

ENCEFALITE PELO VÍRUS ROCIO *

Oscar de Souza LOPES **

RIALA6/616

LOPES, O.S. — Encefalite pelo vírus Rocio — *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 46(1/2):
95-101, 1986.

RESUMO: São descritos os achados obtidos pela Seção de Vírus Transmitidos por Artrópodes durante os estudos sobre a epidemia de encefalite ocasionada por um arbovírus, o Rocio, do grupo Flavivírus, novo para a ciência e que significou a emergência de nova doença humana para a região Sul do Brasil, compreendendo os municípios de Peruibe, Itanhaém, Mongaguá e outros do Vale do Ribeira, no Estado de São Paulo, em 1975. Descreve as características da área endêmica, os métodos virológicos utilizados, a caracterização do agente etiológico, seus aspectos epidemiológicos e observações a respeito dos ciclos enzootico e epizootico do vírus.

DESCRITORES: vírus Rocio; encefalite pelo vírus Rocio.

INTRODUÇÃO

Em abril de 1975, uma equipe de funcionários da Seção de Vírus Transmitidos por Artrópodes do Instituto Adolfo Lutz visitou os municípios de Peruibe, Itanhaém e Mongaguá, no litoral Sul do Estado de São Paulo, onde, por informação de médicos da Superintendência do Desenvolvimento do Litoral Paulista (SUDELPA), São Paulo, estariam ocorrendo, entre os habitantes, casos de moléstia aguda do sistema nervoso central. A doença, caracterizada como encefalite, era clinicamente distinta da meningite meningocócica.

Esta encefalite, cujo quadro clínico foi descrito por TIRIBA et alii¹⁷, foi causada por um arbovírus, do grupo dos flavivírus, novo para a ciência e que foi denominado de vírus Rocio e, por ser desconhecida pela população local, significou a emergência de nova moléstia humana para esta região do Brasil.

O objetivo deste trabalho é descrever os achados obtidos pela Seção de Vírus Transmitidos por Artrópodes durante os estudos sobre a epidemia que atingiu aqueles municípios e depois o Vale do Rio Ribeira.

MATERIAIS E MÉTODOS

Área epidêmica: Esta área de 1.000 km² sediou-se a 24°05' S e 46°37' O e compreen-

deu os municípios de Peruibe, Itanhaém e Mongaguá. O acidente geográfico de maior relevo é a Serra do Mar que, nesta região, tem uma altitude de cerca de 800 metros e delimita regiões sedimentares, planas, situadas praticamente ao nível do mar. O índice pluviométrico é alto (cerca de 3.000 mm por ano) e a umidade relativa também é alta, sendo que a temperatura média anual oscila ao redor dos 20 °C com temperaturas extremas no verão ou no inverno.

A região é cortada por estradas de ferro e de rodagem que correm paralelas ao mar e a grande maioria dos casos de encefalite ocorreu entre as estradas e a Serra do Mar.

Virolgia: As tentativas de isolamento do vírus foram realizadas por inoculação intracerebral em camundongos albinos de 1-2 dias de idade, criados pelo Biotério do Instituto Adolfo Lutz.

As famílias de animais inoculados eram observadas por 14 dias e de qualquer animal, que apresentasse sinais de doença, o cérebro era colhido e uma suspensão a 10% era inoculada em outras famílias de camundongos.

Habitantes locais, pacientes ou contatos, foram sangrados por punção venosa e o sangue, obtido sem anticoagulantes, era enviado ao laboratório para separação e posteriores exames sorológicos. Aliquotas de

* Realizado na Seção de Vírus Transmitidos por Artrópodes do Instituto Adolfo Lutz, São Paulo, São Paulo.

** Do Instituto Adolfo Lutz.

cerca de 1 ml colhidas de pacientes na fase aguda foram conservadas em nitrogênio líquido até serem transportadas para o laboratório onde foram conservadas em congelador a -60° até o momento de inoculação para as tentativas de isolamento.

Amostras de órgãos de pacientes que faleceram de encefalite foram obtidas através do Hospital Emílio Ribas e, durante o auge do surto epidêmico, a Secretaria da Saúde colocou uma equipe para a coleta de amostras de cérebro de pacientes que haviam falecido com o diagnóstico clínico de encefalite.

Assim que era recebida uma comunicação de óbito, deslocava-se um técnico para a coleta, sendo os materiais colhidos conservados em nitrogênio líquido até o transporte ao laboratório.

Mosquitos foram coletados por meio de isca humana ou armadilhas luminosas tipo CDC¹⁴ e por barraca de Shannon¹³. Os espécimes coletados eram mortos e conservados em nitrogênio líquido para transporte. No laboratório foram conservados em congelador elétrico a -60 °C até o momento de serem separados por espécies, e lotes das diversas espécies foram inoculados em camundongos ou em sistemas celulares⁹. Aves e morcegos foram coletados por intermédio de redes especiais. As aves foram sangradas na veia jugular a fim de fornecer material para as

tentativas de isolamento de vírus, e para sorologia. Os morcegos foram sacrificados e algumas vísceras (fígado, coração e rim) foram utilizadas para isolamento de vírus e o sangue obtido, para as diversas provas sorológicas. Os pequenos mamíferos foram capturados por armadilhas de arame e processados como os morcegos. As peles dos mamíferos e morcegos foram preparadas para as determinações taxonômicas necessárias.

As provas sorológicas utilizadas durante este estudo foram as de inibição de hemaglutinação, fixação do complemento e neutralização, de acordo com as técnicas descritas por CASALS².

RESULTADOS

Isolamento de vírus: O vírus Rocio foi isolado a partir de fragmentos de cérebro coletados de paciente residente no município de Iguape e que faleceu no Hospital Emílio Ribas em 8 de dezembro de 1976, no 3.º dia da doença⁴; outras amostras foram isoladas de pacientes que faleceram com até 5 dias de doença. De três pacientes que faleceram mais tarde, o vírus não pôde ser recuperado (tabela 1). Não houve isolamento a partir do sangue coletado na fase epidêmica da doença, apesar de terem sido inoculadas 142 amostras.

TABELA 1

Isolamento do vírus Rocio a partir de autópsias efetuadas em 18 pacientes com encefalite no Estado de São Paulo, em 1975-1976

Paciente n.º	Idade (anos) sexo	Dia da morte após o início dos sintomas	Isolamento do vírus	Sorologia
1	18 M	23	—	+
2	41 M	12	—	+
3	33 F	48	—	+
4	38 M	40	—	+
5	40 F	63	—	+
6	39 M	3	+	NR
7	54 M	2	+	(+)
8	? M	3	—	(+)
9	45 M	...	+	—
10	3 F	...	+	—
11	19 F	...	—	(+)
12	9 M	2	+	(+)
13	2 F	1	+	NR
14	60 M	1	+	(+)
15	65 M	2	+	(+)
16	38 F	...	—	—
17	47 M	4	+	(+)
18	5 M	5	+	(+)

+ Conversão sorológica para o vírus Rocio.

(+) Presença de anticorpos para o vírus Rocio em uma única amostra de sangue.

— Anticorpos para flavivirus ausentes.

NR Não-realizado.

(...) Dado desconhecido.

Dos materiais coletados no campo, o vírus Rocio foi isolado a partir de uma ave, *Zonotrichia capensis*, coletada em Cananéia⁶ e de um lote de mosquitos *Psorophora ferox* também coletado em Cananéia⁷. Este vírus foi considerado novo para a ciência e, portanto, distinto de todos os flavivírus conhecidos até então⁴.

Dados sorológicos: A população local, sem apresentar sintomas, mostrava uma prevalência de cerca de 26% de anticorpos para os flavivírus isolados no Brasil, ou seja, os vírus Bussuquana, Ilhéus, Encefalite de St. Louis e Febre Amarela e que poderiam estar circulando na região (tabela 2). Com os soros pares colhidos de pacientes na fase aguda e na convalescença, verificou-se que a maior parte apresentou conversão sorológica para o vírus Rocio (tabela 3). Durante a epidemia

que atingiu Peruíbe, Itanhaém e Mongaguá, equipes da Divisão Especial de Saúde do Vale do Ribeira — DEVALE fizeram um inquérito casa a casa a fim de determinar a população sob risco, as características das habitações, o número de pessoas doentes em cada domicílio etc. Da compilação destes dados, verificou-se que a maior parte dos pacientes era do sexo masculino e pertencia à faixa etária dos 15 aos 30 anos de idade (tabela 4), que o índice de ataque era muito alto (tabela 5) para as pessoas vivendo na área sob risco e que as profissões mais atingidas eram as de trabalhadores braçais (tabela 6).

Em relação aos animais silvestres, a tabela 7 mostra que uma série grande apresentava anticorpos para o vírus Rocio, em especial as aves.

TABELA 2

Inquérito sorológico, utilizando antígenos de alguns flavivírus, realizado em habitantes do município de Peruíbe, São Paulo, 1975

	Antígenos											
	Febre amarela			Bussuquara			Ilhéus			SLE		
	+	total	%	+	total	%	+	total	%	+	total	%
Soros humanos	34	150	23	5	56	9	39	150	26	39	150	26

SLE = Vírus de encefalite de São Luís.

TABELA 3

Resultados das provas de inibição da hemaglutinação e de fixação do complemento realizadas em soros pares de pacientes com encefalite, no Estado de São Paulo, 1975

N.º de soros pares	Soros negativos		Soros inconclusivos		Conversões sorológicas		Superinfecções	
	n.º	%	n.º	%	n.º	%	n.º	%
230	14	6,1	21	9,1	132	57,5	63	27,4

Negativos = ausência de anticorpos para vírus Rocio.

Inconclusivos = sem alteração no título de anticorpos.

Conversões = elevação do título de 4 casas ou mais para vírus Rocio.

Superinfecções = título alto, estável para flavivírus, incluído vírus Rocio.

TABELA 4

Índice de ataque de encefalite humana em relação a sexo e idade na área de Peruíbe e Itanhaém, São Paulo, 1975

Idade (anos)	Casos				Relação H/M	População sob risco		
	Homens		Mulheres			Homens	Mulheres	H/M
	n.º	IA	n.º	IA				
0 — 15	70	27	60	23	1,1	1.526	1.391	1,1
16 — 30	125	82	34	24	3,4	2.592	2.545	1,0
> 30	95	53	48	31	2,0	1.784	1.541	1,1
Total	290	49	142	26	2,0	5.902	5.476	1,0

População sob risco, calculada em inquérito, casa a casa.

IA = índice de ataque por 1.000 habitantes.

H/M = Homem/Mulher.

TABELA 5

Índice de ataque de encefalite epidêmica humana na área de Peruíbe, Itanhaém, São Paulo, 1975

Município	N.º de casos	População local	IA	População sob risco	IA
Peruíbe	217	9.075	24	4.889	44
Itanhaém	215	19.988	11	6.489	33
Total	432	29.063	15	11.378	38

Mongaguá notificou 33 casos que não foram incluídos.

IA = índice de ataque calculado por 1.000 habitantes.

População local: estimada pelo Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística para 1975.

População sob risco: calculada por inquérito, realizado casa a casa.

TABELA 6

Profissões de 217 pacientes com encefalite no Município de Peruíbe, São Paulo, 1975

Profissão	N.º	%
Crianças e estudantes	68	31,5
Trabalhadores braçais	56	25,9
Préncias domésticas	42	19,5
Pedreiros	29	13,4
Outras	22	9,7
Total	217	100,0

TABELA 7

Resultados de provas de inibição de hemaglutinação com antígenos de flavivírus em soros de animais silvestres e domésticos, coletados em áreas epidêmicas de encefalite, São Paulo, 1975

Animais	Total de soros	Soros positivos	
		n.º	%
Pássaros silvestres	153	37	24,2
Roedores silvestres	22	07	31,8
Marsupiais	05	03	60,0
Morcegos	55	06	10,9
Aves domésticas			
Galinhas	96	07	7,3
Patos	04	01	25,0
Pombos	07	02	28,5
Animais domésticos			
Porcos	08	—	—
Cães	04	—	—

COMENTÁRIOS

A ocorrência de casos humanos de doença aguda no sistema nervoso central, clinicamente distinta da meningite meningocócica, foi observada a partir de abril de 1975 nos municípios de Peruíbe, Itanhaém e Mongaguá, no litoral Sul do Estado de São Paulo. O quadro clínico de encefalite causada pelo vírus Rocio foi descrito por TIRIBA et alii¹⁷; aspectos anatomopatológicos foram relatados por ROSEMBERG¹², e a replicação em cérebro de camundongos recém-nascidos, através de microscopia eletrônica, por TANAKA et alii¹⁵.

A Seção de Vírus Transmitidos por Artrópodes do Instituto Adolfo Lutz iniciou os trabalhos sobre esta epidemia e inicialmente alguns fatos chamaram a atenção. Havia absoluto desconhecimento da população local para com esta doença e, se atentarmos para o fato de que havia uma alta mortalidade entre os doentes (cerca de 30%), surtos anteriores seriam lembrados com facilidade.

Além disso não havia, entre a população estudada, pessoas com seqüelas que, mais tarde, seriam reconhecidas facilmente pelos sinais de liberação extrapiramidal. Estes dados evidenciavam que estávamos enfrentando um novo agente de doença, pelo menos para a região atacada.

O primeiro dado significativo foi o da grande prevalência de anticorpos para os flavivírus entre a população normal (tabela 3), o que sugeriu que havia uma transmissão ativa de vírus deste grupo. Inquéritos sorológicos efetuados por O.S. LOPES et alii*, em São Paulo, em 1975, e por PINHEIRO et

alii¹¹, no Rio de Janeiro, no mesmo ano, mostravam que o índice de anticorpos para flavivírus estaria ao redor de 5%. Alguns flavivírus, como os da encefalite Japonesa, da encefalite do Vale do Murray e o da encefalite de São Luís¹, agentes etiológicos de surtos de encefalite epidêmica, cujos quadros clínicos são semelhantes aos observados na região de Peruíbe, sendo que o vírus da encefalite de São Luís havia sido isolado por nós em região próxima⁵. Outro dado importante para ser juntado aos obtidos até aquela data (1975) seria o exame dos soros provenientes dos municípios vizinhos. Assim, funcionários da SUDELPA coletaram 20 soros das cidade de Iguape, Registro, Sete Barras e Cananéia e nenhum destes apresentava anticorpos para o vírus Rocio*. Todos estes quatro municípios seriam atingidos em 1976 pela epidemia de encefalite.

O esclarecimento final a respeito do agente etiológico seria proporcionado pelo isolamento do vírus responsável e posterior estudo sorológico dos soros pares colhidos dos pacientes durante o surto. O vírus Rocio foi isolado a partir de fragmentos de cérebro de pacientes que faleceram até 6 dias de doença, e apenas da base do cérebro, não tendo sido isolado do córtex nem de outros órgãos como baço, fígado, rim etc.

Todavia, não houve isolamento do vírus de pacientes que faleceram com mais de 10 dias de evolução, mostrando que o período curto de 6 dias do início da doença ao óbito era essencial para evidenciar a presença do vírus no tecido cerebral.

Uma vez isolado o vírus Rocio, verificou-se que a grande maioria dos pacientes convertia

* LOPES, O.S.; SACCHETTA, L.A. & COIMBRA, T.L.M. — Inquéritos sorológicos. Dados não-publicados.

sorologicamente para este vírus, de acordo com os resultados das três provas estudadas (tabela 3).

Estes dois fatos, o isolamento do vírus a partir do cérebro de pacientes com encefalite e a conversão sorológica dos pacientes convalescentes, demonstraram que o vírus Rocio era o agente etiológico da epidemia.

Do ponto de vista epidemiológico, não se conseguiu evidenciar a existência de transmissão homem a homem do vírus Rocio, porque 75% dos casos foram únicos no domicílio e, onde ocorreu mais de um caso no domicílio, não houve uma diferença constante no aparecimento dos casos. Pelos dados obtidos se pode concluir que a transmissão acontecia fora do domicílio e durante o dia (tabelas 4 e 6).

O vírus Rocio, então, se comportou epidemiologicamente como o vírus da febre amarela em sua forma silvestre¹⁶, pois homens adultos, trabalhadores braçais, foram os mais atingidos durante a epidemia (tabela 4). O vetor deste surto epidêmico não foi bem determinado. O isolamento de amostra de vírus de um lote de *Psorophora ferox*¹³ mostrou que este inseto, que é de hábitos diurnos e silvestres, não freqüentando o domicílio, poderia ser um dos mosquitos vetores. Trabalhos experimentais concluíram que o vírus Rocio é capaz de replicar em diversas espécies de mosquitos criados em laboratório⁸ e estes dados indicam linhas de trabalho a serem seguidas se novas epidemias ocorrerem.

O isolamento de amostra do vírus Rocio de ave silvestre⁶, a presença de anticorpos em número apreciável em espécimes coletados durante o surto epidêmico e trabalhos experimentais, que mostraram que o vírus Rocio é capaz de produzir altos títulos virêmicos em aves^{8, 10}, sugerem que este vírus é mantido em natureza em ciclo envolvendo aves e mosquitos, sendo que a caracterização deste ciclo necessitará informações adicionais a serem obtidas futuramente.

A epidemia de encefalite humana causada pelo vírus Rocio teve seu último caso clínico descrito em junho de 1976 e, daquela data até o momento em que este trabalho está sendo escrito (1985), nenhum novo surto ou caso foi relatado. Este comportamento, isto é, o desaparecimento da atividade enzoótica ou epizootica é um comportamento freqüente entre os arbovírus, em especial os flavivírus como os vírus de encefalites do vírus SLE e Murray Valley, nos Estados Unidos e Austrália³. Este tipo de comportamento em que, a um período de transmissão viral (quando um determinado arbovírus pode ser isolado de diversas fontes ou sua presença é marcada por anticorpos presentes no sangue de animais silvestres), segue-se um período de quiescência, também tem sido observado em outras arboviroses estudadas pela Seção de Vírus Transmitidos por Artrópodes, como é o caso do vírus da encefalite equina Leste, Tacaiúma, Bertioga, Guaratuba etc. (LOPES et alii — *Inquéritos sorológicos*. Não publicado.) Devido a estes fatores todos e conhecido o fato de que o vírus Rocio é o agente etiológico da moléstia humana grave, o Instituto Adolfo Lutz, através da Seção de Vírus Transmitidos por Artrópodes, estabeleceu um sistema de vigilância epidemiológica baseado na pesquisa de anticorpos em sangue de aves silvestres capturadas na região epidêmica e no estudo sorológico de pacientes que tenham quadro clínico compatível com o descrito para a encefalite por vírus Rocio e que estejam internados nos hospitais locais. Esta vigilância visa, principalmente, oferecer dados à Saúde Pública para que esta possa agir eficientemente no caso de futuras epidemias.

Finalizando, a Seção de Vírus Transmitidos por Artrópodes estudou a emergência de um arbovírus novo para a ciência e que causou um surto epidêmico de encefalite humana a qual se constituiu em nova doença humana para a região. Os trabalhos desta região permitiram o isolamento e caracterização de agente etiológico, seus aspectos epidemiológicos e observações a respeito dos ciclos enzoótico e epizootico deste vírus, além de estabelecer um sistema de vigilância epidemiológica.

RIALA6/616

LOPES, O.S. — Rocio virus encephalitis — *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 46(1/2): 95-101, 1986.

ABSTRACT: The findings made during an epidemic due to Rocio virus (*Flaviviridae*) are described. The new virus was found, in 1975, in the counties of Peruibe, Itanhaém and Mongaguá, located in the Vale do Ribeira, state of São Paulo, Brazil. Characteristics of endemic areas, virus isolation and identification methods, epidemiological aspects and some findings regarding the enzootic and epizootic cycles of the virus are described.

DESCRIPTORS: Rocio virus; encephalitis by Rocio virus.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. BERGE, T.O., ed. — *International catalogue of arboviruses including certain other viruses of vertebrates*. 2nd ed. Bethesda, Maryland, U.S. Dept. of Health, Education, and Welfare, 1975. 789 p. (DHEW Publ. no. CDC 75-8301).
2. CASALS, J. — Immunological techniques for animal viruses. In: MARAMOROSCH, K. & KOPROWSKI, H., ed. — *Methods in virology*. New York, Academic Press, 1967. v. 3, p. 175-181.
3. CLARKE, D.H. & CASALS, J. — Arboviruses; group B. In: HORSFALL, F.L. & TAMM, I., ed. — *Viral and rickettsial infections of man*. 4th ed., 2nd print. Philadelphia, Lippincott, 1965. p. 606-58.
4. LOPES, O.S.; COIMBRA, T.L.M.; SACCHETTA, L.A. & CALISHER, C.H. — Emergence of a new arbovirus disease in Brazil. I. Isolation and characterization of etiologic agent, Rocio virus. *Am. J. Epidemiol.*, 108:444-9, 1978.
5. LOPES, O.S.; SACCHETTA, L.A.; COIMBRA, T.L.M. & PEREIRA, L.E. — Isolation of St. Louis encephalitis virus in South Brazil. *Am. J. trop. Med. Hyg.*, 28:583-5, 1979.
6. LOPES, O.S.; SACCHETTA, L.A.; COIMBRA, T.L.M.; PINTO, G.H. & GLASSER, C.M. — Emergence of a new arbovirus disease in Brazil. II. Epidemiological studies on 1975 epidemic. *Am. J. Epidemiol.*, 108:394-401, 1978.
7. LOPES, O.S.; SACCHETTA, L.A.; FRANCY, B.B.; JAKOB, W.C. & CALISHER, C.H. — Emergence of a new arbovirus disease in Brazil. III. Isolation of Rocio virus from *Psorophora ferox* (Humbolt 1819). *Am. J. Epidemiol.*, 108:122-5, 1978.
8. MITCHEL, C.J.; MONATH, T.H. & CROPP, C.B. — Experimental transmission of Rocio virus by mosquitoes. *Am. J. trop. Med. Hyg.*, 30:465-72, 1981.
9. MONATH, T. — Togaviruses, Bunyaviruses and Colorado tick fever virus. In: *MANUAL of clinical immunology*, edited by Noel R. Rose & Herman Friedman. Washington, D.C., American Society for Microbiology, 1976. p. 456-62.
10. MONATH, T.H.; VEMP, C.E.; CROPP, C.B. & BOWEN, G.S. — Experimental infection of house sparrows (*Passer domesticus*) with Rocio virus. *Am. J. trop. Med. Hyg.*, 27:1251-4, 1978.
11. PINHEIRO, F.A.; BENSABATH, G.; SCHATSMAIR, H. et alii — Aobovirus studies in children of rural Guanabara, Brazil. *Intervirology*, 5:93-6, 1975.
12. ROSEMBERG, S. — Neuropathological study of a new viral encephalitis. The encephalitis of São Paulo sea coast (preliminary report). *Rev. Inst. Med. trop., S. Paulo*, 19:280-2, 1977.
13. SHANNON, R.C. — The environment and behaviour of some Brazilian mosquitoes. *Proc. entomol. Soc. Wash.*, 33(1):1-27, 1931.
14. SUDIA, W.D. & CHAMBERLAIN, R.W. — *Collection and processing of medically important arthropods for arbovirus isolation*. Atlanta, Georgia, U.S. Department of Health, Education, and Welfare, National Communicable Disease Center, 1967. 29 p.
15. TANAKA, H.; WEIGL, D.R. & LOPES, O.S. — The replication of Rocio virus in brain tissue of suckling mice. Study by a electron microscopy. *Arch. Virol.*, 78:309-14, 1983.
16. TAYLOR, R.M. — Epidemiology. In: STRODE, G.K. — *Yellow fever*. New York, McGraw Hill, 1951. p. 165-228.
17. TIRIBA, A.C.; MIZIARA, A.M.; LORENÇO, R.; COSTA, C.R.B.; COSTA, C.S. & PINTO, G.H. — Encefalite humana primária, epidêmica por arbovírus observado no litoral Sul do Estado de São Paulo. *Rev. Assoc. Méd. bras.*, 22:415-20, 1976.

Recebido para publicação em 25 de outubro de 1986.

