_\_\_. Epidemia de vírus Oropouche no leste do Estado do Pará, 1982. In: PINHEIRO, F. P. (Ed.). *Internacional Symposium on Tropical Arboviruses and Hemorrhagic fevers*. Rio de Janeiro: Academia Brasileira de Ciências, 1982, p. 419 - 439.

HOCH, A. L.; ROBERTS, D. R.; PINHEIRO, F. P. Host-seeking behavior and sensorial abundance of *Culicoides paraensis* (Diptera: Ceratopogonidae) in Brazil. *Journal of the American Mosquito Control Association*. v. 6, p. 110 - 114, 1990.

KARABATSOS, N. (ed.). *International catalogue of arboviruses including certain other viruses of vertebrates*. 3rd ed., San Antônio, Texas: American Society of Tropical Medicine and Hygiene. 1985. 1147p.

LE DUC, J. W.; HOCH, A. L.; PINHEIRO, F. P.; TRAVASSOS DA ROSA, A. P. A. Epidemic Oropouche virus disease in northern Brazil. *Bulletin of the Pan American Health Organization*. v. 15, p. 97 - 103, 1981.

LINLEY, J. R.; HOCH, A. L.; PINHEIRO, F. P. Biting midges (Diptera: Ceratopogonidae) and human health. *Journal of Medical Entomology*. v. 20, n. 4, p. 347 - 364, 1983.

NUNES, M. R. T.; MARTINS, L. C.; RODRIGUES, S. G.; CHIANG, J. O.; AZEVEDO, R. S.; DA ROSA, A. P.; VASCONCELOS, P. F. Oropouche virus isolation, southeast Brazil. *Emerging Infectious Diseases*. v. 11, n. 10, p. 1610 - 1613, 2005.

PINHEIRO, F. P.; PINHEIRO, M.; BENSABATH, G.; CAUSEY, O. R.; SHOPE, R. Epidemia de vírus Oropouche em Belém. *Revista do Serviço Especial de Saúde Pública*. v. 12, n. 1, p. 13 - 23, 1962.

PINHEIRO, F. P.; TRAVASSOS DA ROSA, A. P. A.; TRAVASSOS DA ROSA, J. F. S.; BENSABATH, G. An outbreak of Oropouche disease in the vicinity of Santarém, Pará, Brasil. *Tropenmedizin und Parasitologie*. Germany, v. 27, p. 213 - 223, 1976.

PINHEIRO, F. P.; HOCH, A. L.; GOMES, M. L. C.; ROBERTS, D. R. Oropouche virus. IV. Laboratory transmission by *Culicoides paraensis*. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*. v. 30, n. 1, 172 - 176, 1981a.

PINHEIRO, F. P.; TRAVASSOS DA ROSA, A. P. A.; TRAVASSOS DA ROSA, J. F. S.; ISHAK, R.; FREITAS, R. B.; GOMES, M. L.; LE DUC, J. W.; OLIVIA, O. F. Oropouche virus. I. A review of clinical, epidemiological and ecological findings. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*. v. 30, n. 1, p. 149 - 160, 1981b.

PINHEIRO, F. P.; TRAVASSOS DA ROSA, A. P. A.; GOMES, M. L. C.; LE DUC, J. W.; HOCH, A. L. Transmission of Oropouche virus from man to hamsters by midge *Culicoides paraensis*. *Science*. v. 215, n. 4537, p. 1251 - 1253, 1982.

PINHEIRO, F. P. Febre do Oropouche. *Jornal Brasileiro de Medicina*. v. 44, n. 4, p. 46 - 62, 1983.

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. *Instituto Evandro Chagas, 50 anos de contribuição às ciências biológicas e à medicina tropical*.

Belém: Instituto Evandro Chagas/Fundação Serviços de Saúde Pública, p. 349 - 357, 1986.

PINHEIRO, F. P.; TRAVASSOS DA ROSA, A. P. A.; VASCONCELOS, P. F. C. Arboviral zoonoses of central and South América. Part G. Oropouche fever. In: BERAN, G. W. (Eds): *Handbook of Zoonoses*. 2. ed. Boca Raton: C.R.C. Press, 1994. p. 214 - 217.

PINHEIRO, F. P.; TRAVASSOS DA ROSA, A. P. A.; VASCONCELOS, P. F. C. An overview of Oropouche fever epidemics in Brazil and the neighbor countries. In: TRAVASSOS DA ROSA, A. P. A.; VASCONCELOS, P. F. C.; TRAVASSOS DA ROSA, J. F. S. (Eds.). *An overview of arbovirology in Brazil and neighbouring countries*. Belém: Instituto Evandro Chagas, 1998. p. 186 - 192.

PINHEIRO, F. P.; TRAVASSOS DA ROSA, A. P. A.; VASCONCELOS, P. F. C. Oropouche fever. In: FEIGIN, R. D. (Ed.). *Textbook of pediatric infectious diseases*. 5. ed., Philadelphia: Editora Saunders, 2004. p. 2418 - 2423.

ROBERTS, D. R.; HOCH, A. L.; DIXON, K. E.; LLEWELLYN, C. H. Oropouche virus. III. Entomological observations from three epidemics in Pará, Brazil, 1975. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*. v. 30, n. 1, p. 165 - 171, 1981.

SAEED, M. F.; WANG, H.; NUNES, M.; VASCONCELOS, P. F. C.; WEAVER, S. C.; SHOPE, R. E.; WATTS, D. M.; TESH, R. B.; BARRETT, A. D. T. Nucleotides sequences and phylogeny of the nucleocapsid gene of the Oropouche virus. *The Journal of General Virology*. v. 81, n. 3, p. 743 - 748, 2000.

SAEED, M. F.; NUNES, M.; VASCONCELOS, P. F. C.; TRAVASSOS DA ROSA, A. P. A.; WATTS, D. M.; RUSSELL, K.; SHOPE, R. E.; TESH, R. B.; BARRETT, A. D. T. Diagnosis of Oropouche virus infection using a recombinant nucleocapsid protein-based enzyme immunoassay. *Journal of Clinical Microbiology*. v. 39, n. 7, p. 2445 - 2452, 2001.

TRAVASSOS DA ROSA, A. P. A.; RODRIGUES, S. G.; NUNES, M. R. T.; MAGALHÃES, M. T. F. TRAVASSOS DA ROSA J. F. S.; VASCONCELOS P. F. C. Epidemia de febre do Oropouche em Serra Pelada, Município de Curionópolis, Pará, 1994. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*. v. 29, p. 537 - 541, 1996.

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. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*. v. 31, p. 271 - 278, 1989.

VASCONCELOS, P. F. C.; BRYANT, J. E.; TRAVASSOS DA ROSA, A. P. A.; TESH, R. E.; RODRIGUES, S. G.; BARRETT, A. D. T. Genetic divergence and dispersal of yellow fever virus, Brazil. *Emerging Infectious Diseases*. v. 10, n. 9, p. 1578 - 1584, 2004.

WATTS, D. M.; PHILLIPS, I.; CALLAHAN, J. D.; GRIEBENOW, W.; HYAMS, K. C.; HAYES, C. G. Oropouche virus transmission in the Amazon river basin of Peru. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*. v. 56, n. 2, p. 148 - 152, 1997.