

MINISTÉRIO DA SAÚDE
FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ
INSTITUTO OSWALDO CRUZ

Mestrado em Programa de Pós-Graduação em Medicina Tropical

VÍRUS DA CORIOMENINGITE LINFOCÍTICA EM POPULAÇÕES HUMANAS
VULNERÁVEIS E EM ROEDORES SINANTRÓPICOS DE COMUNIDADES
DESAVORECIDAS DA CIDADE DE SALVADOR, BAHIA.

GABRIEL ROSA CAVALCANTI

Rio de Janeiro
Setembro de 2022



Ministério da Saúde

FIOCRUZ

Fundação Oswaldo Cruz

INSTITUTO OSWALDO CRUZ
Programa de Pós-Graduação em Medicina Tropical

GABRIEL ROSA CAVALCANTI

Vírus da coriomeningite linfocítica em populações humanas vulneráveis e em roedores sinantrópicos de comunidades desfavorecidas da cidade de Salvador, Bahia.

Dissertação apresentada ao Instituto Oswaldo Cruz como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Medicina Tropical, área de concentração: Diagnóstico, Epidemiologia e Controle

Orientador (es): Dr^a Renata Carvalho de Oliveira dos Santos
Dr^a Elba Regina Sampaio de Lemos

RIO DE JANEIRO
Setembro de 2022

Cavalcanti, Gabriel Rosa.

Vírus da coriomeningite linfocítica em populações humanas vulneráveis e em roedores sinantrópicos de comunidades desfavorecidas da cidade de Salvador, Bahia. / Gabriel Rosa Cavalcanti. - Rio de Janeiro, 2022.

xiii, 65f f.; il.

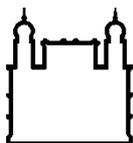
Dissertação (Mestrado) - Instituto Oswaldo Cruz, Pós-Graduação em Medicina Tropical, 2022.

Orientadora: Renata Carvalho de Oliveira Pires Dos Santos.

Co-orientadora: Elba Regina Sampaio De Lemos.

Bibliografia: f. 53-62

1. Vírus da coriomeningite linfocítica. 2. epidemiologia. 3. ratas. 4. comunidades desfavorecidas. I. Título.



Ministério da Saúde

FIOCRUZ

Fundação Oswaldo Cruz

INSTITUTO OSWALDO CRUZ
Programa de Pós-Graduação em Medicina Tropical

AUTOR: GABRIEL ROSA CAVALCANTI

Vírus da coriomeningite linfocítica em populações humanas vulneráveis e em roedores sinantrópicos de comunidades desfavorecidas da cidade de Salvador, Bahia.

ORIENTADOR (ES): Dr^a Renata Carvalho de Oliveira dos Santos
Dr^a Elba Regina Sampaio de Lemos

Aprovada em: 30/09/2022

EXAMINADORES:

Prof. Dr. Márcio Neves Bóia - **Presidente** (IOC/FIOCRUZ)
Prof. Dra. Rita de Cássia Nasser Cubel Garcia (UFF)
Prof. Dra. Helena de Godoy Bergallo (UERJ)
Prof. Dra. Flávia Barreto dos Santos (IOC/FIOCRUZ)
Prof. Dra. Maria Inês Doria Rossi (ICTB/FIOCRUZ)

Rio de Janeiro, 30 de setembro de 2022



Ministério da Saúde

Fundação Oswaldo Cruz
Instituto Oswaldo Cruz

Ata da defesa de dissertação de mestrado acadêmico em Medicina Tropical de **Gabriel Rosa Cavalcanti**, sob orientação da Dr^a. Renata Carvalho de Oliveira Pires dos Santos e Dr^a. e Elba Regina Sampaio de Lemos. Ao trigésimo dia do mês de setembro de dois mil e vinte e dois, realizou-se às nove horas e trinta minutos, de forma síncrona remota, o exame da dissertação de mestrado acadêmico intitulada: **"Vírus da Coriomeningite linfocítica em populações humanas vulneráveis e em roedores sinantrópicos de comunidades desfavorecidas da cidade de Salvador, Bahia"**, no programa de Pós-graduação em Medicina Tropical do Instituto Oswaldo Cruz, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Ciências - área de concentração: Diagnóstico, Epidemiologia e Controle, na linha de pesquisa: Epidemiologia e Controle de Doenças Infecciosas e Parasitárias. A banca examinadora foi constituída pelos Professores: Dr. Márcio Neves Bóia – IOC/FIOCRUZ (Presidente), Dr^a. Rita de Cássia Nasser Cubel Garcia – UFF/RJ, Dr^a. Helena de Godoy Bergallo – UERJ/RJ, e como suplentes: Dr^a. Flavia Barreto dos Santos - IOC/FIOCRUZ e Dr^a. Maria Inês Doria Rossi - ICTB/FIOCRUZ. Após arguir o candidato e considerando que o mesmo demonstrou capacidade no trato do tema escolhido e sistematização da apresentação dos dados, a banca examinadora pronunciou-se pela aprovação da defesa da dissertação de mestrado acadêmico. De acordo com o regulamento do Curso de Pós-Graduação em Medicina Tropical do Instituto Oswaldo Cruz, a outorga do título de Mestre em Ciências está condicionada à emissão de documento comprobatório de conclusão do curso. Uma vez encerrado o exame, o Presidente da Banca atesta a decisão e a participação do aluno e de todos o membros da banca de forma síncrona remota. A Coordenadora do Programa Dr^a. Vanessa Salete de Paula, assinou a presente ata tomando ciência da decisão dos membros da banca examinadora. Rio de Janeiro, 30 de setembro de 2022.

Dr. Márcio Neves Bóia (Presidente da Banca):

Dr^a. Vanessa Salete de Paula (Coordenadora do Programa):

Av. Brasil, 4365 Manguinhos Rio de Janeiro RJ Brasil CEP: 21040-360

Contatos: (21) 2562-1201 / 2562-1299 E-mail: atendimento@ioc.fiocruz.br Site: www.fiocruz.br/iocensino

Agradecimentos

Aos meus pais, Márcia Teixeira e Adriano Rosa, agradeço por todo o apoio e formação que me trouxeram até aqui e, principalmente, pelo trabalho de meio período como revisores do meu trabalho. Agradecimento especial para minha irmã, Beatriz Rosa, que, mais que uma revisora, foi minha editora, e uma amiga nas horas necessárias.

Aos meus amigos, Lucas Esteves e Thiago Campos, pela ajuda essencial para a conclusão deste trabalho.

À Manuela Freitas, minha namorada, que sempre esteve ao meu lado e que foi a pessoa mais importante na minha jornada até aqui e que é a minha base para continuar trilhando meu caminho.

À minha orientadora Renata Carvalho que sempre esteve presente e disposta a me auxiliar, não só nessa dissertação, mas desde o início da minha vida acadêmica. E que é diretamente responsável pelo meu crescimento como aluno e cientista.

À minha co-orientadora Elba Lemos, que é um exemplo academicamente e profissionalmente e sempre acreditou e impulsionou o meu desenvolvimento.

A todos os meus colegas do Laboratório de Hantavirose e Rickettsiose, especialmente o Jorlan, que desde o início sempre me ajudou no que precisei e sempre teve a paciência de responder todas minhas dúvidas. E à Patrícia que me auxiliou no trabalho e dividiu risadas comigo.

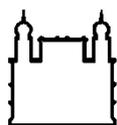
Ao Dr Federico Costa da Universidade Federal da Bahia pelo seu auxílio imprescindível cedendo as amostras para o projeto.

Ao Dr Hernan Argibay pelo auxílio com as análises estatísticas.

Ao Instituto Nacional de Doenças Virais Humanas Dr. Júlio I. Maiztegui Argentina, pela doação dos antígenos necessários para a realização do projeto.

À Coordenação do Curso de Pós-graduação em Medicina Tropical e aos demais membros do corpo docente.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001



Ministério da Saúde

FIOCRUZ

Fundação Oswaldo Cruz

INSTITUTO OSWALDO CRUZ

Vírus da coriomeningite linfocítica em populações humanas vulneráveis e em roedores sinantrópicos de comunidades desfavorecidas da cidade de Salvador, Bahia.

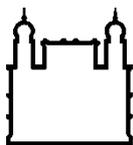
RESUMO

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO EM MEDICINA TROPICAL

Gabriel Rosa Cavalcanti

O vírus da coriomeningite linfocítica (Família *Arenaviridae*, gênero *Mammarenavirus*) apresenta uma distribuição mundial, devido ao seu principal reservatório, o roedor cosmopolita *Mus musculus*. A transmissão humana ocorre por inalação de aerossóis e contato direto com roedores e suas secreções levando a um quadro infeccioso assintomático ou leve e autolimitado, entretanto podendo evoluir para formas graves como meningite asséptica, meningoencefalite e óbito. O LCMV como agente teratogênico está associado a distúrbios congênitos como microcefalia e outras alterações neurológicas, além de abortos. Estudos na última década revelaram a presença de LCMV em países da América do Sul, inclusive no Brasil, onde o vírus já foi detectado em seu reservatório natural, além de evidência sorológica em amostras humanas e de roedores do gênero *Rattus*. Com o objetivo de dar continuidade à pesquisa sobre LCMV no país, foi realizado um estudo em quatro comunidades desfavorecidas urbanas, em 2018, na cidade de Salvador, Bahia. Além das 651 amostras de soro de voluntários residentes, também foram coletadas 122 amostras de soro e/ou vísceras de roedores capturados nestas localidades. A pesquisa de anticorpos anti-LCMV foi realizada por ELISA *in house* e a análise molecular por RT-Nested PCR para amplificação parcial do gene da nucleoproteína viral. Todos os roedores testados eram da espécie *R. norvegicus*. A presença de anticorpos anti-LCMV foi identificada em 1,9% (13/651) dos residentes voluntários e a partir da análise realizada sobre as condições sociodemográficas e estruturais em relação à reatividade por LCMV foi possível demonstrar que a idade e o bairro de moradia foram variáveis estatisticamente significativas ($P < 0,05$). Quanto aos roedores, a soroprevalência foi de 4,2% (5/117) da população de *R. norvegicus*. Em relação à análise molecular foi possível detectar e caracterizar o LCMV em fragmento de tecido pulmonar, confirmando a primeira identificação de LCMV em *R. norvegicus* no Brasil. Quanto aos fatores condicionantes para os roedores, apenas o sexo se mostrou significativo ($P < 0,05$). A baixa prevalência identificada está de acordo com os dados encontrados no mundo, exceção em casos de surto. Diante do exposto confirma-se a circulação do LCMV nas comunidades estudadas e fica evidente a necessidade de mais pesquisas para que se possa compreender a verdadeira circulação do vírus no Brasil e seu impacto na saúde pública, como patógeno que deva ser incluído no diagnóstico diferencial de neuroinfecções e distúrbios congênitos.

Palavras-chave: Vírus da coriomeningite linfocítica; ratazanas; comunidades desfavorecidas; epidemiologia.



Ministério da Saúde

FIOCRUZ

Fundação Oswaldo Cruz

INSTITUTO OSWALDO CRUZ

Lymphocytic choromeningitis virus in vulnerable human populations and in synanthropic rodents from slums in the city of Salvador, Bahia.

ABSTRACT

MASTER DISSERTATION THESIS IN MEDICINA TROPICAL

Gabriel Rosa Cavalcanti

LCMV (Family Arenaviridae, genus Mammarenavirus) is found worldwide, due to its main reservoir, the cosmopolitan rodent *Mus musculus*. Human transmission occurs by inhalation of aerosols and direct contact with rodents and their secretions, leading to an asymptomatic or mild and self-limited infectious condition, however, it can progress to severe forms such as aseptic meningitis, meningoencephalitis and death. LCMV as a teratogenic agent is associated with congenital disorders such as microcephaly, among other neurological disorders, and miscarriages. Some studies in the last decade showed the presence of LCMV in South American countries. In Brazil, LCMV has already been detected in its natural reservoir and has serological evidence in human and rodent samples of the genus *Rattus*. To continue the research on LCMV in the country, a study was carried out in four urban slums, in 2018, in the city of Salvador, Bahia. A total of 651 serum samples from resident volunteers, 122 serum and/or tissue samples were collected from rodents captured in these locations. The search for anti-LCMV antibodies was performed by in-house ELISA and molecular analysis by RT- Nested PCR for partial amplification of the viral nucleoprotein gene. All rodents tested were of the species *R. norvegicus*. The presence of anti-LCMV antibodies was identified in 1.9% (13/651) of the volunteers. The analysis of the sociodemographic and structural conditions in relation to LCMV reactivity in all the 4 slums demonstrate that the age and housing neighborhood were statistically significant variables ($P < 0.05$). Regarding to rodents, the seroprevalence for LCMV was 4.2% (5/117) of the population of *R. norvegicus*. An LCMV sequence was detected from the lung fragments tested, which were compared with sequences from the GenBank database, confirming the first molecular characterization of LCMV in *R. Norvegicus* in Brazil. As for conditioning factors for rodents, only sex was significant ($P < 0.05$). The low prevalence identified in the present study is in accordance with data found worldwide, except in cases of outbreaks. The circulation of the virus in the communities studied is confirmed and the need for further studies is evident to understand the true extent of the circulation of the virus in Brazil and its impact on public health, as a pathogen that should be included in the differential diagnosis of neuroinfections and congenital disorders.

Keywords: Lymphocytic choromeningitis virus; norway rats; slums; epidemiology.

SUMÁRIO

| | |
|---|--------------------------------------|
| RESUMO..... | VI |
| ABSTRACT..... | VII |
| 1. INTRODUÇÃO | 1 |
| 1.1- CONSIDERAÇÕES GERAIS | 1 |
| 1.2-ETIOLOGIA | 2 |
| 1.2.1. <i>Breve histórico</i> | 2 |
| 1.2.2. <i>Classificação taxonômica, morfologia e replicação viral</i> | 4 |
| 1.3. DIVERSIDADE GENÉTICA | 8 |
| 1.4 ECO-EPIDEMIOLOGIA | 10 |
| 1.4.1 <i>Transmissão</i> | 10 |
| 1.4.2 <i>Reservatórios roedores</i> | 11 |
| 1.4.3 <i>Distribuição geográfica</i> | 11 |
| 1.5- PATOGÊNESE E ASPECTOS CLÍNICOS | 15 |
| 1.6-DIAGNÓSTICO LABORATORIAL | 18 |
| 1.7-PREVENÇÃO E CONTROLE | 19 |
| 2. JUSTIFICATIVA..... | ERRO! INDICADOR NÃO DEFINIDO. |
| 3. OBJETIVOS | 22 |
| 3.1 OBJETIVO GERAL..... | 22 |
| 3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS | 22 |
| 4. MATERIAL E MÉTODOS | 23 |
| 4.1 LOCAL DO ESTUDO | 23 |
| 4.2 POPULAÇÕES ALVO | 26 |
| 4.3 COLETA DE DADOS | 27 |
| 4.4. CONSIDERAÇÕES ÉTICAS..... | 28 |
| 4.5 ANÁLISES SOROLÓGICAS..... | 28 |
| 4.6 ANÁLISES MOLECULARES | 29 |
| 4.7 ANÁLISES DE DADOS..... | 30 |
| 5. RESULTADOS..... | 32 |
| 5.1. RESULTADOS RELATIVOS À POPULAÇÃO HUMANA..... | 32 |

| | |
|---|-----------|
| 5.2. RESULTADOS RELATIVOS À POPULAÇÃO DE ROEDORES | 36 |
| 5.4. CARACTERIZAÇÃO VIRAL..... | 39 |
| 5.5. ANÁLISES ESTATÍSTICAS DAS VARIÁVEIS ASSOCIADAS À EXPOSIÇÃO AO LCMV | 40 |
| 6. DISCUSSÃO | 44 |
| 7. PERSPECTIVAS..... | 51 |
| 8. CONCLUSÕES | 52 |
| 9 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS..... | 53 |
| 9. ANEXOS | 63 |
| 9.1 CEUA – APROVAÇÃO DA COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS..... | 63 |
| 9.2. PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP | 64 |
| 10. APÊNDICES | 65 |
| FOLDER PARA DIVULGAÇÃO DE INFORMAÇÕES SOBRE A CORIOMENINGITE LINFOCÍTICA... | 65 |

ÍNDICE DE FIGURAS

| | |
|--|-----|
| Figura 1 Fotos das comunidades Alto do Cabrito (A) e Nova Constituinte (B), demonstrando a precariedade dos domicílios..... | 2 |
| Figura 2 A) Fotomicrografia eletrônica das partículas de LCMV. B) Esquema de partícula viral de LCMV. C) Organização genômica do LCMV..... | 6 |
| Figura 3 Esquema de replicação do LCMV..... | 7 |
| Figura 4 Topologia das linhagens de LCMV no mundo..... | 9 |
| Figura 5 Distribuição global do vírus LCM, a partir da detecção viral por análise molecular/ isolamento ou a partir da evidência de infecção viral por testes sorológicos, com base na literatura mundial.. .. | 12 |
| Figura 6 Localização da cidade de Salvador indicando as localidades das quatro comunidades desfavorecidas de onde se originaram as amostras utilizadas no estudo. | 223 |
| Figura 7 Fotos das comunidades Nova Constituintes (A) e Alto do Cabrito (B), demonstrando a precariedade dos domicílios..... | 25 |
| Figura 8 Distribuição geográfica das amostras humanas e de roedores positivas para LCMV por teste sorológico e molecular em quatro comunidades de Salvador/BA (2018)..... | 38 |
| Figura 9 Árvore filogenética demonstrando a relação entre cepas de LCMV com a amostra obtida de fragmento de 420nt de pulmão de roedor da espécie <i>Rattus norvegicus</i> capturado na cidade de Salvador/BA, indicada pelo nome n20654.02 em negrito..... | 40 |

LISTA DE QUADROS

| | |
|--|----|
| Quadro 1 Prevalência de LCMV em roedores e/ou humanos de acordo com o país, ano e técnica diagnóstica utilizada..... | 13 |
| Quadro 2 Descrição de dados socioeconômicos e demográficos da população residente nas comunidades social e economicamente desfavorecidas incluídas nesse estudo.. .. | 26 |
| Quadro 3 Variáveis de desfecho relacionadas com a reatividade por LCMV em humanos e a reatividade por LCMV e positividade de PCR em roedores, em estudo realizado em quatro comunidade da cidade de Salvador..... | 31 |

LISTA DE TABELAS

| | |
|--|----|
| Tabela 1. Dados socioeconômicos e demográficos da população residente nas quatro comunidades da cidade de Salvador incluídas neste estudo..... | 33 |
| Tabela 2. Dados de voluntários sororreativos para o vírus da coriomengite linfocítica em residentes de quatro comunidades social e economicamente desfavoráveis da cidade de Salvador no ano de 2018..... | 35 |
| Tabela 3. Dados dos roedores sororreativos ou PCR positivo para LCMV nas quatro comunidades social e economicamente desfavoráveis da cidade de Salvador no ano de 2018. | 37 |
| Tabela 4. Cálculo de significância da relação entre a variável de desfecho (reatividade sorológica ao LCMV para os humanos e reatividade sorológica e positividade de PCR para os roedores) e as variáveis numéricas, categóricas e sociodemográficas de voluntários humanos e de roedores <i>R. norvegicus</i> em quatro comunidades de Salvador, BA durante 2018 pelo Teste Exato de Fisher. ($p < 0,05$). | 42 |
| Tabela 5. Cálculo de significância da relação entre a variável de desfecho (reatividade sorológica ao LCMV para os humanos e reatividade sorológica e positividade de PCR para os roedores), com as variáveis numéricas sociodemográficas de voluntários das localidades e da variável numérica idade em dias de roedores <i>R. norvegicus</i> capturados na área. | 43 |

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

| | |
|---------|---|
| ACS | Agente comunitário de saúde |
| CCZ | Centro de Controle de Zoonoses |
| CDC | Centro de Controle de Doenças (<i>Center for Diseases Control</i>) |
| CNS | Conselho Nacional de Saúde |
| DO | Densidade óptica |
| ELISA | Ensaio imunoenzimático (<i>Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay</i>) |
| EUA | Estados Unidos da América |
| FIOCRUZ | Fundação Oswaldo Cruz |
| GP1 | Subunidade 1 da glicoproteína |
| GP2 | Subunidade 2 da glicoproteína |
| GPC | Precursor da glicoproteína |
| IBGE | Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística |
| ICTV | Comitê rcional de Taxonomia Viral (<i>International Committee on Taxonomy of Viruses</i>) |
| IFA | teste de imunofluorescência (<i>Immunofluorescence assay</i>) |
| IgG | Imunoglobulina G |
| IgM | Imunoglobulina M |
| IQR | Amplitude Interquartil1 |
| Kb | Kilobases |
| RdRp | RNA polimerase dependente de RNA |
| LCMV | Vírus da Coriomeningite Linfocítica (<i>Lymphocytic choriomeningitis marmarenavirus</i>) |
| LCR | Líquido cefalorraquidiano |
| LHR | Laboratório de Hantavirozes e Rickettsioses |
| MI | Método Imunológico |
| NIH | Instituto Nacional de Saúde (<i>National Institutes of Health</i>) |
| Nm | Nanômetros |
| NP | Nucleoproteína |
| Ph | Potencial de hidrogênio |
| PNH | Primatas não humanos |

| | |
|-----------|---|
| RIG | Região intergênica |
| RNA | Ácido ribonucleico |
| RT-PCR | Reação em Cadeia da Polimerase precedida por Transcriptase Reversa (Reverse Transcriptase Polymerase Chain Reaction) |
| RT-Nested | |
| PCR | Reação em Cadeia da Polimerase aninhada precedida por Transcriptase Reversa (Reverse Transcriptase Polymerase Chain Reaction) |
| SLEV | Vírus da Encefalite de Saint Louis (<i>Saint Louis encephalitis vírus</i>) |
| TCLE | Termo de consentimento livre e esclarecido |
| TORCH | Toxoplasmose – Rubéola – Citomegalovírus – Herpes |
| UFBA | Universidade Federal da Bahia |

1. INTRODUÇÃO

1.1- Considerações gerais

O mundo atual é predominantemente urbano, cerca de 55% da população mundial se concentra nesse tipo de ambiente. Esse processo de urbanização ocorre por todo o globo e países como Brasil, Argentina e Colômbia, considerados países em desenvolvimento se encontram em um estágio avançado com índices de 88,6%, 91,9% e 80,8% de habitantes em zonas urbanas, respectivamente¹.

Os centros urbanizados, contudo, não representam necessariamente boas condições de vida. O resultado do êxodo da população rural para as cidades, incapazes de suportar esse aporte populacional, pode ser visto no levantamento das Nações Unidas de 2003 sobre assentamentos humanos, segundo o qual mais de um bilhão de pessoas no mundo residiam em aglomerados subnormais². Os dados do último censo do IBGE (2010) mostram que no Brasil, 11,4 milhões de pessoas de pessoas residem nesses tipos de habitação, sendo que em cidades como Salvador, estado da Bahia, corresponde a mais de 50% da população³.

Diversas espécies de animais se adaptaram a áreas antropizadas, onde acabam se proliferando e mudando seus hábitos de vida. Entre os animais que circundam o espaço humano, existem aqueles que estão mais adaptados, denominados sinantrópicos. Muitos desses, porém, são considerados de importância para saúde pública, servindo como reservatórios de patógenos humanos, como, por exemplo, os roedores. Sabe-se que os roedores, particularmente os ratos, ratazanas e os camundongos, são hospedeiros de pelo menos 60 agentes zoonóticos⁴.

A migração de roedores para as cidades se dá principalmente pela oferta de abrigos e alimentação. Geralmente o alimento está disponível nas lixeiras ou lixos acumulados nas ruas⁵. A presença dessas condições está associada às zonas e às camadas desfavorecidas da sociedade/região, onde a falta de estrutura (rachaduras nos edifícios, presença de materiais abandonados) e outras condições precárias (acúmulo de lixo e falta de saneamento básico) proporcionam o ambiente perfeito para a perpetuação dessas espécies. Desta forma, a condição socioeconômica está relacionada com a presença de animais como roedores^{6,7} (Figura 1).



Figura 1. Fotos das comunidades Alto do Cabrito (A) e Nova Constituinte (B), demonstrando a precariedade dos domicílios. Retiradas do Google street view url: <https://www.google.com.br/maps/@-12.9089435,-38.4757376,3a,60.3y,314.99h,72.85t/data=!3m10!1e1!3m8!1s0bdCMBWFRZIp0Wm-QnYGsQ!2e0!5s20190501T000000!7i13312!8i6656!9m2!1b1!2i65> . Acessado em: 07/09/2022.

Dentre os roedores de importância para o homem, *Rattus rattus*, *Mus musculus* e *Rattus norvegicus* são as três principais espécies de roedores sinantrópicos comensais no Brasil⁸. Diante disto, a presença dessas espécies ligada à baixa condição de vida torna as habitações, como aglomerados urbanos subnormais, um berço propício para o aparecimento de surtos das mais variadas zoonoses. Dentre os agentes zoonóticos associados a esses animais está o vírus da coriomeningite linfocítica (LCMV).

1.2- Etiologia

1.2.1. Breve histórico

O LCMV foi primariamente isolado e identificado por Charles Armstrong, ao acaso, como relatado em sua biografia, enquanto trabalhava na identificação do agente de epidemia de encefalite em St. Louis, EUA, em 1933. Achados anatomopatológicos encontrados, após passagens de amostras clínicas de um paciente em primatas não humanos, levantaram a suspeita da ocorrência de um novo e distinto agente daquele já investigado, visto que, ao contrário do que era descrito para o vírus da encefalite de St Luis (SLEV), foram observadas infiltrações de linfócitos tanto nas meninges quanto no plexo coroide, panorama diferente do apresentado em infecções por este vírus⁹. Outras diferenças observadas por Armstrong e Lillie foram: a conflitante falta de sintomas após a inoculação intranasal, por parte do LCMV, em relação a SLEV; a falta de reação cruzada em testes de neutralização; a presença do

LCMV no sangue e no líquido cefalorraquidiano, o que não ocorre com o SLEV. O nome “vírus da coriomeningite linfocítica” derivou das características descritas acima ¹⁰. Notou-se, entretanto, que a linhagem encontrada era similar a seis outros isolados obtidos anteriormente por Muckenfuss, Armstrong e McCordock (pesquisadores envolvidos no estudo da epidemia em St. Louis) em primatas e por Webster e Fite em trabalho com roedores ^{11,12}.

Quase que concomitantemente à identificação e a nomeação deste novo vírus, outros grupos de pesquisa avançaram no conhecimento sobre LCMV. Em 1935, Traub isolou o LCMV em roedores, infectados naturalmente, a partir de um surto de etiologia até então desconhecida em uma colônia de produção ¹³⁻¹⁵. Ainda em 1935, River e Scott além de isolarem o vírus de dois pacientes, sob as nomenclaturas cepa W.E. e cepa R.E.S., confirmando a doença em humanos, descreveram a patogenicidade e detalharam as manifestações clínicas ¹⁶. A confirmação sobre LCMV em ambos os casos se deu por um trabalho em conjunto, em que Armstrong auxiliou Traub e posteriormente, ambos os pesquisadores auxiliaram River e Scott. Em estudo anterior ao de Rivers e Scott, Armstrong e Lillie encontraram três outras cepas do vírus e indivíduos portadores de anticorpos anti-LCMV, sugerindo o que fora confirmado mais tarde no trabalho supracitado. Notou-se também a presença de anticorpos em um indivíduo sem histórico de encefalite e meningite, o que indicou uma possível infecção assintomática, fato também demonstrado posteriormente ¹⁷.

Os trabalhos de Traub ^{14,15} demonstraram também que roedores infectados por LCMV de forma vertical ou nos primeiros dias após o nascimento, não evoluíam a óbito e não desenvolviam resposta imune ao vírus, o que indicava uma tolerância por parte do sistema imunológico do filhote recém-nascido. Este perfil imunológico observado no roedor foi determinante para que o LCMV fosse alçado como modelo nos estudos no campo da imunologia ¹⁸.

Após esse período o número de trabalhos envolvendo LCMV aumentou, como é natural, porém este não apresentara nenhuma característica que pudesse o agrupar em algum dos *taxa* conhecidos na época. Essa situação mudou a partir de 1969 com os trabalhos de Murphy e colaboradores ¹⁹ que registraram similaridades biológicas, físicas e morfológicas entre o vírus LCMV e o Machupo, além do trabalho de Rowe e colaboradores ²⁰ que demonstraram a relação sorológica entre o LCMV e os membros do complexo Tacaribe, indicando uma reatividade cruzada entre eles. Neste contexto, foi proposta a criação de um *taxon* para esse conjunto de vírus e todos aqueles com semelhante relação imunológica, culminando com a denominação de arenavírus, em

decorrência do aspecto granular observado ao visualizar as partículas virais por microscopia eletrônica ^{13,19,20,21}.

1.2.2. Classificação taxonômica, morfologia e replicação viral

Os primeiros arenavírus classificados, os vírus do complexo Tacaribe, Lassa e LCMV, seguiam os critérios citados anteriormente, levando em consideração sua proximidade estrutural e antigênica ²⁰. Com o passar dos anos e com a inclusão de outros membros, formou-se uma divisão baseada na distribuição geográfica dos vírus, suas propriedades antigênicas e variabilidade genética, agrupando então os arenavírus em vírus do Novo e do Velho Mundo, classificados como o sorocomplexo Tacaribe e o complexo Lassa-LCMV, respectivamente ^{22,23}. Essa separação geográfica só é rompida pelo LCMV devido à sua associação com o roedor cosmopolita *Mus musculus* ^{14,23}.

Em 2014, entretanto, publicações demonstrando a existência de vírus relacionados ao grupo dos arenavírus que eram capazes de infectar outras classes de animais, além dos mamíferos, como os répteis, levaram a uma nova proposta de divisão do grupo em dois novos gêneros, *Mammarenavirus* e *Reptarenavirus*, com a inclusão posteriormente, de mais dois gêneros, *Hartmanivirus* e *Antennavirus*, englobando um total de 54 espécies reconhecidas ^{22,24}.

Atualmente o ICTV, *International Committee on Taxonomy of Viruses*, considera como critério para inclusão de uma nova espécie no gênero *Mammarenavirus* fatores como: (i) associação a grupos divergente de hospedeiros; (ii) dispersão do vírus em uma localização geográfica distinta dos demais; (iii) associação ou não com doenças humanas; (iv) identidade menor de 80% na sequência de nucleotídeos no segmento S; (v) identidade menor de 76% na sequência de nucleotídeos do segmento L; e (vi) por último uma identidade menor de 88% nos aminoácidos da nucleoproteína viral, em relação as demais espécies ^{22,24,25}.

Seguindo os critérios atuais do ICTV, o LCMV é classificado no Domínio: *Riboviria*/ Reino: *Orthornavirae*/ Filo: *Negarnaviricota*/ Sub-filo: *Polyploviricotina*/ Classe: *Ellioviricetes*/ Ordem: *Bunyavirales*/ Família: *Arenaviridae*/ Gênero: *Mammarenavirus*/ Espécie: *Lymphocytic choriomeningitis mammarenavirus*. O vírus é agrupado na classe V da classificação de Baltimore, sendo aqueles de fita simples de RNA de senso negativo ²⁵.

As partículas de LCMV são envelopadas com tamanho variando entre 50 até 300nm (variação máxima na família *Arenaviridae*), contendo 2 segmentos de RNA, um *small* (S) e outro *large* (L), que possuem um tamanho médio de, respectivamente, 7,2kb e 3,4kb. O segmento S codifica para nucleoproteína (NP) e para o precursor da glicoproteína (GPC) que é clivado pós tradução dando origem as sub-unidades GP1 (domínio de ligação ao receptor) e GP2 (proteína de fusão transmembrana); e o segmento L para a proteína de matriz de ligação ao zinco (Z) e a RNA polimerase (RpRd proteína L) (Figura 2). Os dois segmentos funcionam de forma *ambisense*, traduzindo uma proteína por direção em cada segmento, sendo eles separados por uma região intergênica (RIG). As subunidades GP1 e GP2 em conjunto formam a espícula viral que interage com o receptor de superfície de células hospedeiras, permitindo sua entrada, essa mediada pela GP1 em contato com o receptor celular alfa-distroglicano. A nucleoproteína em associação com o material genético forma o nucleocapsídeo viral que em conjunto com a RNA polimerase, constituem a ribonucleoproteína viral. A proteína Z tem a mesma função da proteína da matriz de outros vírus envelopados ²⁶⁻²⁸.

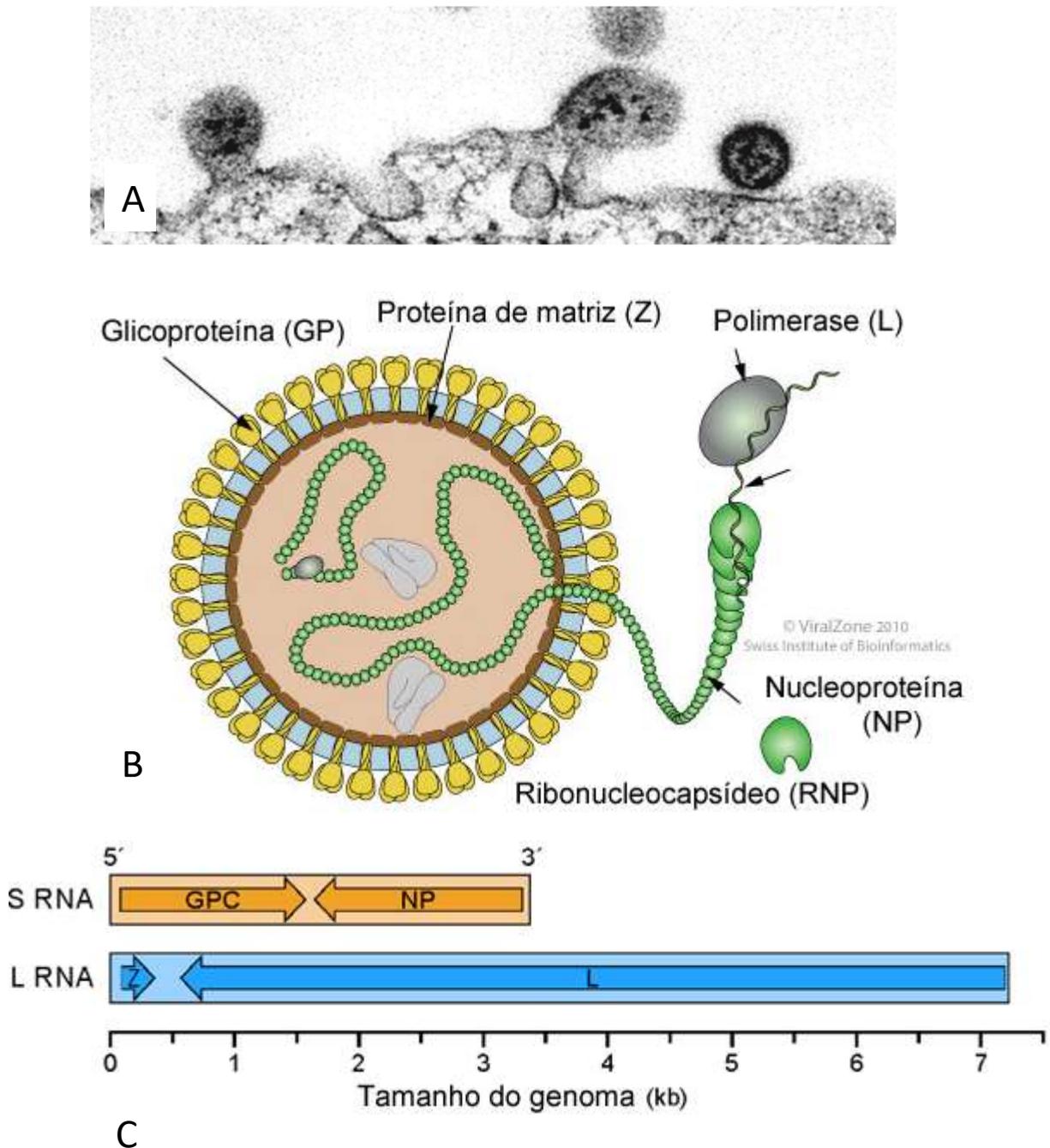


Figura 2. A) Fotomicrografia eletrônica das partículas de LCMV Fonte: ICTV url: <https://ictv.global/report/chapter/arenaviridae/arenaviridae/mammarenavirus> (Courtesy R. Milligan, J. Burns, and M. Buchmeier). Acessado em 08/09/22. B) Esquema de partícula viral de LCMV adaptado de modelo desenhado pelo Instituto Suíço de Bioinformática, 2010. url: <https://viralzone.expasy.org/83>. GP- Glicoproteína, Z- Proteína de Matriz, L- Polimerase, N- Nucleoproteína, RNP- Ribonucleocapsídeo, Genoma Viral. Acessado em: 06/08/2022. C) Organização genômica do LCMV. Fonte: ICTV url: <https://ictv.global/report/chapter/arenaviridae/arenaviridae/mammarenavirus> (Courtesy R. Milligan, J. Burns, and M. Buchmeier). Acessado em 08/09/22.

Durante a invasão celular pelo vírus, após a ligação inicial vírion-célula e a endocitose da partícula viral, a GP2 é desassociada da GP1 com a fusão entre as membranas viral e celular, em um processo pH dependente desencadeado pela

acidificação do ambiente do endossoma, levando à liberação do complexo de ribonucleoproteína viral no citoplasma celular, dando início ao processo de replicação ^{26, 28-30}. O RNA viral servirá como molde para a formação de uma nova fita complementar ao RNA genômico, que será o modelo para a síntese de uma nova fita do genoma viral. A tradução da NP e da polimerase ocorrem na fase inicial deste processo, enquanto da proteína Z e do GPC ocorrem em uma fase tardia. Em especial o RNAm que codifica o GPC é traduzido nos ribossomos associados ao retículo endoplasmático, onde inicia também o processo de clivagem que terminará no complexo de Golgi. Após o processo de replicação terminar, a proteína Z assume um papel importante de inibir a função da polimerase, de facilitar o deslocamento do complexo replicativo para perto da membrana celular e com o seu acúmulo, iniciar o processo de brotamento celular. A proteína Z também é apontada como responsável pelo brotamento de partículas defectivas-interferentes, vírions incompletos, que ajudam no estabelecimento da infecção ^{26, 31-34} (Figura 3).

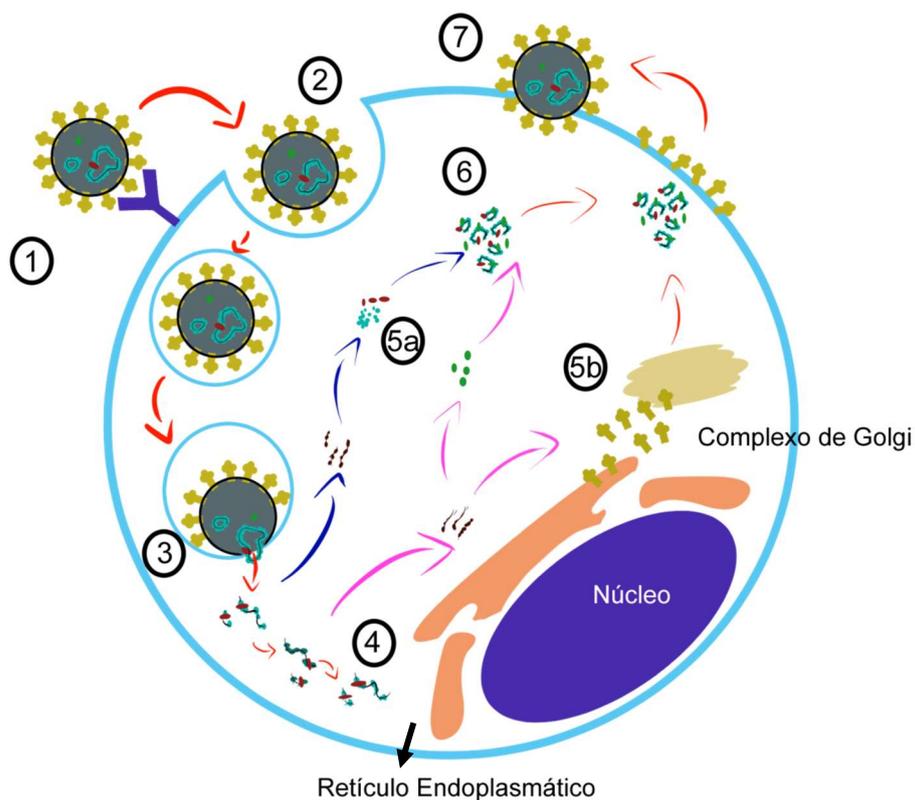


Figura 3. Esquema de replicação do LCMV. 1) Adsorção viral mediada pela GP1 em contato com o receptor alfa-distroglicana. 2) Penetração por endocitose mediada por receptor. 3) Fusão, pH dependente, do envelope do vírus com a membrana do endossoma ocorrendo a liberação do material genético no citoplasma da célula. 4) A replicação do genoma viral 5a) Tradução da NP e da polimerase viral, no ciclo inicial e tradução da proteína Z no ciclo tardio. 5b) Tradução da glicoproteínas e clivagem no retículo endoplasmático e no complexo de Golgi, isto na fase tardia da replicação. 6) Migração da ribonucleoproteína para a membrana celular, mediada pela proteína Z. 7) Liberação da partícula viral por brotamento e fim do ciclo. Fonte: Gabriel Cavalcanti, baseado de Hallam SJ. e colaboradores ²⁶.

1.3. Diversidade genética

Albariño e colaboradores ³⁵ ao estudarem a variabilidade dentro da espécie *Lymphocytic choriomeningitis mammarenavirus* conseguiram demonstrar, por análise bayesiana, quatro linhagens de LCMV, devido à alta diferença das sequências nucleotídicas e de aminoácidos das cepas estudadas. Ao se comparar os vírus dentro das próprias linhagens foi possível observar alterações nucleotídicas em até 18% e quando comparando com cepas de linhagens diferentes, em 25%, relacionados ao segmento S do genoma viral. Em relação ao segmento L, foram encontradas variações de até 25% entre os vírus de uma mesma linhagem e até 28% daqueles de linhagens diferentes. Em relação à diferença de aminoácidos, já se observou uma diferença de até 18%, 13%, 10% e 6% em relação respectivamente, às sequências da proteína de matriz Z, da RNA polimerase, do precursor da glicoproteína e da nucleoproteína. Estudos anteriores compilados por Albariño e colaboradores já indicavam que a variabilidade genética entre alguns LCMVs podia chegar até 22% ³⁵.

As quatro linhagens citadas foram obtidas a partir de comparações do segmento S entre diferentes cepas por análise bayesiana e resultaram no agrupamento de cepas de diversos países, sem nenhuma ligação geográfica definida. A linhagem I é formada pela maior parte das cepas identificadas nos Estados Unidos, incluindo aquelas clássicas obtidas nos anos 30, como Armstrong e W.E., mas também abrangendo cepas da Europa (Alemanha, França e Eslováquia). A linhagem II engloba apenas os vírus da Europa. A linhagem III possui apenas um representante dos EUA, enquanto a linhagem IV é composta por vírus isolados na Espanha, especificadamente do roedor *Apodemus Sylvaticus* ³⁵.

Utilizando a mesma metodologia, Zhang Li ³⁶, em 2018, ao classificar as sequências encontradas em seu trabalho, obteve as mesmas quatro linhagens estabelecidas em 2010, entretanto, com a utilização de dados atualizados, foram adicionadas sequências a linhagem I, sendo essas oriundas da Europa, Ásia, África e América, enquanto as outras linhagens se mantiveram iguais ³⁶ (Figura 4).

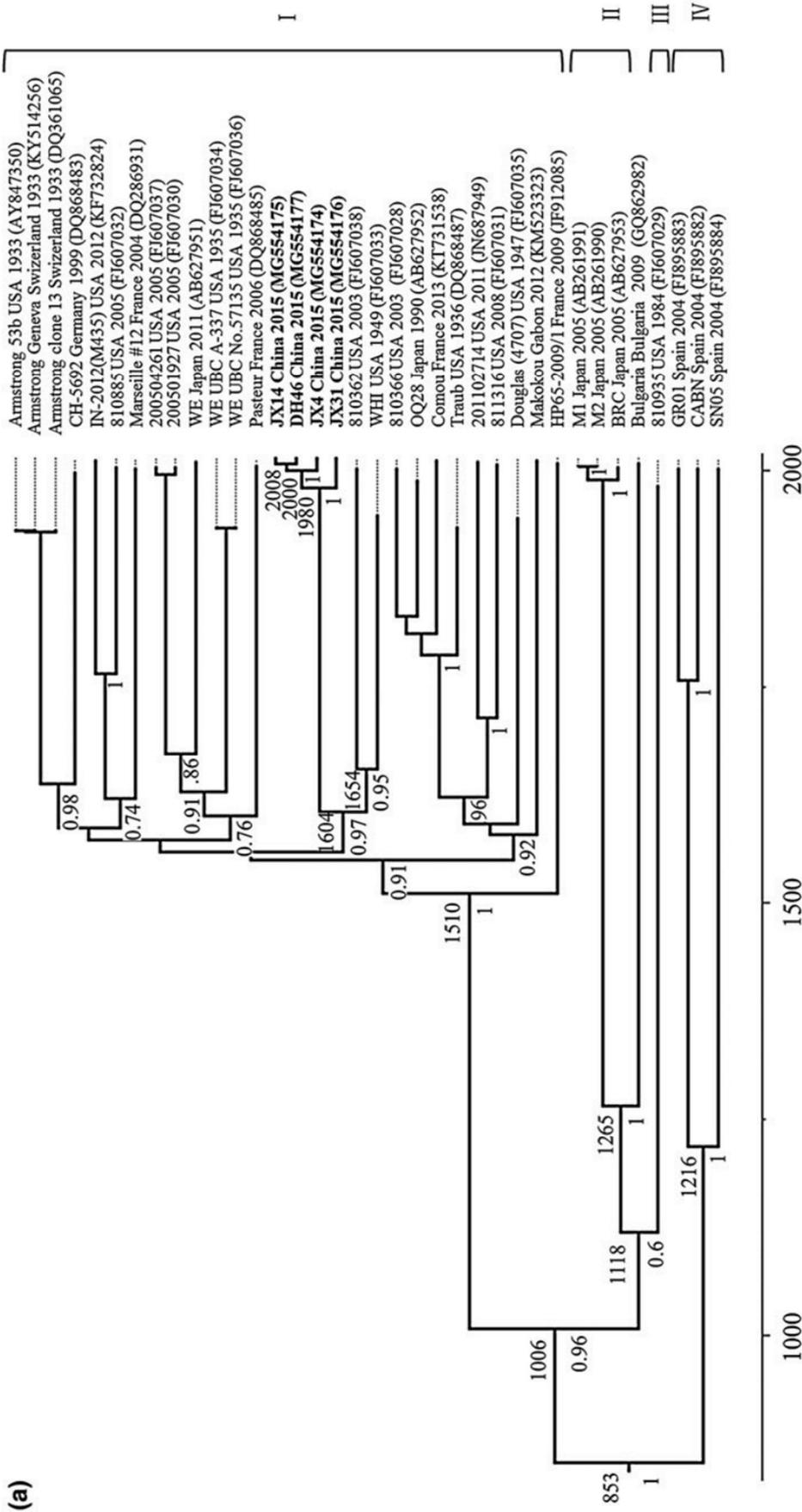


Figura 4. Topologia das linhagens de LCMV no mundo, Figura retirada de LI Zhang e colaboradores ³⁶

A diferença entre as cepas de LCMV vai além da divergência genética, em que cada cepa pode representar uma diferença na capacidade de persistência viral, no tropismo do vírus e na intensidade da resposta de anticorpos no hospedeiro, como reportado por Xin Zhou e colaboradores em 2012 ¹⁸, em uma revisão dos estudos de Tishon, Antoinette e colaboradores ³⁷ e Ahmed e colaboradores ³⁸. Por exemplo, estes trabalhos demonstraram que, em comparação com a cepa do LCMV Traub, a cepa Armstrong desencadeia, em camundongos, uma resposta mediada por anticorpos mais intensa. Em outra comparação, a cepa Armstrong, por ter sido isolada de tecido cerebral, mantém o neutropismo durante a infecção de novos hospedeiros, o que ocasiona uma elevada resposta de linfócitos T citotóxicos e uma rápida eliminação. Entretanto em cepas isoladas do baço, como no caso do Clone LCMV 13, a infecção resulta em uma supressão da resposta por linfócitos, permitindo uma persistência viral ^{18,37,38}. Essa supressão deriva do fato desta linhagem ter um tropismo por macrófagos, diferente da cepa Armstrong LCMV. Essa mudança está associada a duas modificações de aminoácidos que alteram a glicoproteína (GPC) e a RNA polimerase (L) do vírus, que o permite infectar e replicar de forma mais eficiente nestes tipos celulares ³⁹.

Em decorrência da sua natureza mais instável, como um vírus de RNA, é visto na literatura trabalhos que indicam a importância e o papel de *quasispecies* virais, no decorrer da infecção por LCMV e como esse *pool* de vírus é responsável pelo processo citado acima, de formação de novas cepas pela seleção dos vírions mais adaptados em tecidos específicos, como, por exemplo, os órgãos linfáticos. As *quasispecies* virais também podem influenciar no prolongamento ou não da infecção e de seus efeitos patológicos ¹³.

1.4 Eco-Epidemiologia

1.4.1 Transmissão

A transmissão do LCMV pode ocorrer por duas vias: (i) a pré-natal (ou vertical), na qual o vírus é capaz de ultrapassar a barreira transplacentária e infectar o feto ⁴⁰ e (ii) a pós-natal, frequentemente relacionada à inalação de aerossóis associados à excreta de roedores infectados ⁴¹. Na dinâmica do LCMV, a exposição humana a roedores infectados está associada a laboratórios de criação e experimentação de animais, embora situações esporádicas de infestação destes animais no ambiente

doméstico e o uso de roedores como animais de estimação, incluindo o hamster, também sejam relatados ⁴²⁻⁴⁴. A transmissão inter-humana ou pessoa-a-pessoa também pode ser considerada, a partir da doação de órgãos de doador infectado com LCMV para um receptor que, imunossuprimido, pode evoluir com um quadro grave com alta letalidade ⁴⁵.

Nos roedores, estas duas vias, vertical e horizontal, também estão presentes. Estudos em colônias de roedores, onde o LCMV foi detectado, demonstraram que a infecção nestes animais pode ocorrer ainda no período intrauterino ou na tenra idade. Estudos posteriores demonstraram que a transmissão ocorre através da infecção do tecido da placenta e que os roedores infectados congenitamente ou ainda muito jovens não evoluem para o óbito e permanecem infectados, se tornando, assim, uma fonte contínua de propagação do vírus ^{18,46,47}.

A transmissão horizontal do vírus entre os roedores está relacionada à exposição por urina e fezes ou durante contato sexual ou contato com secreções nasais ⁴⁸. A porta de entrada da infecção nestes parece ser a mucosa nasal dos indivíduos ⁴⁶.

1.4.2 Reservatórios roedores

Considerando que os arenavírus possuem ligações espécie-específicas com roedores e, semelhante à maioria dos membros da família *Arenaviridae*, o LCMV tem como reservatórios os roedores, com o camundongo da espécie *Mus musculus* sendo considerado o seu hospedeiro principal ⁴⁰. No entanto, este agente viral já foi identificado infectando naturalmente outras espécies de roedores, principalmente hamsters, ratos e ratazanas das espécies *R. norvegicus* e *R. rattus*, assim como porquinhos da Índia, dentre outros animais como primatas não humanos e carrapatos ^{14,16,36,49-52}. Cabe ressaltar que estudos realizados em camundongos e em hamsters demonstraram que estes animais atuam como reservatórios competentes, pois apresentam a capacidade de eliminar grande quantidade de partículas virais na saliva, urina, fezes e secreções nasais ⁵³.

1.4.3 Distribuição geográfica

O LCMV ocorre onde há a presença principalmente do seu reservatório natural e já foi detectado em todos os continentes (Figura 5). Entretanto, historicamente, a maior parte dos trabalhos sobre o agente está concentrada no hemisfério norte, onde estudos epidemiológicos na região apresentam geralmente uma situação de baixa prevalência tanto em humanos como em roedores (Quadro 1). A infecção por LCMV é intemporal, podendo acontecer em qualquer época do ano, embora ocorra mais frequentemente durante o fim do outono e início do inverno devido à procura maior dos roedores pelas residências humanas neste período, em regiões onde as estações são bem definidas ⁴⁰.

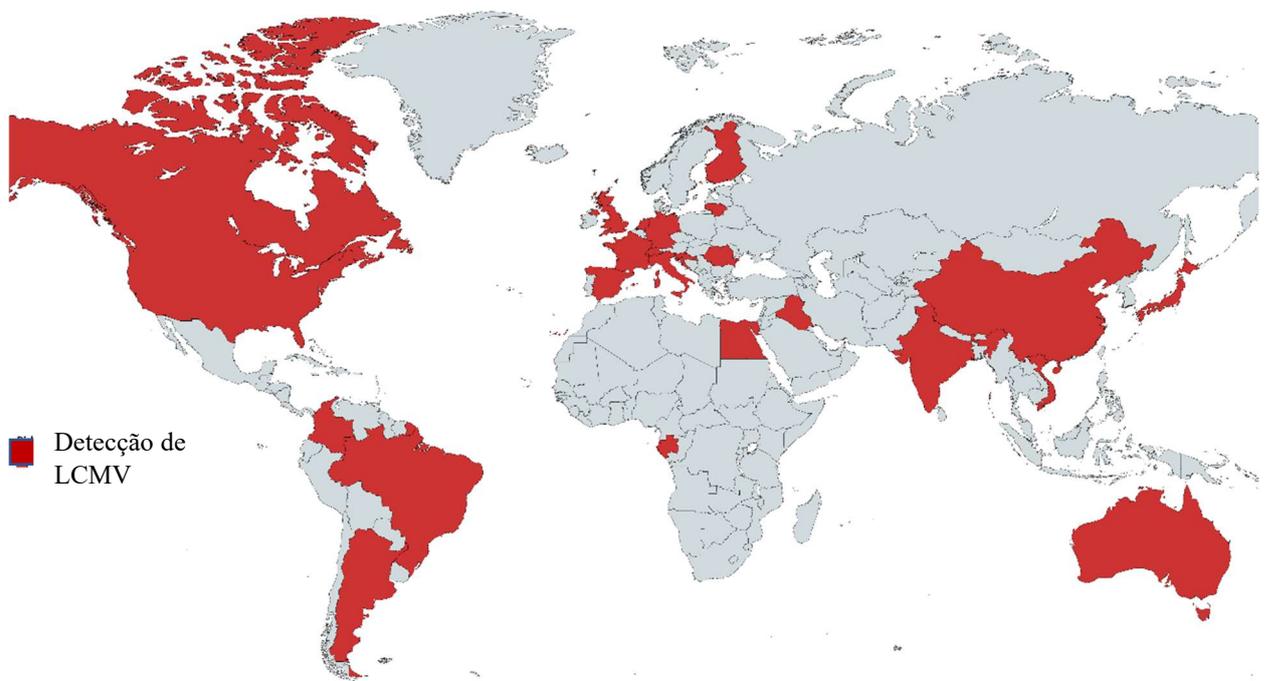


Figura 5. Distribuição global do vírus LCM, a partir da detecção viral por análise molecular/ isolamento ou a partir da evidência de infecção viral por testes sorológicos, com base na literatura mundial. Atualizado de Hussein A. e colaboradores ⁶⁸. Mapa criado em: mapchart.net.

Quadro 1. Prevalência de LCMV em roedores e/ou humanos de acordo com o país, ano e técnica diagnóstica utilizada.

| País | Ano | Roedores | | Humanos | |
|-------------------------------|------|---|--|---|--|
| | | MI* Nº amostras reagentes/Nº amostras testadas (%) | RT-PCR** Nº amostras reagentes/Nº amostras testadas (%) | MI* Nº amostras reagentes/Nº amostras testadas (%) | RT-PCR** Nº amostras reagentes/Nº amostras testadas (%) |
| Japão ⁵¹ | 1991 | 9/129 (7) | - | - | - |
| Egito ⁵⁴ | 1991 | (11,5) | - | - | - |
| Argentina ⁵⁵ | 1994 | - | - | 172/7227 (2,3) | - |
| Itália ⁵⁶ | 2005 | 82/1472 (5,6) | - | 12/488 (2,5) | - |
| Argentina ⁵⁷ | 2005 | 76/558 (13) | - | 85/2539 (3,3) | - |
| Reino Unido ⁵⁸ | 2008 | 66/1147 (5,7) | 127/482 (26) | - | - |
| Espanha ⁵⁹ | 2012 | - | - | 2/159 (1,2) | - |
| EUA ^{***60} | 2012 | 296/1421 (20) | 10/1421 (0,7) | 13/52 (25) | - |
| EUA ^{***61} | 2014 | 382/1820 (21) | 13/1820 (0,7) | 31/97 (32) | - |
| Gabão ⁶² | 2015 | - | 26/188 (13) | - | - |
| Índia ⁶³ | 2015 | 1/130 (0,76) | - | - | - |
| Vietnã ⁶⁴ | 2015 | 1/275 (0,4) | - | 2/245 (0,8) | - |
| Guiana Francesa ⁶⁵ | 2015 | - | 2/37 (5) | -- | - |
| Colômbia ⁶⁶ | 2017 | 8/80 (10) | 16/80 (20) | - | - |
| Brasil ^{50,67} | 2019 | 49/236 (20) | 14/78 (18) | 1/48 (2) | - |
| Iraque ⁶⁸ | 2020 | - | - | 23/297 (8) | 22/94 (23) |
| Croácia ⁶⁹ | 2021 | - | - | 23/338 (6,8) | - |

*MI: método imunológico, **PCR: reação em cadeia da polimerase transcriptase reversa, ***EUA: Estados Unidos da América

A evidência de infecção por LCMV em países europeus está bem documentada, onde encontramos, por exemplo, uma sororreatividade de 5,6% no total de 1472 amostras de roedores analisadas das espécies *Apodemus flavicollis*, *Clethrionomys glareolus* e *Microtus arvalis* e de 2,5% em um total de 488 indivíduos na Itália. Quanto à Espanha observou-se uma sororreatividade de 1,2% dentre 159 pessoas diagnosticadas com meningite enquanto que na Croácia foi observada uma

prevalência de 6,8% entre 338 profissionais que trabalhavam diariamente com roedores. Por último, um estudo realizado no Reino Unido mostrou, além de uma soroprevalência de 5,7% em 1147 roedores, das espécies *Sciurus vulgaris*, *M. musculus*, *A. sylvaticus*, *Microtus agrestis*, *Micromys minutis*, *Cynomys ludovicianus*, *Rattus norvegicus*, uma elevada prevalência molecular, considerando que 26% das 482 amostras de roedores analisadas foram RT-PCR positivas ^{56,58,59,69}.

Em países como Japão, Índia, Vietnã e Iraque, a soroprevalência de anticorpos anti-LCMV variou de 0,4% a 7% em roedores e de 0,8% a 23% em populações humanas de diferentes perfis ^{51,63,64,68}.

Na África, dois estudos demonstraram a presença do vírus no continente. Um no Gabão, onde foi identificada uma prevalência de 13% nos 188 *M. musculus* testados por RT-PCR e o outro, no Egito, onde observou-se uma soroprevalência que variou de 1,8% até 11,5% em diferentes regiões do país, em um trabalho onde as maiores porcentagens de sororreativos foram dos roedores *M. musculus* e *R. rattus* ^{54,62}.

Nos Estados Unidos, em um estudo conduzido em Baltimore em 2014, com 97 profissionais que trabalhavam em instalações de criação de animais comerciais foi identificada uma alta soroprevalência (32%), onde quatro destes profissionais evoluíram para quadros de meningite asséptica. A análise dos 1820 camundongos (*M. musculus*) demonstrou que 21% eram sororreativos e 0,7% RT-PCR-positivos. Ainda nos Estados Unidos, em um segundo estudo também realizado em um centro de criação de roedores em Indiana no ano de 2012, os autores identificaram 25% dos 52 profissionais com anticorpos IgM e IgG anti-LCMV. Em relação aos roedores, 20% dos 1142 roedores testados apresentaram anticorpos anti-LCMV e, dentre esses, 0,7% eram RT-PCR positivos ^{60,61}.

Alguns estudos nas décadas passadas reforçaram e/ou revelaram a presença do LCMV em países na América do Sul. Assim, na Colômbia em 2017 foi detectada uma sororreatividade de 10% nos 80 *M. musculus* testados, com 20% destes animais RT-PCR-positivo ⁶⁶. Na Argentina em 2005, reforçando o achado anterior de 1994 no país, dois estudos demonstraram prevalência sorológica de 2,3% e 3,3% nas populações humanas analisadas e de 13% em 558 *M. musculus* em um dos estudos ^{55,57}. Já na Guiana Francesa, em uma pesquisa publicada em 2015, os autores identificaram 5% de 37 *M. musculus* RT-PCR positivos ⁶⁵.

No Brasil, o LCMV já foi detectado em seu reservatório natural e há evidências sorológicas de infecção tanto na população humana quanto em roedores. Em 2008,

um estudo de soroprevalência desenvolvido em uma população de mastozoólogos e bioteristas, identificou um profissional com anticorpos anti-LCMV dentre 48 incluídos no estudo, configurando uma prevalência de 2%. Posteriormente, em outro trabalho realizado no estado do Rio de Janeiro em 2019, pelo nosso grupo, foi possível encontrar 49 amostras de roedores sororreativas (20%), das espécies *R. rattus* (2/10), *R. norvegicus* (2/95) e *M. musculus* (45/131). A análise molecular das vísceras demonstrou 14 amostras de *M. musculus* RT-PCR-positivas^{50,67}.

1.5- Patogênese e aspectos clínicos

O processo de infecção humana tem início após a inalação de aerossóis contendo partículas virais⁴¹, as quais atingem os alvéolos pulmonares onde darão início ao processo replicativo e infeccioso. Ao acessar a corrente sanguínea e o sistema linfático, a partir de macrófagos presentes nos pulmões, o vírus alcança outros tecidos, preferencialmente do sistema nervoso, como o plexo coroide, os ventrículos e as meninges. Nestes sítios o LCMV intensifica sua replicação, desencadeando uma resposta imune inflamatória no local, mediada por células-T citotóxicas CD8+, subsequentemente provocando a imunopatologia característica da infecção por LCMV. A presença de infiltrados de linfócitos no local associada ao processo inflamatório são responsáveis pelas manifestações clínicas descritas no homem, como sugerido pelo próprio nome da doença, corimeningite linfocítica^{10,26,28,40}.

Durante a transmissão vertical o vírus parece manter o tropismo pelo sistema nervoso, visto que a maior parte dos casos catalogados na literatura registram no mínimo uma consequência neurológica decorrente da infecção⁷⁰⁻⁷⁴. No feto, os neuroblastos parecem ser os alvos principais do LCMV no sistema nervoso, gerando um atraso ou complicação no desenvolvimento fetal, visto a perda ou desregulação da função de neurônios ainda em maturação. A maior concentração de neuroblastos em certos locais, como na região periventricular, também explica consequências como a calcificação da região^{40,75}.

O sistema imune tem um papel fundamental no curso da infecção por LCMV, já que é essencial para o controle da infecção e eliminação do agente patogênico do organismo, embora, como visto, também seja causador das manifestações clínicas da doença, executando, assim, um papel tanto protetivo quanto deletério. Os anticorpos, nessa situação, aparentam ter um papel reduzido no declínio da viremia, mas ainda

assim, são importantes para uma proteção a longo prazo contra uma reinfecção. Nos casos em que não há a interferência clara do sistema imune, como no paciente imunossuprimido em decorrência de transplante de órgãos ou em um paciente com uma doença imunossupressora, não se conhece ao certo como ocorre o dano aos sistemas infectados, visto que o LCMV não é um vírus citolítico ^{28,75}.

A infecção por LCMV pode se apresentar de formas distintas, dependendo se a infecção ocorre na fase pós ou pré-natal ⁷⁶. A condição do sistema imunológico também é uma variante quanto ao rumo da infecção, visto que nos casos de receptores de órgão infectados por LCMV, o desfecho, como comentado previamente, geralmente envolve uma infecção multissistêmica, podendo levar ao óbito ^{45,77,78}.

A infecção pós-natal se apresenta predominantemente de forma assintomática e autolimitada, embora casos graves possam ocorrer associados com meningite e encefalite ⁷⁹. As manifestações clínicas mais comuns são febre, náusea, vômito, dor de cabeça e fotofobia ⁸⁰. A doença tem um caráter bifásico, em que a primeira fase é caracterizada por sinais e sintomas inespecíficos, como uma doença febril em que se observa mialgia, mal-estar, febre, náusea, vômito, cefaleia e prostração. Casos com tosse, dor no peito e na garganta podem ser observados, associados a alterações pulmonares identificadas no exame radiológico do tórax, além de comprometimento dos testículos e glândulas salivares. A segunda fase é marcada por uma doença que afeta o sistema nervoso central com a presença de meningite, encefalite, cefaleia, rigidez da nuca, fotofobia, febre persistente e outros. Estas manifestações clínicas ocorrem num curso de até três semanas ^{28,76}.

Apesar do quadro clínico descrito acima ser o mais comumente observado, existem casos de infecções pós-natal com outras apresentações que vão desde confusão, espasmos, deterioração do estado mental, artralgia, irritação na pele, sintomas no trato respiratório a até estado comatoso, trombose, lesão renal e hemorragia ⁸¹⁻⁸⁴.

Durante as duas fases da doença, é possível detectar alterações nos exames laboratoriais, em que a primeira é marcada pela presença de leucopenia, trombocitopenia e elevações das enzimas hepáticas, enquanto na segunda fase, com o comprometimento neurológico, se observa hipoglicorraquia, elevação de proteínas do líquido cefalorraquidiano (LCR) e pleocitose no LCR que excede geralmente os padrões comuns de meningites assépticas, com predomínio dos linfócitos ⁴⁰.

Como supracitado, a infecção pós-natal relacionada a transplante de órgãos já foi documentada na literatura e está ligada a casos fatais, principalmente relacionados

à infecção de vários órgãos, diferente do tropismo pelo sistema nervoso central visto comumente. As manifestações clínicas nesses casos estão associadas aquele padrão mais brando e inespecífico como febre, cefaleia, náusea, mialgia, vômito e diarreia, mas também a casos mais graves envolvendo necrose de tecidos, pneumonia, hepatite, hemorragia, deterioração do estado mental e comprometimento de órgãos de forma geral. Nos EUA, como descrito em três estudos, foram identificados 17 casos de LCMV, com sete óbitos registrados em pacientes transplantados ^{45,77,78}.

Quanto à infecção pré-natal, considerando o tropismo do LCMV pelo tecido nervoso, o comprometimento clínico se restringe ao sistema nervoso, diferente de outras infecções congênitas que possuem caráter multissistêmico ⁴⁰. Na literatura essa via de transmissão já está bem estabelecida e, de forma geral, a infecção durante o período gestacional pode ocasionar malformações congênitas como hidrocefalia e microcefalia e levar ao aborto ^{72,85}. Delaine e colaboradores (2017) em seu estudo com base em levantamento de dados da literatura observaram que, além de uma taxa de mortalidade entre 30% e 35% nos neonatos infectados durante a gestação, os 67% que sobreviveram desenvolveram sequelas neurológicas graves ⁷². Estes mesmos autores, neste artigo publicado em período pós-epidemia de Zika vírus, chamaram a atenção para a semelhança clínica com a síndrome da Zika congênita, fato que serve de alerta para a necessidade do diagnóstico diferencial.

Neste mesmo trabalho, foi identificada a ocorrência de coriorretinite e cicatrizes coriorretinianas em pelo menos 98% dos casos de crianças infectadas com LCMV e hidrocefalia em 96% classificando-as como as manifestações mais comuns na infecção congênita por LCMV ⁷². Um resultado concordante com o obtido por Bonthius e colaboradores, em 2007, quando identificaram coriorretinite em todas as 20 crianças analisadas e a microcefalia em 13 destas ⁸⁶.

A infecção congênita por LCMV não se restringe apenas às manifestações citadas acima. Além do retardo do desenvolvimento da criança de uma forma geral, pode ocorrer também ventriculomegalia, hidropisia fetal, calcificação ventricular, ascite fetal, retardo psicomotor, hemorragia, entre outras manifestações ^{70,72,87}.

A infecção experimental do vírus, a partir de uma inoculação intracerebral, já foi demonstrada em animais como primatas não humanos (PNH) do gênero *Rhesus*, porquinhos-da-índia (*Cavia porcellus*) entre outros roedores. Nesses experimentos foi possível determinar que filtrados de linhagens de roedores e PNH mantêm sua infectividade por pelo menos 206 dias em condições ideais. Quando exposta a

temperaturas de 50 a 55°C por 20 minutos, a infectividade de suspensões virais de cérebros de roedores é suprimida ¹⁰.

Nos PNHs, a infecção resulta em quadro febril de 40 a 41°C a partir do quarto ou oitavo dia após inoculação e a temperatura só reduz após 3 ou no máximo 10 dias após o início do estado febril, podendo evoluir para a estabilização ou para o óbito do animal. A maior parte dos animais que sobrevive, apresenta, no entanto, um estado de abatimento, perda de peso, recusa da comida, com uma resposta lenta a estímulos, tremores e movimentação rígida. O líquido cefalorraquidiano do animal se apresenta de forma clara e com presença aumentada de linfócitos ¹⁰.

Nos roedores, a infecção começa a se manifestar a partir do sexto dia, quando os animais ao serem levantados por suas caudas apresentam contrações e tremores nos membros que posteriormente podem evoluir para convulsões fatais ou para uma aparente recuperação, já que, após alguns dias, acabam por convulsionar novamente, evoluindo ao óbito ¹⁰. Um estudo realizado por Mims (1969) ⁴⁷, em fêmeas grávidas, experimentalmente infectadas pela cepa WE de LCMV, confirmou a replicação do vírus no tecido da placenta e o acometimento do feto levando, entre outras consequências, ao aborto. Não foi detectada a passagem direta do vírus ou de sangue contaminado para o feto. Todavia, quando fêmeas grávidas foram infectadas pela cepa Armstrong, estas apresentaram uma infecção branda na placenta e os fetos nasceram sem a presença do vírus ⁴⁷. Neste mesmo estudo ratas grávidas foram infectadas pela cepa WE e deram à luz tanto a roedores saudáveis quanto roedores congenitamente infectados por LCMV ⁴⁷.

1.6-Diagnóstico laboratorial

O diagnóstico da coriomeningite linfocítica é realizado por meio de teste sorológico (ELISA, IFA entre outros), RT-PCR ou isolamento viral. O seu diagnóstico diferencial deve ser incluído na investigação de uma infecção intrauterina ou de infecção pós-natal, com outras doenças febris endêmicas no país que acometem o sistema nervoso. A infecção por LCMV deve ser considerada, como um possível diagnóstico diferencial com as infecções causadas pelos agentes que compõem o painel de infecções TORCH - um acrônimo para um grupo de doenças infecciosas que estão associadas à transmissão intrauterina e a malformações congênitas no feto; *Toxoplasma gondii*, vírus da rubéola, citomegalovírus, herpes vírus e mais

recentemente o vírus Zika^{72,40}. Nas infecções pós-natal deve ser realizado seu diagnóstico diferencial, em especial com as meningites virais, a partir de indicação clínica e epidemiológica e para tal são necessários testes diagnósticos específicos principalmente sorológicos e ou moleculares.

1.7-Prevenção e controle

A coriomeningite linfocítica está associada, principalmente como descrito, à exposição humana às excretas de roedores em ambiente doméstico ou casos de infecção em ambientes laboratoriais ^{41,42}. Assim, entre as medidas de prevenção da doença destaca-se (i) a proteção do ambiente domiciliar contra infestação de roedores, ou seja, um bom manejo ambiental, através de práticas de higiene que evitem a invasão destes animais; (ii) a manutenção da residência arejada; (iii) cuidados na hora de adentrar ambientes abandonados ou com pouca ventilação e (iv) para os profissionais, o uso correto de equipamentos de proteção individual (EPIs) e boas práticas laborais. A proteção das residências ocorre através do armazenamento correto dos alimentos em locais sem acesso aos roedores, o não acúmulo de lixo nos arredores, a utilização de armadilhas e a selagem de todos os buracos ou passagens que permitam o acesso dos animais.

Para o trabalho com o LCMV em laboratório, a sexta edição do manual de Biossegurança em Laboratórios de Microbiológicos e Biomédicos do CDC/ NIH classificou o vírus em duas categorias de biossegurança: Classe de risco 2 e 3, a depender da cepa e da metodologia utilizada ⁸⁸. É recomendado considerar o LCMV como agente de classe de risco 3 de biossegurança no caso de se trabalhar com cepas conhecida e letais a PNHs; em caso de realização de procedimentos com alto risco de gerar aerossóis; em situações de manipulação de grandes quantidades de material viral viável; ao trabalhar com isolados e materiais clínicos de casos humanos e de hamsters; e ao trabalhar com tumores transplantáveis positivos para LCMV ⁸⁸.

Diante do exposto, o controle desta zoonose desconhecida no país deve se basear em uma vigilância epidemiológica ativa, com: i) a inclusão, no contexto do diagnóstico diferencial com outras doenças semelhantes clinicamente à coriomeningite linfocítica; ii) a avaliação da infecção em animais reservatórios; iii) a identificação de populações vulneráveis ou de risco e; iv) a divulgação de informações

técnico-científicas que possibilitem o diagnóstico clínico-laboratorial e a tomadas de medidas preventivas.

2. JUSTIFICATIVA

Mesmo com os recentes trabalhos publicados em países vizinhos^{55,65,66}, ainda há um imenso hiato de conhecimento sobre a coriomeningite linfocítica principalmente no Brasil, onde pode ser considerada uma doença desconhecida. Levando em conta a possibilidade de infecção congênita deste agente viral e a transmissão para receptor de transplante de órgãos de doadores infectados, faz-se necessário o desenvolvimento de estudos que possam colaborar com a saúde pública tanto no contexto das doenças neurológicas infecciosas como das doenças congênitas, cuja identificação etiológica nem sempre é estabelecida.

Por se tratar de uma zoonose, há que se registrar que o Brasil apresenta todas as características necessárias para a ocorrência de casos e surtos causados por agentes zoonóticos, como o LCMV, que associados principalmente a baixa qualidade de vida e estruturação precária nas áreas urbanas e periurbanas, proporcionam uma maior exposição da população humana ao vírus consequente à concentração de roedores comensais nas cidades. Trabalhos realizados em comunidades desfavorecidas de Salvador, nos anos de 2009 e 2017, corroboram esta assertiva diante das elevadas taxas de infestação de roedores que variam de 45,9% a 67,4%, com a maior prevalência do roedor da espécie *R. norvegicus*^{89,90}.

Dentro deste cenário no qual as condições ambientais deficitárias nas comunidades brasileiras, associadas com a intensa infestação por roedores, principalmente *R. norvegicus*, e com a identificação do LCMV no território nacional, reforçam a necessidade de se instituir uma vigilância desta zoonose, com a sua inclusão no grupo das doenças transmitidas por roedores, para munir a avaliação de casos febris com manifestação neurológica ou de doença congênita sem etiologia conhecida no Brasil.

Diante do exposto, considerando os resultados obtidos previamente pelo grupo nas pesquisas desenvolvidas no estado do Rio de Janeiro^{50,67}, o presente estudo teve como hipótese a circulação do mammarenavirus causador da coriomeningite linfocítica em comunidades desfavorecidas no município de Salvador, Bahia tanto na população residente quanto de roedores sinantrópicos.

3. OBJETIVOS

3.1 Objetivo Geral

Avaliar a presença de infecção pelo vírus da coriomeningite linfocítica em populações humanas vulneráveis e em roedores sinantrópicos em comunidades desfavorecidas da cidade de Salvador, Bahia.

3.2 Objetivos Específicos

- Analisar a presença de anticorpos anti-LCMV em amostras de soro de populações humanas e de roedores sinantrópicos coletadas em quatro comunidades desfavorecidas no município de Salvador;
- Verificar a presença do genoma do vírus da coriomeningite linfocítica em amostras de vísceras dos roedores coletados no município de Salvador e realizar a caracterização genotípica das amostras positivas;
- Avaliar a associação de condicionantes socioeconômicos, demográficos e ambientais com a prevalência de infecção por LCMV nas populações estudadas.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Local do Estudo

O estudo foi desenvolvido no nordeste brasileiro na cidade de Salvador, Bahia (Figura 6), que, com uma densidade populacional de 500 pessoas por km², é constituída por 242 aglomerados subnormais, com uma média de 3,2 moradores por residência nos 860.410 domicílios ocupados. Localizada na zona brasileira de clima tropical quente e úmido ³, a cidade de Salvador apresenta duas estações; a estação seca, durante os meses de maio e outubro e a estação chuvosa que ocorre de novembro a abril.



Figura 6. Localização da cidade de Salvador indicando as localidades das quatro comunidades desfavorecidas de onde se originaram as amostras utilizadas no estudo. Mapa modificado a partir de mapa criado em mapchart.net.

As quatro comunidades selecionadas para o estudo se encontram localizadas na parte noroeste da capital baiana (Figura 6), onde habitam mais de 500.000 indivíduos ³ em situação de pobreza, foram: (i) Alto do Cabrito; (ii) Marechal Rondon; (iii) Rio Sena e (iv) Nova Constituinte. Cada comunidade possui seu próprio padrão

topográfico e suas próprias camadas socioeconômicas e ambientais, marcadas por uma estruturação precária (Figura 7). As comunidades se encontram em prefeituras-bairros (regiões administrativas) diferentes, onde Marechal Rondon e Alto do Cabrito pertencem a prefeitura-bairro Liberdade e São Caetano, enquanto as de Rio Sena e Nova Constituinte estão presentes na prefeitura-bairro subúrbios e ilhas.

Dados do IBGE de 2010 compilados por CONDER/INFORMS, em 2016, demonstram que a quantidade de domicílios em estado subnormal, ou seja, que ocupam um terreno ilegalmente e que possuem acesso precário de serviços públicos essenciais em Nova Constituinte e Rio Sena é de 2.797 e 3.787 respectivamente, enquanto nas localidades do Alto do Cabrito e Marechal Rondon apresentam, respectivamente, 2.247 e 1.996 residências em estado subnormal. A respeito da distribuição populacional entre as etnias (autodeclarada) presentes, uma maior proporção da população se declarou parda, seguida pelas etnias preta, branca, amarela e indígena ⁹¹. A caracterização realizada pelo IBGE das comunidades é relatada a seguir no Quadro 2.

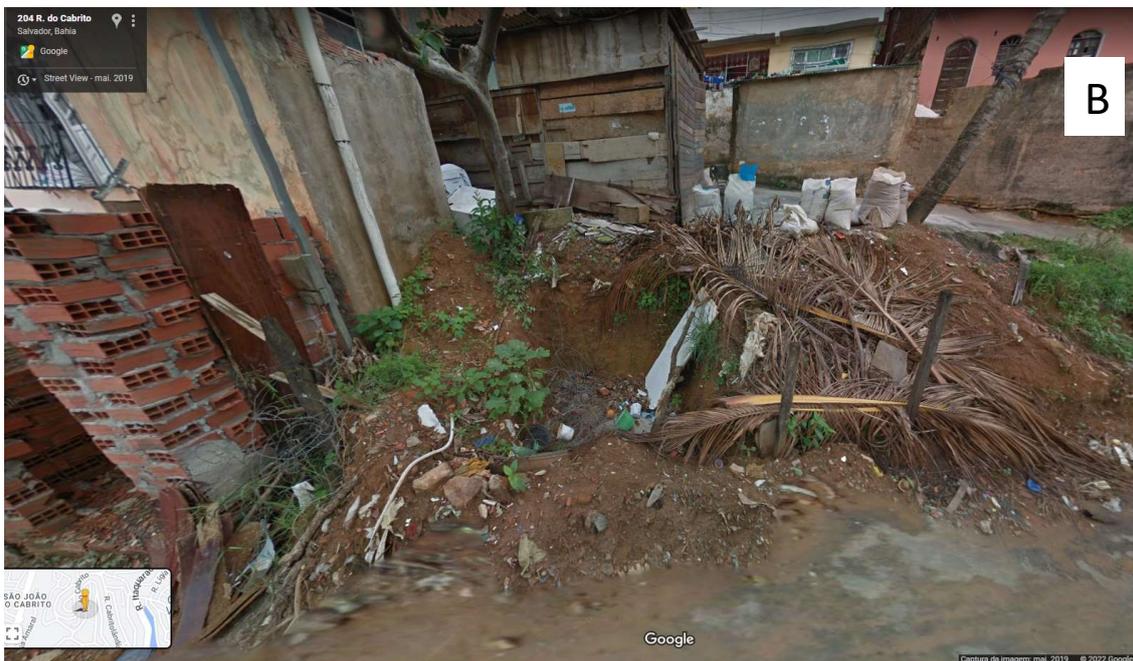


Figura 7. Fotos das comunidades Nova Constituintes (A) e Alto do Cabrito (B), demonstrando a precariedade dos domicílios. Retiradas do Google street view url: <https://www.google.com/maps/@-12.9128218,-38.4764066,3a,75y,216.26h,64.93t/data=!3m6!1e1!3m4!1sNi2JE7m2-QydYztpOGXWrA!2e0!7i113312!8i6656>. Acessado em: 30/06/2022.

Quadro 2. Descrição de dados socioeconômicos e demográficos da população residente nas comunidades social e economicamente desfavorecidas incluídas nesse estudo, baseado no último Censo de 2010 compilados por CONDER/INFORMS, 2016 ⁹¹.

| | Nova Constituinte | Rio Sena | Marechal Rondon | Alto do Cabrito |
|---|--------------------------|-----------------|------------------------|------------------------|
| População total | 9.410 | 16.379 | 19,47 | 17,051 |
| Sexo | 49% Homens | 49% Homens | 47% Homens | 48% Homens |
| | 51% Mulheres | 51% Mulheres | 53% Mulheres | 52% Mulheres |
| População > 15 anos não alfabetizada (%) | 9,29 | 6,24 | 5,18 | 5,87 |
| População que passou de 15 anos de estudo (%) | 1,09 | 0,36 | 0,75 | 0,62 |
| Rendimento Mensal Médio dos responsáveis (R\$) | 584,00 | 745,00 | 936,00 | 842,00 |
| Abastecimento de água nos domicílios (%) | 97 | 98 | 99 | 98 |
| Esgotamento Sanitário (%) | 60 | 82 | 95 | 86 |
| Coleta de Lixo nas Residências (%) | 85 | 95 | 98 | 99 |

4.2 Populações Alvo

A população incluída no presente estudo foi selecionada a partir de quatro comunidades, representadas aqui por 651 amostras de residentes participantes do projeto original intitulado “*Otimização de estratégias de controle para zoonoses transmitidas por roedores em comunidades brasileiras*”, sob a coordenação do Dr. Federico Costa da Universidade Federal da Bahia (UFBA), realizado em 2018. Os

critérios de seleção foram: i) possuir no mínimo 5 anos de idade; ii) passar pelo menos três (03) noites por semana no local e iii) concordar em participar da pesquisa de acordo com o consentimento por escrito do “Termo de Consentimento Livre e Esclarecido” (TCLE). Amostras de populações de roedores da espécie *R. norvegicus* presentes nas comunidades amostradas coletadas em dois períodos de 2018, compreendendo os meses de abril a junho, e os meses de novembro e dezembro foram cedidas pelo projeto citado. Dentre soro e fragmentos de pulmão, um total de 122 amostras de roedores foram analisadas, destas 117 amostras soros e 117 amostras de fragmentos de pulmões dos roedores, as quais 112 pertenciam ao mesmo espécime de roedor.

Em relação ao desenho amostral da pesquisa, como no projeto original a amostragem mínima exigida foi com base na prevalência global de leptospirose, no presente estudo foram utilizadas todas as amostras disponíveis utilizando os critérios de inclusão estabelecidos.

4.3 Coleta de Dados

Após o aceite do TCLE, foi realizada a coleta de sangue venoso e a aplicação de questionário estruturado contendo dados socioeconômicos, demográficos e questões relacionadas à presença de roedores na residência. Quanto à captura dos roedores, foram utilizadas armadilhas tipo *live-traps* nas proximidades de residências^{92,93}. As armadilhas foram colocadas durante dois períodos de 2018 (maio-junho; novembro-dezembro), correspondendo as estações seca e chuvosa e, em cada comunidade, a área de estudo variou entre 0,07 e 0,09 km². As armadilhas do tipo *live-traps* foram postas em par em quarenta pontos de amostragem (160 no total) durante quatro noites (segunda a sexta-feira) em cada comunidade. Os roedores capturados foram transportados para um laboratório ao ar livre, submetidos à eutanásia e tiveram seus dados biométricos registrados, além de amostras de sangue e tecidos coletadas, de acordo com metodologia já padronizada de biossegurança e manuseio dos animais^{94,95}. Alíquotas destas amostras foram encaminhadas para o Laboratório de Hantavíroses e Rickettsioses (LHR) do Instituto Oswaldo Cruz/Fiocruz para investigação de LCMV, objeto do presente estudo.

4.4. Considerações éticas

O estudo faz parte de um projeto âncora intitulado “*Otimização de estratégias de controle para zoonoses transmitidas por roedores em comunidades brasileiras*” que possui aprovação pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal da Bahia, conforme a resolução CNS nº 041/17, sob o número de registro 2.245.914 (Anexo 1). Este estudo maior envolveu a captura e coleta de amostras de roedores sinantrópicos que recebeu aprovação pelo Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Fundação Oswaldo Cruz (FIOCRUZ) sob o protocolo 019/2016 do CPqGM (Anexo 2). As amostras foram cedidas para o Laboratório de Hantavírus e Rickettsioses do Instituto Oswaldo Cruz para investigação do LCMV nas populações humanas e animais estudadas.

4.5 Análises Sorológicas

Seguindo o protocolo utilizado pelo *Instituto Nacional de Enfermedades Virales Humanas “Julio I. Maiztegui”*, as amostras humanas e animais foram processadas por meio de um ensaio *in house* imunoenzimático ELISA indireto.

Para realizar a testagem foram utilizadas microplacas de 96 poços com fundo em U (Thermo Scientific™). Nos orifícios da placa foram aplicados 100 µL de lisado celular (Vero C76- ATCC® CRL-1587™) contendo o antígeno viral nos 48 poços superiores e 100 µL de lisado celular controle (sem antígeno) (Vero C76) nos 48 poços inferiores para sensibilizar a mesma. A placa então foi mantida a 4° C por 16 a 18 horas, e, em seguida, lavada 5 vezes com solução PBS pH7.4 contendo 0,1% de Tween 20 (Merck & Co., Inc., Kenilworth, NJ, EUA) (PBST). Os soros controles e os soros testes para triagem foram diluídos em duas etapas, primeiramente a 1/100 (2 µL de soro em 198 µL de solução contendo PBS pH7.4, 0,5% de Tween 20 e leite *Skim milk* a 5,0% - BD Difco™) em tubos de diluição e posteriormente a 1/400 (33 µL de soro diluído na etapa anterior em 100 µL de solução já presente na microplaca contendo PBST e leite *Skim milk* a 5,0% - BD Difco™), e em seguida, após a homogeneização da solução foi descartado 33 µL do poço para manter o volume final de 100 µL. A placa foi posteriormente incubada a 37°C por uma hora. Após cinco lavagens com PBST, 100 µL do conjugado anti-IgG humana de cabra ligado a peroxidase (Kirkegaard & Perry Laboratories- KPL, Gaithersburg, MD) na diluição de 1:2000 foi adicionada em cada poço e as placas foram incubadas por 1 h a 37°C. Em

relação às amostras de roedores, foram utilizados dois conjugados de IgG anti-mouse e anti-rat com peroxidase misturados V/V na diluição de 1/2000 (Kirkegaard & Perry Laboratories- KPL, Gaithersburg, MD). Em seguida foram adicionados 100 µL de substrato ABTS [2, 2'-azinodi (3-etilbenzotiazolona-6-sulfonato)] (KPL, Gaithersburg, MD) por poço na placa e esta incubada por 30 minutos a 37°C. A leitura da absorbância foi realizada em 405nm a 450nm em espectrofotômetro (Leitora de microplacas - LMR-96, kasuaki). As densidades óticas (DOs) obtidas com os soros reagindo frente ao antígeno LCMV foram subtraídas dos valores das DOs obtidas com os mesmos soros reagindo frente ao antígeno inespecífico, obtendo-se assim a DO líquida. Os parâmetros de aceite de reatividade da amostra considerados foram o título $\geq 1/400$ e DO líquida acima do *cut off* estabelecido de $\geq 0,2$.

4.6 Análises Moleculares

As amostras de pulmão dos roedores foram submetidas à extração de RNA viral por meio do kit comercial *PureLink Micro-to-Midi total RNA purification kit* (Invitrogen, San Diego, CA) seguindo o protocolo do fabricante.

Em seguida 2 µL de produto (RNA) extraído na etapa anterior foi utilizado para a síntese de cDNA e sua posterior amplificação com o *kit* comercial *SuperScript III One-Step RT-PCR System with Platinum® Taq DNA Polymerase* (Invitrogen, San Diego, CA) e para a PCR 2 foi utilizado o *kit* *AmpliTaq Gold™ DNA Polymerase with Buffer II and MgCl₂* (Invitrogen, San Diego, CA). A PCR 1 foi realizada com oligonucleotídeos iniciadores que amplificam um fragmento de 660 pb da região codificante da nucleoproteína viral: 1817V-LCM (5'- AIA TGA TGC AGT CCA TGA GTG CAC A -3') e 2477C-LCM(5'- TCA GGT GAA GGR TGG CCA TAC AT -3'), seguido por uma *Nested-PCR* utilizando 2 µL de produto da PCR 1 com os oligonucleotídeos 1902V-LCM (5'- CCA GCC ATA TTT GTC CCA CAC TTT -3') e 2346C-LCM (5'- AGC AGC AGG YCC RCC TCA GGT -3'), conforme trabalho de Emonet e colaboradores, 2007³².

As PCRs foram realizadas no termociclador Veriti™ 96-Well Fast Thermal Cycler (Applied Biosystems™), sendo a PCR 1 com os parâmetros: 48°C 45min_94°C 2min 40x [94°C 30s_61°C 40s_68°C 50s] 68°C 5min. A PCR 2 foi feita com os parâmetros: 94°C 5min 35x [94°C 30s_57°C 30s_72°C 50s] 72°C 7min.

Os produtos da PCR 2 foram visualizados em gel de agarose 1,5% e, se positivos, os produtos eram diretamente purificados com *kit comercial Wizard® Genomic DNA Purification* (PROMEGA), segundo o protocolo do fabricante.

O fragmento de 420nt obtido foi submetido ao sequenciamento nucleotídico por meio do *kit comercial BigDye® Terminator™ v3.1 Cycle Sequencing* (Applied Biosystems) utilizando o sequenciador automático, modelo ABI PRISM® 3130x (Applied Biosystems). As sequências foram visualizadas e analisadas pelo programa MEGA 11⁹⁶ e comparadas às sequências disponíveis no banco de dados depositado no *GenBank* utilizando a ferramenta BLASTn (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>).

Com o auxílio de ferramentas como CLUSTAL W e MUSCLE presentes no programa MEGA 11⁹⁶, a sequência encontrada tanto no estudo quanto em bancos de dados foram alinhadas para realização das análises filogenéticas. As possíveis relações entre elas foram estimadas por método de Máxima verossimilhança por meio do programa PhyML 3.0⁹⁷ Sendo visualizadas pelo programa Tree Of Life (iTOL) v5⁽⁹⁸⁾.

4.7 Análises de Dados

A prevalência de infecção por LCMV foi estimada e a significância da relação entre as variáveis foi calculada por meio do Teste Exato de Fisher, $p < 0,05$ (variáveis categóricas nominais) e Teste de Mann-Whitney, $p < 0,05$ (variáveis numéricas), para verificar aquelas que possuíam relação com a variável de desfecho “*reatividade IgG anti-LCMV*” e em relação a população de roedores foi incluída também a presença de RNA viral como variável de desfecho (Quadro 3). A análise dos dados foi realizada utilizando o programa estatístico R (versão 3.1.1)⁹⁹.

Foram inclusos no estudo, como variáveis, os dados socioeconômicos e demográficos dos participantes (renda, sexo, idade, bairro, tempo de estudo em anos e etnia), condições atrativas para o estabelecimento de roedores nos entornos ou propriamente nas casas (acúmulo de lixo e esgoto a céu aberto próximo das residências), data da última visita do Centro de Controle de Zoonoses, a comunidade de residência e o avistamento de roedores próximo das residências. Em relação aos roedores foram incluídos os dados referentes ao sexo, presença de feridas e a idade (estabelecida previamente pelo grupo da UFBA utilizando a equação de von Bertalanffy, conforme metodologia já estabelecida⁹²) (Quadro 3).

Considerando que algumas informações no banco de dados não foram caracterizadas como variáveis de predição, foi realizada uma descrição sucinta sobre armazenamento de comida, presença de depósitos/ lixões próximos de suas residências, pavimento no quintal e serviços públicos na região como coleta de lixo e visita de agente comunitário de saúde.

Quadro 3. Variáveis de despecho relacionadas com a reatividade por LCMV em humanos e a reatividade por LCMV e positividade de RT-Nested PCR em roedores, em estudo realizado em quatro comunidades da cidade de Salvador.

| Grupo | Variável independente | Variável de despecho | Teste |
|--------|---|--------------------------------|-----------------------|
| Roedor | Comunidade Feridas Sexo | Positividade por RT-Nested PCR | Teste Exato de Fisher |
| | Idade (estimativa em dias) | Sororreatividade | Teste de Mann-Withney |
| Humano | Acúmulo de lixo Esgoto à céu aberto Sexo Etnia | Sororreatividade | Teste Exato de Fisher |
| | Comunidade de moradia Avistamento de roedores Visita do CCZ Idade Renda Tempo de estudo (anos) | | Teste de Mann-Withney |

5. RESULTADOS

5.1. Resultados relativos à população humana

O perfil populacional das 651 amostras de soro humano coletadas nas quatro localidades corresponde a 379 (58,2%) indivíduos do sexo feminino e 272 (41,7%) do sexo masculino, com idade variando de 5 até 101 anos, com uma média de 33 anos e amplitude interquartil (IQR) de 29,5. Entre as mulheres, a idade variou de 5 a 101 anos, com uma média de 34 anos e IQR 28; nos homens, a idade variou de 5 a 84 anos, com uma média de 31 anos e IQR 30. Em relação à etnia autodeclarada, as amostras corresponderam a 344 pessoas pretas (52,8%), 253 pardas (38,8%), 41 brancas (6,2%), 9 amarelas (1,3%) e 4 indígenas (0,6%). Quanto às localidades, Alto do Cabrito foi a comunidade com maior número de amostragem, com 184 amostras (28,2%), seguida por Marechal Rondon, com 164 (25,1%), Nova Constituinte, com 153 (23,5%) e Rio Sena, com 150 (23%). No dia da entrevista, 346 (53%) destes voluntários referiram ter avistado roedores em uma distância mínima de 10 metros do espaço de suas casas nos últimos 30 dias; 158 (24,2%) constataram um acúmulo de lixo no espaço de 10 metros de suas residências. Desta população apenas 151 (23,1%) tinham o ensino médio completo e 15 (2,3%) pessoas chegaram a participar do ensino superior. A renda média da população encontrada, excluindo menores de 18 anos, foi de 561 reais (Tabela 1).

Nas questões envolvendo a estrutura da comunidade, apenas 33 (5%) relataram não ter iluminação pública onde moravam; 218 (33,4%) informaram sobre a proximidade de suas casas a esgotos à céu aberto; 158 (24,2%) relataram a falta de pavimento no acesso as suas casas, indicando a presença de mato ou barro; 433 (66,5%) possuíam quintal em suas casas, com 334 (51,3%) residências revestidas com algum tipo de material. Apenas 17 (2,6%) relataram a falta de água encanada em casa, sendo que 302 (46,3%) relataram falta d'água pelo menos 1 vez no último mês (no tempo relativo a pesquisa); 110 (16,8%) relataram guardar os alimentos fora de um armário, seja em baldes, sacos plásticos ou outros recipientes (Tabela 1).

Quanto ao lixo, ainda no contexto da estrutura da comunidade, 234 (35,9%) expressaram morar perto de algum local que serve de depósito para matérias de sucata ou lixo; 546 (83,8%) relataram ocorrer a coleta de lixo na rua de sua casa, 165 (25,3%) indicaram depositar lixo na frente da própria casa de maneira desprotegida, destas 142 (21,8%) revelaram embalar o lixo apenas com sacos plásticos. Por fim,

180 pessoas (27%) relataram que o Centro de Controle de Zoonoses nunca realizou alguma ação para controle de roedores em suas residências e 267 (41%) informaram nunca terem recebido uma visita de um agente comunitário de saúde (tabela 1).

Tabela 1. Dados socioeconômicos e demográficos da população residente nas quatro comunidades da cidade de Salvador incluídas neste estudo.

| Dados socioeconômicos | | |
|--|--|-------------|
| Sexo (%) | Masc 41,7 | Fem 58,2 |
| Idade | Min 5 anos e Máx 101 anos; IQR 29,5 | |
| Etnia (%) | Preta | 52,8 |
| | Parda | 38,8 |
| | Branca | 6,2 |
| | Amarela | 1,3 |
| | Indígena | 0,6 |
| Dados demográficos | | |
| Comunidades (%) | Alto do Cabrito | 28,2 |
| | Marechal Rondon | 25,1 |
| | Nova Constituinte | 23,5 |
| | Rio Sena | 23 |
| Pop. com ensino médio completo (%) | | 23,1 |
| Pop. a cursar o ensino superior (%) | | 2,3 |
| Relato de avistamento de roedores próximo de residências (%) | | 53 |
| Renda média (R\$) | | 561,00 |
| Residências contempladas com iluminação pública ao entorno (%) | | 95 |
| Residências próximas a esgoto à céu aberto (%) | | 33,4 |

| | |
|--|------|
| Residências com pavimentação no entorno (%) | 75,8 |
| Residências com falta de água encanada (%) | 2,6 |
| Residências com estoque inadequado de alimento (%) | 16,8 |
| Residências próximas a lixões (%) | 35,9 |
| Residências contempladas com a coleta do lixo (%) | 83,8 |
| Residências com lixo depositados na fachada (%) | 25,3 |
| Residências que apresentaram acúmulo de lixo (%) | 24,2 |
| Residências contempladas com visita do CCZ (%) | 73 |
| Residências contempladas com visita de ACS (%) | 59 |

Das 651 amostras testadas por ELISA para a presença de anticorpo anti-LCMV, 1,9% (13/651) foram sororreativas, pertencentes a três homens e 10 mulheres. Quanto à etnia, quatro pessoas eram pardas, oito negras e uma pessoa branca. Em relação à localidade, seis pessoas eram de Marechal Rondon, cinco de Nova Constituinte e duas de Alto do Cabrito, todos acima de 18 anos, dentre os quais, quatro acima dos 60 anos (Tabela 2).

Dos 13 indivíduos com sororreatividade para LCMV, apenas quatro não viram roedores nos arredores de suas residências no último mês (da data da entrevista), três afirmaram possuir lixo acumulado em suas residências nesta mesma faixa de tempo e somente um indivíduo informou que acondiciona o seu lixo em sacos plásticos na rua de sua casa (Tabela 2).

Nenhuma das pessoas sororreativas ao LCMV relatou alguma sintomatologia ou resultado de exames prévios de Líquido cefalorraquidiano que pudesse indicar a infecção pelo vírus, além de reações comuns como febre e cefaleia.

Tabela 2. Dados de voluntários sororreativos para o vírus da coriomengite linfocítica em residentes de quatro comunidades social e economicamente desfavorecidas da cidade de Salvador no ano de 2018.

| Comunidade | Reativos | Sexo* | Idade | Etnia | Esgoto à céu aberto próximo | Acúmulo de lixo na residência | Avistamento de roedor | Última visita do CCZ |
|-------------------|----------|------------|-------|--------|-----------------------------|-------------------------------|-----------------------|----------------------|
| Marechal Rondon | 6 | F | 41 | Pardo | Não | Não | Sim | Nunca |
| | | F | 62 | Preto | Sim | Não | Não | Último ano |
| | | F | 64 | Preto | Sim | Não | Não | Nunca |
| | | F | 35 | Preto | Não | Não | Sim | Último ano |
| | | M | 73 | Preto | Não | Não | Sim | Último ano |
| | | F | 19 | Branco | Não | Não | Sim | Último ano |
| Alto do Cabrito | 2 | M | 62 | Preto | Não | Sim | Sim | Último ano |
| | | F | 58 | Preto | Não | Não | Sim | Nunca |
| | | F | 35 | Pardo | Sim | Sim | Não | Último ano |
| Nova Constituinte | 5 | F | 41 | Pardo | Não | Não | Não | Nunca |
| | | F | 33 | Preto | Sim | Não | Sim | Último ano |
| | | M | 38 | Pardo | Sim | Sim | Sim | Último ano |
| | | F | 42 | Pardo | Sim | Não | Sim | Último ano |
| Total | 13 | 3M/ 10F | // | // | 7N/ 6S | 10N/3S | 4N/9S | // |

*Sexo feminino (F); Sexo masculino (M).

5.2. Resultados relativos à população de roedores

Dentre as 117 amostras de soro coletadas dos roedores da espécie *R. norvegicus* nas quatro comunidades amostradas, 64 (54,7%) eram de roedores machos e 52 (45,2%) fêmeas, representados por 2 animais jovens (recém desmamado ¹⁰⁰), 23 subadultos (2-3 meses ¹⁰⁰) e 92 adultos (plena capacidade reprodutiva ¹⁰⁰), baseado na estimativa de idade por dias e no desenvolvimento sexual (descrição do testículo e da parte externa da vagina, estado dos mamilos e gravidez/lactante). Das amostras, 60 (51,2%) foram obtidas na estação seca e 57 (48,7%) na chuvosa, distribuídas pelas quatro localidades, de forma que 38 (32,4%) delas representaram o Alto de Cabrito, 38 (32,4%) Nova Constituinte, 23 (19,5%) Marechal Rondon e 18 (15,3%) Rio Sena.

Dos 117 roedores testados por ELISA, 4,2% (5/117) apresentaram anticorpos IgG anti-LCMV, dois espécimes procedentes da localidade de Nova Constituinte, um de Marechal Rondon e dois de Rio Sena. Todos os roedores sororreativos eram fêmeas tinham ferimentos em seus corpos, 3 estavam grávidas e foram coletados, um roedor na estação chuvosa e os outros quatro, na estação seca.

Em relação à análise molecular, das 117 amostras de pulmão coletadas de *R. norvegicus* nas quatro comunidades amostradas, 52 eram de roedores machos (44,4%), 65 fêmeas (55,5%), representados por dois jovens, 18 subadultos e 97 adultos. Do total de 117 amostras, 56 (47,8%) foram coletadas de roedores na estação seca e 64 (54,7%), na chuvosa, distribuídas pelas quatro localidades, de forma que 38 (32,4%) delas representaram o Alto de Cabrito, 38 (32,4) Nova Constituinte, 22 (18,8%) Marechal Rondon e 19 (16,2%) Rio Sena (Tabela 3).

A partir da detecção do RNA viral por RT-Nested PCR e posterior sequenciamento, foi possível identificar uma amostra positiva para LCMV. A amostra corresponde a uma fêmea com aproximadamente 60 dias de vida, soronegativa, capturada em Marechal Rondon, coletada na estação seca, contendo sinais de feridas corporais (Tabela 3).

Considerando o resultado da análise sorológica associada com a molecular (presença do RNA viral), a prevalência geral de LCMV em roedores foi de 4,9% (6/122), todos da espécie *R. norvegicus*.

A partir das análises moleculares em amostras de roedores e da análise sorológica em humanos e roedores foi possível detectar a evidência de circulação de LCMV em todas as comunidades estudadas. Apenas em Nova Constituinte e

Marechal Rondon foram encontrados tanto roedores infectados quanto humanos sororreativos (Figura 8).

Tabela 3. Dados dos roedores sororreativos ou RT-Nested PCR positivo para LCMV nas quatro comunidades social e economicamente desfavorecidas da cidade de Salvador no ano de 2018.

| Comunidade | Sexo | Idade (dias) | Feridas | Estação | IgG anti-LCMV | RT-Nested PCR |
|-------------------|-------|--------------|---------|---------|---------------|---------------|
| Marechal Rondon | Fêmea | 45 | Sim | Seca | Reativo | Negativo |
| | Fêmea | 60 | Sim | Seca | Não reativo | Positivo |
| Nova Constituinte | Fêmea | 85 | Sim | Chuvosa | Reativo | Negativo |
| | Fêmea | 121 | Sim | Chuvosa | Reativo | Negativo |
| Rio Sena | Fêmea | 77 | Sim | Chuvosa | Reativo | Negativo |
| | Fêmea | 79 | Sim | Seca | Reativo | Negativo |

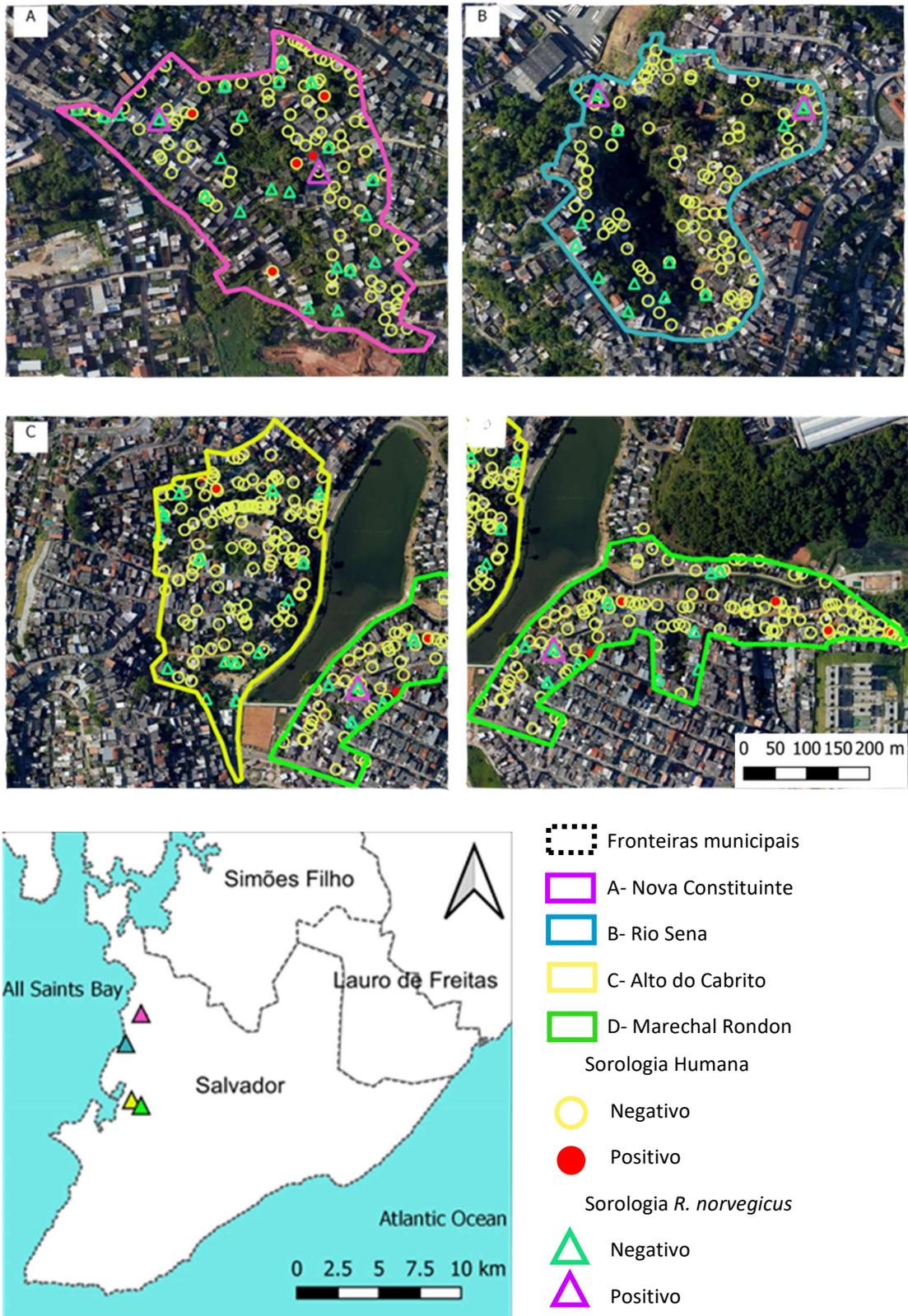


Figura 8. Distribuição geográfica das amostras humanas e de roedores positivas para LCMV por teste sorológico e molecular em quatro comunidades de Salvador/BA (2018). A) Nova Constituinte; B) Rio Sena. C) Alto do Cabrito. D) Marechal Rondon. Fonte: Cedido por Argibay Hernan.

5.4. Caracterização viral

Através do sequenciamento parcial e comparação nucleotídica da amostra positiva com amostras de LCMV depositadas no *GenBank*, foi possível confirmar a identificação do vírus da coriomeningite linfocítica. Esta amostra apresentou uma similaridade de nucleotídeos de 85,71% em relação a uma amostra de LCMV depositada em 2009 oriunda dos Estados Unidos (nº de acesso FJ607032.1). Foi estabelecido uma árvore filogenética da sequência parcial (420pb) da região codificante da nucleoproteína do LCMV, construída pelo método de máxima verossimilhança (ML) no programa PhyML ⁹⁷, com 1000 réplicas de bootstrap, e o melhor modelo evolutivo para as sequências foi estabelecido utilizando o programa jModelTest presente no programa MEGA 11 ⁹⁶. De acordo com a árvore estabelecida foi possível observar que a amostra de Salvador (n20654.02) ficou agrupada com as amostras de um mesmo estudo realizado nos EUA (Figura 9) ²². Considerando o baixo suporte observado na árvore (bootstrap <0.7), a amostra de Salvador está inserida no grupo I de linhagens reconhecidas do LCMV no mundo.

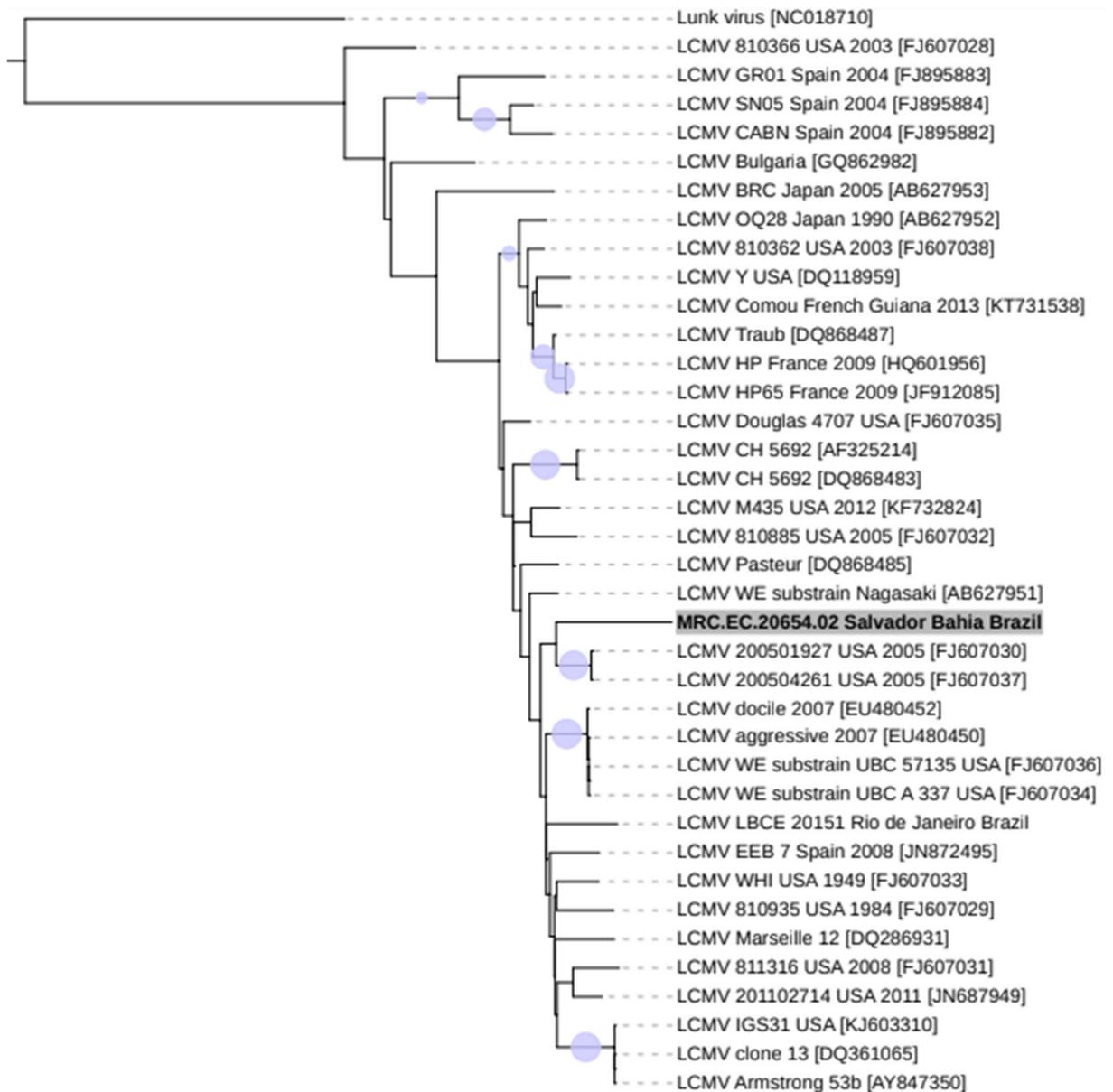


Figura 1. Árvore filogenética demonstrando a relação entre cepas de LCMV com a amostra obtida de fragmento de 420nt de pulmão de roedor da espécie *Rattus norvegicus* capturado na cidade de Salvador/BA, indicada pelo nome n20654.02 em negrito. Árvore estabelecida por máxima verossimilhança com 1000 repetições de bootstrap, baseada no modelo TN92 + G, utilizando os programas MEGA11⁹⁶ e PhyML⁹⁷ visualizada pelo programa Tree Of Life (iTOL) v5⁹⁸. os círculos azuis representam valores de bootstrap acima ou igual a 70, quanto maior o círculo maior o valor.

5.5. Análises estatísticas das variáveis associadas à exposição ao LCMV

Os resultados obtidos foram analisados quanto à relação entre as variáveis categóricas e numéricas e a sorreatividade ao LCMV. Em relação à população humana foi verificada uma associação significativa ($p < 0,05$) para as variáveis “comunidade onde residia” e “idade” do residente voluntário. Quanto aos roedores, a

variável sexo se mostrou significativa ($p < 0,05$) quanto à presença de sororreatividade para o LCMV conforme apresentado nas Tabelas 4 e 5.

Tabela 4. Cálculo de significância da relação entre a variável de desfecho (reatividade sorológica ao LCMV para os humanos e reatividade sorológica e positividade de RT-Nested PCR para os roedores) e as variáveis numéricas, categóricas e sociodemográficas de voluntários humanos e de roedores *R. norvegicus* em quatro comunidades de Salvador, BA durante 2018 pelo Teste Exato de Fisher. ($p < 0,05$).

| Teste Exato de Fisher (Humanos) | | | |
|---|-------------------|---------------------------|-------------------|
| Variáveis Categóricas | | Nº de Positivo (%) | Valor de p |
| Sexo | Feminino | 10/379 (2,6) | 0,25 |
| | Masculino | 3/272 (1,1) | |
| Etnia autodeclarada | Branca | 1/41 (2,4) | 0,7376 |
| | Preta | 8/344 (2,3) | |
| | Amarela | 0/9 (0,0) | |
| | Pardo | 4/243 (1,6) | |
| | Indígena | 0/4 (0,0) | |
| Comunidade | Marechal Rondon | 6/164 (3,7) | 0,0367 |
| | Alto do Cabrito | 2/184 (1,1) | |
| | Nova Constituinte | 5/153 (3,3) | |
| | Rio Sena | 0/150 (0,0) | |
| Esgoto a céu aberto | Ausência | 7/432 (1,6) | 0,3773 |
| | Presença | 6/218 (2,8) | |
| Acúmulo de lixo | Ausência | 8/417 (1,9) | 1 |
| | Presença | 5/234 (2,1) | |
| Avistamento de roedores | Ausência | 4/210 (1,9) | 0,77 |
| | Presença | 9/346 (2,6) | |
| Última visita do CCZ | 6 meses | 8/381 (2,1) | 0,93 |
| | 1 ano | 1/92 (1,1) | |
| | nunca | 4/178 (2,2) | |
| Teste Exato de Fisher (Roedores) | | | |
| Variáveis Categóricas | | Nº de Positivo (%) | Valor de p |
| Comunidade | Marechal Rondon | 2/20 (10) | 0,15 |
| | Alto do Cabrito | 0/35 (0) | |
| | Nova Constituinte | 2/35 (6) | |

| | | | |
|---------|--------------|-----------|-------|
| | Rio Sena | 2/18 (11) | |
| Feridas | Não Presente | 0/9 (0) | 1 |
| | Presente | 6/93 (6) | |
| Sexo | Fêmea | 6/55 (10) | 0,035 |
| | Macho | 0/47 (0) | |

Tabela 5. Cálculo de significância da relação entre a variável de desfecho (reatividade sorológica ao LCMV para os humanos e reatividade sorológica e positividade de RT-Nested PCR para os roedores), com as variáveis numéricas sociodemográficas de voluntários das localidades e da variável numérica idade em dias de roedores *R. norvegicus* capturados na área. Cálculo realizado por Teste de Mann-Withney. ($p < 0,05$).

| Teste de Mann-Withney (Humanos) | | | | | |
|---|---------------------------|---------------------------|----------------------------|----------------------------|-------------------|
| Variáveis Quantitativas | População Negativa | População Positiva | Média negativa (SD) | Média Positiva (SD) | Valor de p |
| Idade | 638 | 13 | 33,14 (18,29) | 46,38 (15,75) | 0,0085 |
| Renda Média | 473 | 13 | 890,45 (664,07) | 1051,81 (884,99) | 0,875 |
| Tempo de Estudo | 638 | 13 | 7,65 (3,79) | 6,46 (4,43) | 0,3277 |
| Teste de Mann-Withney (Roedores) | | | | | |
| Variáveis Quantitativas | População Negativa | População Positiva | Média negativa (SD) | Média Positiva (SD) | Valor de p |
| Idade em dias | 97 | 6 | 74,94 (25,3) | 78,14 (25,91) | 0,789 |

6. DISCUSSÃO

Nosso conhecimento acerca das infecções causadas pelo vírus da coriomeningite linfocítica (LCMV) ainda é praticamente inexistente no país. Nosso grupo tem avançado nos estudos epidemiológicos, através da identificação de reservatórios roedores no estado do Rio de Janeiro e na vigilância ativa deste agente zoonótico^{50,67}, no âmbito do laboratório de referência alocado no Laboratório de Hantavirose e Rickettsioses do Instituto Oswaldo Cruz, Fiocruz. Considerando que o presente estudo é a primeira investigação do LCMV na Bahia, os resultados obtidos vêm ao encontro da hipótese, demonstrando que este vírus circula em comunidades social e economicamente desfavorecidas na cidade de Salvador.

Em relação ao cenário do LCMV no mundo, este estudo está em concordância com os achados na literatura referente aos inquéritos em humanos e roedores, nos quais observamos em geral uma baixa prevalência assim como a não correlação entre a sororeatividade observada na população humana com a história pregressa da existência de qualquer manifestação clínica compatível com a infecção pelo LCMV, segundo os dados secundários obtidos durante entrevista.

A soroprevalência em roedores de 4,2% ou 4,9%, esta última considerando o índice de positividade encontrado no teste ELISA e RT-Nested PCR em conjunto, vai ao encontro dos estudos realizados na Itália, Reino Unido e Japão que indicaram, respectivamente, uma prevalência de 5,6%, 5,7% e 7%^{51,56,58}. Todavia, o resultado obtido no presente trabalho difere do encontrado em outros estudos no Brasil, Argentina e Colômbia, em que a prevalência foi mais alta, correspondendo, respectivamente, a 20%, 13% e 10% do total analisado^{50,57,66}.

Considerando que o LCMV pode ser encontrado em outras espécies de roedores, além de seu reservatório natural, *M. musculus*, e diante de uma maior abundância de roedores do gênero *Rattus* em comunidades urbanas desfavorecidas, a investigação na cidade de Salvador foi realizada em populações de ratos da espécie *R. norvegicus*. Até o momento, dois estudos apontaram a circulação de LCMV em roedores desta espécie, um conduzido no Reino Unido, onde foi observada uma soroprevalência de 2,7% (2/72)⁵⁸, e o outro realizado no Rio de Janeiro pelo nosso grupo, cujos resultados indicaram uma soroprevalência semelhante de 2,1% (2/95) nesta mesma espécie, com a prevalência de ratazanas positivas em Salvador, no entanto, maior se comparada a estes dois estudos. Esses dados reforçam a necessidade de investigação nesta espécie de roedor, principal responsável pela alta

infestação de ratos em comunidades que vivem em condições sociais precárias e sob o crescimento demográfico e urbanístico contínuo e desestruturado.

Outros estudos, como o realizado na Itália em 2009, demonstraram a presença de LCMV em diferentes espécies de roedores, neste caso da espécie, *Apodemus flavicollis*, no qual foi possível correlacionar positivamente a densidade de roedores com a prevalência sorológica para LCMV ¹⁰¹, demonstrando a plasticidade de hospedeiros deste agente zoonótico e sua relação com diferentes espécies de roedores silvestres e sinantrópicos.

De acordo com os dados aqui apresentados, dentre os animais sororreativos para LCMV, todos eram fêmeas sinalizando para uma significativa associação entre sexo e a presença de anticorpos anti-LCMV. A presença de feridas foi observada em todas essas fêmeas sororreativas, três estavam grávidas e uma lactante, como também na maioria dos indivíduos estudados, independente do sexo ou idade. Apenas 12 animais não tinham feridas e cicatrizes e todos foram soronegativos. O achado de feridas nos roedores é um sinal importante, utilizadas como indicador das interações agonísticas e já demonstrou ter relação direta com a transmissão do vírus Seoul, vírus do gênero *Orthohantavirus* que apresenta características similares de transmissão com o LCMV ¹⁰². De fato, em um estudo realizado em roedores da mesma espécie, capturados em Salvador e em uma comunidade vizinha as áreas do presente estudo foi possível verificar esta correlação entre sororreatividade com a presença de feridas ¹⁰².

Nesta mesma localidade, foi realizado um trabalho sobre a dinâmica populacional de roedores *R. norvegicus* indicando a relação das feridas encontradas nas fêmeas com a idade e a atividade sexual, que pode ser observada durante todo o ano, nas estações seca e chuvosa, constatada pelo alto número de fêmeas grávidas nos dois períodos ¹⁰³. A atividade reprodutiva destes roedores, durante o ano todo, em países de clima tropical e em comunidades urbanas, onde há oferta abundante de alimento e água, pode levar a uma maior competição por cópula e nidificação se comparada à competição por recursos. Neste sentido, registram-se as seguintes observações; i) que a transmissão horizontal do LCMV entre roedores depende da taxa de contato intraespecífica, seja por meio das excretas ou secreções salivares, que ocorre durante embates ou contato sexual ⁴⁸ e ii) que as fêmeas no período lactante apresentam um comportamento agressivo durante a nidificação ¹⁰⁴, fatos que poderiam explicar a ocorrência de feridas em todas as fêmeas lactantes e a maior

soroprevalência encontrada nas fêmeas em atividade reprodutiva observadas no presente estudo.

Além da maturidade sexual, que, como comentado promove mudanças nos comportamentos sociais aumentando as taxas de contato entre os roedores, o *status* de infecção também pode estar associado à idade, uma vez que a longevidade aumenta a probabilidade cumulativa de exposição ao vírus, no entanto neste estudo, como observado para os machos desta espécie, a população foi constituída na sua maioria por adultos, todos soronegativos para LCMV.

Neste estudo foi possível também detectar e identificar um fragmento parcial do genoma do LCMV em uma fêmea de roedor adulta. A presença do RNA e a ausência de anticorpos IgG anti-LCMV neste espécime poderia estar relacionada a uma primeira e recente infecção, indicando uma transmissão horizontal. Entretanto, é preciso ratificar que roedores verticalmente infectados, a depender da cepa, podem suprimir a expressão de anticorpos anti-LCMV ¹⁸, impossibilitando a identificação da possível rota de infecção. Neste sentido, são necessários mais estudos de monitoramento a longo prazo para a compreender a dinâmica de transmissão do LCMV nos roedores nessas localidades.

Este estudo trata-se da primeira caracterização molecular do vírus em roedores da espécie *R. norvegicus*, reforçando a evidência de circulação do LCMV na cidade de Salvador e apontando para a necessidade de uma vigilância sustentada na região. Ao compararmos a sequência obtida com as sequências depositadas no *Genbank*, foi possível demonstrar uma similaridade nucleotídica de 85,71% com uma amostra de Michigan, Estados Unidos, oriunda do baço de um roedor capturado em área residencial. De acordo com a árvore filogenética obtida, foi identificada uma proximidade da sequência obtida no presente estudo com cepas caracterizadas nos EUA, procedentes de amostras de rim de hamsters, durante um estudo de um caso associado a transplante de órgãos ³⁵. Novas análises de amostras coletadas nesta região de Salvador seriam importantes para confirmar as relações filogenéticas do LCMV identificado no presente estudo.

Embora a baixa prevalência de LCMV esteja em consonância com os estudos disponíveis na literatura, em especial nestas espécies de roedores analisadas, cabe ressaltar que as amostras obtidas para esta investigação, que teve como objetivo original a pesquisa de *Leptospira* spp., estavam acondicionadas em congeladores a -20°C, o que pode ter interferido na recuperação do RNA viral. A importância da preservação de tecidos a -70°C é recomendada para estudos de detecção de RNA

¹⁰⁵, podendo ser considerada, assim, uma limitação no presente estudo, o que reforça a importância de realizar novas coletas de roedores na região considerando os resultados aqui obtidos e a necessidade de ampliar os estudos virológicos e evolutivos do LCMV.

Em relação à prevalência de 1,9% encontrada na população humana, essa também se encontra semelhante a outros estudos, como na Itália, de 2,5%; na Espanha, de 1,2% e no Vietnã, de 0,8% ^{56,59,64}, considerando, no entanto, o pioneirismo do presente estudo sob o ponto de vista do perfil da população estudada. A mesma comparação se mantém em relação aos países vizinhos na América do Sul, como na Argentina onde se observou prevalências de 2,3% e 3,3% ou até mesmo nos dados obtidos no Brasil com prevalência em mastozoólogos bioteristas de 2% ^{55,57,67}.

Não obstante, a presença da população humana e de roedores sororreativos nestas localidades assim como a proximidade e compartilhamento de espaços entre os roedores e humanos LCMV-positivos, como pode ser observada na figura de distribuição espacial do estudo, reforçam a presença de uma cadeia de transmissão local. O avistamento de roedores nos arredores das residências, por parte de 53% dos voluntários, indica o contato próximo com estes animais, reforçando a ocorrência de possíveis infecções humanas. O ambiente no entorno das casas supostamente poderia explicar essa presença constante de roedores, visto o relato de 353 pessoas (54%) que indicaram haver a presença de esgoto a céu aberto ou áreas de depósito de matérias/ lixões na proximidade de suas residências. A falta de pavimentação ao entorno das casas (66,5%) e nos quintais das residências (48,7%), indicando a presença de mato ou barro, poderia facilitar o abrigo dos animais.

O comportamento humano também pode estar influenciando, considerando que 25% dos indivíduos relataram depositar o lixo na frente de suas residências, com 21% indicando o uso só de sacolas plásticas, com relato de acúmulo do lixo em 24% das residências, situações que propiciam uma oferta abundante de alimentos para os roedores dessa espécie ⁵. Outro fator importante relacionado à exposição a roedores, foi a disposição da comida de forma desprotegida reportada por 16% dos indivíduos, o que pode atrair os roedores para o interior das residências. Todos estes fatores foram também observados no estudo realizado na comunidade Pau de Lima, em Salvador, demonstrando a sua correlação com a infestação de roedores nas residências, em sua maioria relacionada aos roedores da espécie *R. norvegicus* ⁹⁰.

Ainda em relação aos roedores, um trabalho realizado no município de Campo Limpo, São Paulo, também indicou a presença da associação direta entre a

disponibilidade de locais para abrigo, como a disposição de resíduos e depósitos, e a infestação por roedores ⁶. Fatores socioeconômicos e estruturais também foram relacionados à infestação por roedores na cidade de São Paulo⁷, o que conseqüentemente aumenta a exposição humana a esses animais e o risco de infecção por agentes zoonóticos transmitidos por roedores.

Baseando-se na literatura supõe-se que a presença dos roedores no ambiente residencial eleva a taxa de contato com o homem, aumentando o risco da transmissão. Em trabalho realizado na cidade de Huludao, na China, foi possível relacionar a densidade populacional dos roedores com o aumento do número de casos de febre hemorrágica com síndrome renal por *Seoul orthohantavirus* no local ¹⁰⁶, um agente viral cuja eco-epidemiologia é semelhante ao LCMV.

Neste cenário, é possível especular que a situação de vulnerabilidade dessa população que vive em condições precárias de moradia, com renda média de 561 reais, somado às condições supracitadas e à baixa instrução – representada com uma porcentagem de só 15% de pessoas que haviam concluído o ensino médio, número ainda menor se levado em consideração o ensino superior, 2,3% – facilitaria a aglomeração de roedores nestas localidades, aumentando conseqüentemente o contato entre roedores e humanos e desta forma, o risco de transmissão desses agentes zoonóticos.

Neste estudo foi possível observar outro aspecto que potencializa a vulnerabilidade social deste grupo populacional – o abandono pelo Estado - que pode acabar atuando como um elemento facilitador para a transmissão de agentes infecciosos pelos roedores, considerando a situação excludente vivida por essas pessoas, na qual 180 (27%) relataram nunca terem recebido a visita de profissionais do centro de controle de zoonoses e 267 (41%) a visita de um agente comunitário de saúde. Mesmo que não demonstrado estatisticamente por este trabalho. Nestas áreas onde a ação do governo é precária, fica evidente a necessidade de reforçar a vigilância em saúde nestas populações, principalmente em relação às doenças associadas aos roedores diante da alta infestação e presença na maioria dos domicílios assim como a evidência de animais infectados pelo LCMV.

O cenário observado conecta-se ao conceito debatido por Ellwanger e colaboradores (2022) ¹⁰⁷, sobre o paradoxo da ecologia de doenças urbanas, em que a urbanização leva a um ambiente de interações complexas entre humanos-animais-doenças, afetando as relações tanto positivas quanto negativamente. Entende-se que a urbanização pode representar um acesso facilitado a serviços de saúde e a criação

de ambientes que reduzam o surgimento de doenças, entretanto este mesmo processo gera uma alta densidade populacional, com uma maior aproximação com vetores e criação de ambientes propícios para estes, a partir dos resíduos humanos¹⁰⁷.

As comunidades estudadas refletem os aspectos negativos da urbanização, no contexto do paradoxo, sem a compensação do lado positivo, pois como visto existe um acesso deficitário à infraestrutura de saúde, representada pelos baixos índices de ação dos agentes comunitários de saúde e do centro de controle de zoonoses na região. Ainda em relação ao trabalho de Ellwanger e colaboradores (2022)¹⁰⁷ a necessidade de uma visão holística multidisciplinar de saúde única é colocada, como solução para o paradoxo, com a discussão de estratégias que melhor compensem a razão de benefícios/prejuízos¹⁰⁷. Aqui reforça-se a necessidade do entendimento de que o ambiente gerado pela urbanização, principalmente nos núcleos urbanos não planejados e deficitários, impacta diretamente na saúde do indivíduo e na saúde pública local. No caso das comunidades estudadas, uma visão de saúde única, infraestrutura-homem-vetor-doença, é necessária para equilibrar esta balança de fatores negativos e positivos. O estabelecimento de uma vigilância eficaz e estratégica para redução do adoecimento da população depende inevitavelmente do conhecimento acerca destes três elementos doença, vetores e o homem em escala local.

Apesar da relação significativa encontrada entre o bairro de residência e a sororeatividade por LCMV, todas as comunidades apresentam condições demográficas, de saneamento e de moradia parecidas. No bairro onde todos os voluntários foram soronegativos para LCMV, foi observada a presença de roedores reativos, em uma menor soroprevalência, fato que poderia explicar a falta de pessoas reativas no local. Quanto à idade, visto que todos os voluntários reativos têm pelo menos 19 anos ou mais, o maior risco associado pode estar relacionado com o maior tempo de exposição. Apesar de não ser possível determinar a causa exata, é possível especular que, além do tempo de vida, a realização de atividades domésticas como limpeza e retirada do lixo ou até a retirada dos roedores de suas residências podem indicar um maior contato da população voluntária nas faixas etárias maiores com os roedores. Entretanto a questão da baixa prevalência encontrada não pode ser excluída, indicando uma possível aleatoriedade quanto aos indivíduos sororreativos.

Em consonância com os resultados obtidos na presente pesquisa, considerando a similaridade das condições das quatro comunidades, um estudo

realizado no interior da Argentina ao longo de 6 anos, também concluiu sobre uma aleatoriedade da distribuição de pessoas sororreativas, nos centros urbanos. Neste mesmo estudo todas as pessoas com anticorpos para LCMV também se encontravam acima da idade de 19 anos ⁵⁷.

Ainda em relação à faixa etária, embora em um trabalho, realizado na Croácia em 2006, os autores não tenham observado uma diferença significativa na idade, em 2021, um outro estudo no mesmo país demonstrou uma prevalência maior no grupo de idade de 41-50 anos ^{69,108}, reforçando que a possibilidade da aleatoriedade novamente precisa ser considerada.

Diante da possibilidade de casos graves associadas ao LCMV, principalmente em indivíduos imunodeprimidos e grávidas, cabe reforçar a necessidade de uma maior atenção para estes grupos de risco. Neste sentido, a evidência de infecção por LCMV em uma população humana reforça a necessidade do diagnóstico diferencial com quadro infeccioso em pacientes imunodeprimidos submetidos a transplante e com doenças congênitas, como à do grupo das TORCHs, incluindo Zika, devido à inespecificidade dos sinais e sintomas iniciais e à semelhança com estas infecções teratogênicas ⁷².

Por fim, a partir dos resultados encontrados em humanos e roedores, além de ratificarem a necessidade de novas investigações sobre a incidência do LCMV no país e os fatores de risco associados com a infecção humana, trazem um alerta sobre a existência desta zoonose que pode estar relacionada a casos de doenças febris agudas com acometimento neurológico, como meningites e casos de óbitos sem etiologia definida assim como doenças congênitas de origem infecciosa. Desta forma, a compreensão da dinâmica das interações entre o ser humano, roedores e patógenos é fundamental para que se estabeleçam as bases para um sistema de vigilância desta zoonose, incluindo a busca ativa de casos com a sensibilização da população e dos profissionais de saúde.

7. PERSPECTIVAS

- Realizar novas investigações em roedores nesta região de Salvador considerando os resultados aqui obtidos e a necessidade de ampliar os estudos virológicos e evolutivos do LCMV.
- Realização de estudos de monitoramento a longo prazo para compreender a dinâmica de transmissão do LCMV nos roedores.
- Expandir o estudo com a finalidade de abranger outras espécies de roedores sinantrópicos, em especial o principal reservatório do LCMV o roedor *Mus musculus*.
- Realizar a vigilância ativa de casos suspeitos de infecção do vírus LCM no contexto do diagnóstico diferencial com doenças febris agudas com acometimento neurológico, como meningites e casos de óbitos sem etiologia definida assim como doenças congênitas de origem infecciosa e pacientes receptores de transplante.
- Realizar inquéritos sorológicos em outros estados do Brasil para ampliar o conhecimento sobre a circulação do vírus no país.
- Divulgar os resultados obtidos através de notas técnicas a vigilância local e por meio de folder para o público geral.

8. CONCLUSÕES

- A presença de anticorpos IgG anti-LCMV na população humana sugere a ocorrência de infecções prévias, subclínicas ou assintomáticas, por LCMV nesta comunidade.

- A baixa soroprevalência de LCMV na população humana voluntária testada, está em concordância com a maioria dos trabalhos conduzidos em outros países, devendo, no entanto, considerar os diferentes desenhos de estudo e perfis populacionais.

- A baixa soroprevalência de LCMV na população de roedores analisados da espécie *R. norvegicus* infectados naturalmente, é semelhante às prevalências identificadas nos poucos estudos existentes no mundo.

- A detecção do genoma viral do LCMV em um roedor da espécie *R. norvegicus*, capturado no bairro Marechal Rondon em 2018, confirma a presença do vírus na região, reforçando a participação de outros roedores que não o seu reservatório natural, *M. musculus*.

- Nas comunidades estudadas as variáveis idade e comunidade se mostraram significantes quanto a reatividade de IgG para LCMV. Em relação aos roedores, a variável sexo se mostrou significativa quanto a reatividade de IgG para LCMV e presença de RNA.

- Comprovou-se a circulação do LCMV nas populações humanas e de roedores nas comunidades estudadas.

9 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. United Nations, Department of Economic and Social Affairs, Population Division. World Urbanization Prospects: The 2018 Revision. New York: United Nations Publications; [Internet] 2019 [cited 2021 Sep 24]. 125 pp. Available from: <https://population.un.org/wup/Publications/Files/WUP2018-Report.pdf>
2. United Nations Human Settlements Programme. The Challenge of Slums Global Report on Human Settlements 2003. 1nd ed. London: Earthscan Publications Ltd; [Internet] 2003 [cited 2021 Se 14]. 344 pp. Available from: <https://unhabitat.org/the-challenge-of-slums-global-report-on-human-settlements-2003>
3. IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Atlas do Censo Demográfico 2010. Rio de Janeiro: IBGE; [Internet] 2013 [cited 2021 Sep 24]. 156 pp. Available from: <https://censo2010.ibge.gov.br/>
4. Dahmana H, Granjon L, Diagne C, Davoust B, Fenollar F, Mediannikov O. Rodents as hosts of pathogens and related zoonotic disease risk. Pathogens. [Internet] 2020 [cited 2021 Sep 24]; 9(3): 202. Available from: https://www.researchgate.net/publication/339817379_Rodents_as_Hosts_of_Pathogens_and_Related_Zoonotic_Disease_Risk
5. SCHEIN MW, ORGAIN H. A preliminary analysis of garbage as food for the Norway rat. Am J Trop Med Hyg. 1953; 2(6): 1117–30.
6. De Masi E, Vilaça P, Razzolini MTP. Environmental conditions and rodent infestation in Campo Limpo district, São Paulo municipality, Brazil. Int J Environ Health Res. [Internet] 2009 [cited 2021 Sep 24]; 19(1): 474–83. Available from: <https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/09603120802126670?journalCode=cije20>
7. Masi E, Pino FA, Santos M das GS, Genehr L, Albuquerque JOM, Bancher AM, et al. Socioeconomic and environmental risk factors for urban rodent infestation in Sao Paulo, Brazil. J Pest Sci (2004). [Internet] 2010 [cited 2021 Sep 24]; 83:231–241. Available from: <https://link.springer.com/article/10.1007/s10340-010-0290-9>
8. Bonvicino CR. Oliveira JA. D’Andrea PS. Guia dos Roedores do Brasil, com chaves para gêneros baseadas em caracteres externos. Rio de Janeiro: Centro Pan-Americano de Febre Aftosa – OPAS/OMS. [Internet] 2008 [cited 2021 Sep 24]. 120 pp. Available from: <http://www.fiocruz.br/ioc/media/livro%20roedores.pdf>
9. Beeman EA. Charles Armstrong, M.D.: A Biography; 2007. 327pp.
10. Armstrong C, Lilie RD. 2m-Armstrong C, Lilie RD. Experimental Lymphocytic Choriomeningitis of Monkeys and Mice Produced by a Virus Encountered in Studies of the 1933 St. Louis Encephalitis Epidemic. Public Health Reports [internet]. 1934 [cited 2022 Aug 10]; 49 (35). Available from: <https://www.jstor.org/stable/4581290>
11. 18j- Muckenfuss RS, Armstrong C, Webster LT. ETIOLOGY OF THE 1933 EPIDEMIC OF ENCEPHALITIS. JAMA [internet]. 1934 [cited 2022 Aug 10]; 103(10): 731-733. Available from: <https://jamanetwork.com/journals/jama/article-abstract/253246>
12. Luby JP. ST. LOUIS ENCEPHALITIS. Epidemiologic Reviews [internet]. 1979 [cited 2022 Aug 10]; 1(1): 55-73. Available from:

- <https://academic.oup.com/epirev/article-abstract/1/1/55/411438?redirectedFrom=fulltext&login=false>
13. Emonet SF, de la Torre JC, Domingo E, Sevilla N. Arenavirus genetic diversity and its biological implications. *Infect Genet Evol* [internet]. 2009 [cited 2022 Aug 10]; 9(4): 417-29. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7106275/>
 14. Traub E. A FILTERABLE VIRUS RECOVERED FROM WHITE MICE. *Science* [internet]. 1935 [cited 2022 Aug 10]; 81(2099): 298-9. Available from: https://www.science.org/doi/10.1126/science.81.2099.298?url_ver=Z39.88-2003&rfr_id=ori:rid:crossref.org&rfr_dat=cr_pub%20%20pubmed
 15. Traub E. AN EPIDEMIC IN A MOUSE COLONY DUE TO THE VIRUS OF ACUTE LYMPHOCYTIC CHORIOMENINGITIS. *J Exp Med* [internet]. 1936 [cited 2022 Aug 10]; 63(4): 533-46. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2133355/>
 16. Rivers TM, Scott TFM. Meningitis In Man Caused By A Filterable Virus. *Science* [Internet]. 1935 [cited 2021 sep 24]. 81(2105): 439-440. Available from: <https://www.science.org/doi/pdf/10.1126/science.81.2105.439-b>
 17. Armstrong C, Wooley. Studies on the Origin of a Newly Discovered Virus Which Causes Lymphocytic Choriomeningitis in Experimental Animals. *Public Health Reports* [internet]. 1935 [cited 2022 Aug 10]; 50(16): 537-541. Available from: <https://www.jstor.org/stable/4581519>
 18. Zhou X, Ramachandran S, Mann M, Popkin DL. Role of lymphocytic choriomeningitis virus (LCMV) in understanding viral immunology: past, present and future. *Viruses* [internet]. 2012 [cited 2022 Aug 10]; 4(11): 2650-69. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23202498/#:~:text=Abstract,the%20development%20of%20modern%20immunology.>
 19. Murphy FA, Webb PA, Johnson KM, Whitfield SG. Morphological comparison of Machupo with lymphocytic choriomeningitis virus: basis for a new taxonomic group. *J Virol* [internet]. 1969 [cited 2022 Aug 10]; 4(4): 535-41. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC375904/>
 20. Rowe WP, Murphy FA, Bergold GH, Casals J, Hotchin J, Johnson KM, Lehmann-Grube F, Mims CA, Traub E, Webb PA. Arenoviruses: proposed name for a newly defined virus group. *J Virol* [internet]. 1970 [cited 2022 Aug 10]; 5(5): 651-2. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC376052/#:~:text=The%20name%20%E2%80%9Carenoviruses%E2%80%9D%20is%20proposed,and%20the%20Tacaribe%20complex%20viruses.>
 21. Dalton AJ, Rowe WP, Smith GH, Wilsnack RE, Pugh WE. Morphological and cytochemical studies on lymphocytic choriomeningitis virus. *J Virol* [internet]. 1968 [cited Aug 2022]; 2(12): 1465-78. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC375491/>
 22. Radoshitzky SR, *et al.* Past, present, and future of arenavirus taxonomy. *Arch Virol* [internet]. 2015 [cited 2022 Aug 10]; 160(7): 1851-74. Available from: <https://link.springer.com/article/10.1007/s00705-015-2418-y>
 23. Charrel RN, de Lamballerie X, Emonet S. Phylogeny of the genus Arenavirus. *Curr Opin Microbiol* [internet]. 2008 [cited 2022 Aug 10]; 11(4): 362-8. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18602020/>

24. ICTV.global [homepage on the Internet]. US: International Committee on Taxonomy of Viruses [cited 2022 Aug 11]. Available from: <https://ictv.global/report/chapter/arenaviridae/arenaviridae/mammarenavirus>
25. Hetzel U, *et al*. Isolation, identification, and characterization of novel arenaviruses, the etiological agents of bovine inclusion body disease. *J Virol* [internet]. 2013 [cited 2022 Aug 10]; 87(20): 10918-35. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23926354/>
26. Hallam SJ, Koma T, Maruyama J, Paessler S. Review of *Mammarenavirus* Biology and Replication. *Front Microbiol* [internet]. 2018 [cited 2022 Aug 10]; 9:1751. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6085440/>
27. Lee KJ, *et al*. NP and L proteins of lymphocytic choriomeningitis virus (LCMV) are sufficient for efficient transcription and replication of LCMV genomic RNA analogs. *J Virol* [internet]. 2000 [cited 2022 Aug 10]; 74(8): 3470-7. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC111854/>
28. Buchmeier MJ, Bowen MD, Peters CJ. Arenaviridae: The Viruses and Their Replication. *In: Fields BN, et al, Virology*. 2001. 1334-62.
29. Borrow P, Oldstone MB. Mechanism of lymphocytic choriomeningitis virus entry into cells. *Virology* [internet]. 1994 [cited 2022 Aug 10]; 198(1): 1-9. Available from: [https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0042-6822\(84\)71001-4](https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0042-6822(84)71001-4)
30. Lenz O, *et al*. The Lassa virus glycoprotein precursor GP-C is proteolytically processed by subtilase SKI-1/S1P. *Proc Natl Acad Sci U S A* [internet]. 2001 [cited 2022 Aug 10]; 98(22): 12701-5. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC60117/>
31. Meyer BJ, de la Torre JC, Southern PJ. Arenaviruses: genomic RNAs, transcription, and replication. *Curr Top Microbiol Immunol* [internet]. 2002 [cited 2022 Aug 10]; 262:139-57. Available from: https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-3-642-56029-3_6
32. Eichler R, Lenz O, Strecker T, Garten W. Signal peptide of Lassa virus glycoprotein GP-C exhibits an unusual length. *FEBS Lett* [internet]. 2003 [cited 2022 Aug 10]; 538(1-3): 203-6. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12633879/>
33. Kranzusch PJ, Whelan SP. Arenavirus Z protein controls viral RNA synthesis by locking a polymerase-promoter complex. *Proc Natl Acad Sci U S A* [internet]. 2011 [cited 2022 Aug 10]; 108(49): 19743-8. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3241799/>
34. Ziegler CM, *et al*. The Lymphocytic Choriomeningitis Virus Matrix Protein PPXY Late Domain Drives the Production of Defective Interfering Particles. *PLoS Pathog* [internet]. 2016 [cited 2022 Aug 10]; 12(3). Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4806877/>
35. Albariño CG, *et al*. High diversity and ancient common ancestry of lymphocytic choriomeningitis virus. *Emerg Infect Dis* [internet]. 2010 [cited 2022 Aug 10]; 16(7): 1093-100. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3321910/>
36. Zhang L, *et al*. Isolation and genomic characterization of lymphocytic choriomeningitis virus in ticks from northeastern China. *Transbound Emerg Dis* [internet]. 2018 [cited 2022 Aug 10]; 65(6): 1733-1739. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/tbed.12946>
37. Tishon A, Salmi A, Ahmed R, Oldstone MB. Role of viral strains and host genes in determining levels of immune complexes in a model system: implications for HIV infection. *AIDS Res Hum Retroviruses* [internet]. 1991 [cited 2022 Aug 10]; 7(12): 963-9. Available from:

- https://www.liebertpub.com/doi/10.1089/aid.1991.7.963?url_ver=Z39.88-2003&rfr_id=ori%3Arid%3Acrossref.org&rfr_dat=cr_pub++0pubmed
38. Ahmed R, *et al*. Selection of genetic variants of lymphocytic choriomeningitis virus in spleens of persistently infected mice. Role in suppression of cytotoxic T lymphocyte response and viral persistence. *J Exp Med* [internet]. 1984 [cited 2022 Aug 10]; 160(2): 521-40. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/6332167/>
 39. Matloubian M, Kolhekar SR, Somasundaram T, Ahmed R. Molecular determinants of macrophage tropism and viral persistence: importance of single amino acid changes in the polymerase and glycoprotein of lymphocytic choriomeningitis virus. *J Virol* [internet]. 1993 [cited 2022 Aug 10]; 67(12): 7340-9. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC238198/>
 40. Bonthius DJ. Lymphocytic Choriomeningitis Virus: An Underrecognized Cause of Neurologic Disease in the Fetus, Child, and Adult. *Seminars in Pediatric Neurology* [Internet]. 2012 [cited 2021 Sep 24]. 19(3): 89-95. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1071909112000034?via%3Dihub>
 41. Wilson MR, Peters CJ. Diseases of the central nervous system caused by lymphocytic choriomeningitis virus and other arenaviruses. *Handb Clin Neurol* [internet]. 2014 [cited 2022 Aug 10]; 123: 671-81. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25015511/>
 42. Rousseau MC. *Et al*. Lymphocytic choriomeningitis virus in southern France: four case reports and a review of the literature. *Eur J Epidemiol.* [Internet]. 1997 [cited 2021 Sep 24]. 13(7): 817-823. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/9384272/>
 43. Dykewicz CA. *Et al*. Lymphocytic Choriomeningitis Outbreak Associated With Nude Mice in a Research Institute. *JAMA* [Internet]. 1992 [cited 2021 Sep 24]. 267(10): 1349-1353. Available from: <https://jamanetwork.com/journals/jama/article-abstract/395667>
 44. Emonet S. *et al*. Mouse-to-Human Transmission of Variant Lymphocytic Choriomeningitis Virus. *Emerging Infectious Diseases* [Internet]. 2007 [cited 2021 Sep 24]. 13(3): 472-475. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2725903/>
 45. Macneil A, *et al*. LCMV Transplant Investigation Team. Solid organ transplant-associated lymphocytic choriomeningitis, United States, 2011. *Emerg Infect Dis* [internet]. 2012 [cited 2022 Aug 10]; 18(8): 1256-62. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3414043/>
 46. Traub E. THE EPIDEMIOLOGY OF LYMPHOCYTIC CHORIOMENINGITIS IN WHITE MICE. *J Exp Med* [internet]. 1936 [cited 2022]; 64(2): 183-200. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2180315/>
 47. Mims CA. Effect on the fetus of maternal infection with lymphocytic choriomeningitis (LCM) virus. *J Infect Dis* [internet]. 1969 [cited 2022 Aug 10]; 120(5): 582-97. Available from: <https://academic.oup.com/jid/article-abstract/120/5/582/917934?redirectedFrom=fulltext&login=false>
 48. Haas VH. Studies on the Natural History of the Virus of Lymphocytic Choriomeningitis in Mice. *Public Health Reports* [internet]. 1941 [cited 2022 Aug 10]; 56(7): 285-292. Available from: <https://www.jstor.org/stable/4583618>
 49. Hirsch MS. *Et al*. Lymphocytic-Choriomeningitis-Virus Infection Traced To a Pet Hamster. *The New England Journal of Medicine* [Internet]. 1974 [cited 2021 Sep

- 24]. 291: 610-612. Available from: <https://www.nejm.org/doi/full/10.1056/NEJM197409192911206>
50. Cavalcanti GR. Oliveira RC. Diagnóstico Do Vírus Da Coriomeningite Linfocítica (Mammarenavirus) Em Amostras De Roedores [monograph]. Rio de Janeiro: Universidade Santa Úrsula; 2019 [cited 2021 Sep 24].
 51. Morita C. *et al.* Seroepidemiological Survey of Lymphocytic Choriomeningitis Virus in Wild House Mouse (*Mus Musculus*) in Yokohama Port, Japan. The Journal of Veterinary Medical Science [Internet]. 1991 [cited 2021 Sep 24]. 53(2): 219-222. Available from: <https://europepmc.org/article/MED/1830792>
 52. Asper M. *et al.* First Outbreak of Callitrichid Hepatitis in Germany: Genetic Characterization of the Causative Lymphocytic Choriomeningitis Virus Strains. Virology [Internet]. 2001 [cited 2021 Sep 24]. 284: 203-213. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0042682201909092?via%3Dihub>
 53. Lehmann-Grube F. Portraits of Viruses: Arenaviruses. Intervirology [Internet]. 1984 [cited 2021 Sep 24]. 22: 121-145. Available from: <https://www.karger.com/Article/Abstract/149543>
 54. el Karamany RM. Inam IZ. Antibodies to lymphocytic choriomeningitis virus in wild rodent sera in Egypt. J Hyg Epidemiol Microbiol Immunol [Internet]. 1991 [cited 2021 Sep 24]. 35(1): 97-103. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/1880412/>
 55. Ambrosio AM. *Et al.* Prevalence of lymphocytic choriomeningitis virus infection in a human population of Argentina. Am J Trop Med Hyg [Internet]. 1994 [cited 2021 Sep 24]. 50(3): 381-386. Available from: <https://www.ajtmh.org/view/journals/tpmd/50/3/article-p381.xml>
 56. Kallio-Kokko H. *et al.* Hantavirus and arenavirus antibody prevalence in rodents and humans in Trentino, Northern Italy. Epidemiology & Infection [Internet]. 2005 [cited 2021 Sep 24]. 134: 830-836. Available from: <https://www.cambridge.org/core/journals/epidemiology-and-infection/article/hantavirus-and-arenavirus-antibody-prevalence-in-rodents-and-humans-in-trentino-northern-italy/0E9B97C94CA8371273B8C15AA0BA0A51>
 57. Riera L. *et al.* Serological Study of the Lymphochoriomeningitis Virus (LCMV) in an Inner City of Argentina. Journal of Medical Virology [Internet]. 2005 [cited 2021 Sep 24]. 76: 285-289. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/jmv.20357>
 58. Blasdell KR. *Et al.* Host Range and Genetic Diversity of Arenaviruses in Rodents, United Kingdom. Emerging Infectious Diseases [Internet]. 2008 [cited 2021 Sep 24]. 14(9): 1455-1458. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2603089/>
 59. Pérez-Ruiz M. *et al.* Lymphocytic Choriomeningitis Virus–associated Meningitis, Southern Spain. Emerging Infectious Diseases [Internet]. 2012 [cited 2021 Sep 24]. 18(5): 855-858. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3358079/>
 60. Centers for Disease Control and Prevention. Notes from the field: lymphocytic choriomeningitis virus infections in employees of a rodent breeding facility--Indiana, May-June 2012. *In*: MMWR. Morbidity and mortality weekly report [Internet]. 2012 [cited 2021 Sep 24]. 61(32): 622. Available from: <https://www.cdc.gov/mmwr/preview/mmwrhtml/mm6132a5.htm>
 61. Knust B. *et al.* Lymphocytic Choriomeningitis Virus in Employees and Mice at Multipremises Feeder-Rodent Operation, United States, 2012. Emerging

- Infectious Diseases [Internet]. 2014 [cited 2021 Sep 24]. 20(2): 240-247. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3901486/>
62. N'Dilimabaka N. *et al.* Evidence of Lymphocytic Choriomeningitis Virus (LCMV) in Domestic Mice in Gabon: Risk of Emergence of LCMV Encephalitis in Central Africa. *Journal of Virology* [Internet]. 2015 [cited 2021 Sep 24]. 89(2): 1456-1460. Available from: <https://journals.asm.org/doi/full/10.1128/JVI.01009-14>
 63. Manjunath S. *et al.* Sero-Prevalence of Rodent Pathogens in India. *PloS One* [Internet]. 2015 [cited 2021 Sep 24]. 10(7): e0131706. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4497729/>
 64. Van Cuong N. *et al.* Rodents and Risk in the Mekong Delta of Vietnam: Seroprevalence of Selected Zoonotic Viruses in Rodents and Humans. *Vector-Borne and Zoonotic Diseases* [Internet]. 2021 [cited 2021 Sep 24]. 15(1): 65-72. Available from: https://www.liebertpub.com/doi/10.1089/vbz.2014.1603?url_ver=Z39.88-2003&rfr_id=ori%3Arid%3Acrossref.org&rfr_dat=cr_pub++0pubmed
 65. Lavergne A. *et al.* Identification of lymphocytic choriomeningitis mammarenavirus in house mouse (*Mus musculus*, Rodentia) in French Guiana. *Infection, Genetics and Evolution* [Internet]. 2016 [cited 2021 Sep 24]. 37: 225-230. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1567134815300538?via%3Dihub>
 66. Castellar A. *et al.* Primera evidencia de infección por el virus de la coriomeningitis linfocítica (arenavirus) en roedores *Mus musculus* capturados en la zona urbana del municipio de Sincelejo, Sucre, Colombia. *Biomédica Revista del Instituto Nacional de Salud* [Internet]. 2017 [cited 2021 Sep 24]. 37(1): 75-85. Available from: <https://revistabiomedica.org/index.php/biomedica/article/view/3226>
 67. Fernandes J. *et al.* Condições de saúde dos profissionais que manuseiam animais no Brasil e a prevalência de infecção por robovírus, rickettsia do grupo da febre maculosa e bartonella. *In: Vigilância em Saúde: Interfaces entre a Saúde Pública e a Pesquisa Científica*. 1nd ed. Uberlândia: Editora Colab; [Internet] 2021 [cited 2021 Sep 24]. 121-140 pp. Available from: <http://dx.doi.org/10.51781/9786586920185>
 68. Hussein A. Characterization of novel LCMV strains in Southern Iraq [master's thesis]. Helsinki: University of Helsinki; 2019. [cited 2021 Sep 24]. Available from: <https://helda.helsinki.fi/handle/10138/299577>
 69. Vilibić-Čavlek T. Kolarić B. Korva M. Oreski T. Prevalence and Risk Factors for Lymphocytic Choriomeningitis Virus Infection in Continental Croatian Regions. *Tropical Medicine and Infectious Disease* [Internet]. 2021 [cited 2021 Sep 24]. 6(67): 1-10. Available from: https://www.researchgate.net/publication/351319692_Prevalence_and_Risk_Factors_for_Lymphocytic_Choriomeningitis_Virus_Infection_in_Continental_Croatian_Regions
 70. El Feghaly RE, Hunstad DA. A Newborn With Hydrops, Hydrocephalus, and Ophthalmologic Abnormalities. *J Pediatric Infect Dis Soc*[internet]. 2013 [cited 2022 Aug 10]; 2(4): 391-3. Available: <https://academic.oup.com/jpids/article/2/4/391/912160?login=false>
 71. Barton LL, *et al.* Congenital lymphocytic choriomeningitis virus infection in twins. *Pediatr Infect Dis J* [internet]. 1993 [cited 2022 Aug 10]; 12(11): 942-6. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/8265286/>
 72. Delaine M, Weingertner AS, Nougairède A, Lepiller Q, Fafi-Kremer S, Favre R, Charrel R. Microcephaly Caused by Lymphocytic Choriomeningitis Virus. *Emerg Infect Dis* [internet]. 2017 [cited 2022 Aug 10]; 23(9): 1548-1550. Available from:

- [https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5572864/#:~:text=Lymphocytic%20choriomeningitis%20virus%20\(LCMV\)%20is,inhaling%20aerosolized%20particles%20\(2\)](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5572864/#:~:text=Lymphocytic%20choriomeningitis%20virus%20(LCMV)%20is,inhaling%20aerosolized%20particles%20(2))
73. Meritet JF, *et al*. A case of congenital lymphocytic choriomeningitis virus (LCMV) infection revealed by hydrops fetalis. *Prenat Diagn* [internet]. 2009 [cited 2022 Aug 10]; 29(6): 626-7. Available from: <https://obgyn.onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/pd.2240>
 74. Schulte DJ, *et al*. Congenital lymphocytic choriomeningitis virus: an underdiagnosed cause of neonatal hydrocephalus. *Pediatr Infect Dis J* [internet]. 2006 [cited 2022 Aug 10]; 25(6): 560-2. Available from: https://journals.lww.com/pidj/Fulltext/2006/06000/CONGENITAL_LYMPHOCYTIC_CHORIOMENINGITIS_VIRUS__AN.19.aspx
 75. Bonthius DJ, Perlman S. Congenital viral infections of the brain: lessons learned from lymphocytic choriomeningitis virus in the neonatal rat. *PLoS Pathog* [internet]. 2007 [cited 2022 Aug 10]; 3(11): e149. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2092377/>
 76. Bonthius DJ. Lymphocytic choriomeningitis virus: a prenatal and postnatal threat. *Adv Pediatr* [internet]. 2009 [cited 2022 Aug 10]; 56: 75-86. Available from: [https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0065-3101\(09\)00008-5](https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0065-3101(09)00008-5)
 77. Mathur G, *et al*. High clinical suspicion of donor-derived disease leads to timely recognition and early intervention to treat solid organ transplant-transmitted lymphocytic choriomeningitis virus. *Transpl Infect Dis* [internet]. 2017 [cited 2022 Aug 10]; 19(4). Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/tid.12707>
 78. Fischer SA, *et al*. LCMV in Transplant Recipients Investigation Team. Transmission of lymphocytic choriomeningitis virus by organ transplantation. *N Engl J Med* [internet]. 2006 [cited 2022 Aug 10]; 354(21): 2235-49. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16723615/>
 79. Deibel R, Woodall JP, Decher WJ, Schryver GD. Lymphocytic choriomeningitis virus in man. Serologic evidence of association with pet hamsters; *JAMA* [internet]. 1975 [cited 2022 Aug 10]; 232(5): 501-4. Available from: <https://jamanetwork.com/journals/jama/article-abstract/336343>
 80. Barton LL, Hyndman NJ. Lymphocytic choriomeningitis virus: reemerging central nervous system pathogen. *Pediatrics* [internet]. 2000 [cited 2022 Aug 10]; 105(3): E35. Available from: <https://publications.aap.org/pediatrics/article-abstract/105/3/e35/62723/Lymphocytic-Choriomeningitis-Virus-Reemerging?redirectedFrom=fulltext>
 81. Nayak KK, Waller SO, Kuppuswamy G. ENCEPHALITIS SYNDROME OF LYMPHOCYTIC CHORIOMENINGITIS VIRUS INFECTION. *Br Med J* [internet]. 1964 [cited 2022 Aug 10] 18;1(5376): 162-4. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1812569/>
 82. Biggar RJ, Woodall JP, Walter PD, Haughie GE. Lymphocytic choriomeningitis outbreak associated with pet hamsters. Fifty-seven cases from New York State; *JAMA* [internet]. 1975 [cited 2022 Aug 10]; 232(5): 494-500. Available from: <https://jamanetwork.com/journals/jama/article-abstract/336340>
 83. Tanveer F, Younas M, Fishbain J. Lymphocytic choriomeningitis virus meningoencephalitis in a renal transplant recipient following exposure to mice. *Transpl Infect Dis* [internet]. 2018 [cited 2022 Aug 10]; 20(6): e13013. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/tid.13013>
 84. Al-Zein N, Boyce TG, Correa AG, Rodriguez V. Meningitis caused by lymphocytic choriomeningitis virus in a patient with leukemia. *J Pediatr Hematol Oncol*

- [internet]. 2008 [cited 2022 Aug 10]; 30(10): 781-4. Available from: https://journals.lww.com/jpho-online/Abstract/2008/10000/Meningitis_Caused_by_Lymphocytic_Choriomeningitis.17.aspx
85. Barton LL, Mets MB, Beauchamp CL. Lymphocytic choriomeningitis virus: emerging fetal teratogen. *Am J Obstet Gynecol* [internet]. 2002 [cited 2022 Aug 10]; 187(6): 1715-6. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0002937802004970>
 86. Bonthius DJ, *et al.* Congenital lymphocytic choriomeningitis virus infection: spectrum of disease. *Ann Neurol* [internet]. 2007 [cited 2022 Aug 10]; 62(4): 347-55. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/ana.21161>
 87. Enders, G., *et al.* Congenital lymphocytic choriomeningitis virus infection: an underdiagnosed disease. *The Pediatric infectious disease journal* [internet]. 1999 [cited 2022 Aug 10]; 18(7): 652-655.
 88. Meehan PJ, Potts J. *Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories*. 6 ed. Washington: Public Health Service, U.S. Department of Health and Human Services; 2020. 574 pp.
 89. Santos N. *et al.* Infestação por roedores no ambiente urbano o papel das deficiências ambientais na transmissão da leptospirose. *In: Congresso Latino Americano de Ecologia III*; 2009 september 10-13; São Lourenço, MG. [Internet] 2009 [cited 2021 Sep 24]. Available from: http://www.seb-ecologia.org.br/revistas/indexar/anais/2009/resumos_clae/221.pdf
 90. Santos NJ. *et al.* Rat infestation associated with environmental deficiencies in an urban slum community with high risk of leptospirosis transmission. *Cadernos de Saúde Pública* [Internet]. 2017 [cited 2021 Sep 24]. 33(2): e00132115. Available from: <https://www.scielo.br/j/csp/a/8vtLDQ7mVwWdyJ5xhD54Kbt/?lang=en>
 91. INFORMS (org). *Painel de informações: dados socioeconômicos do município de Salvador por bairros e prefeituras-bairro / Sistema de Informações Geográficas Urbanas do Estado da Bahia*. 5 ed. Salvador: CONDER/ INFORMS; 2016. 189 pp.
 92. Panti-May JA. *Et al.* A Two-Year Ecological Study of Norway Rats (*Rattus norvegicus*) in a Brazilian Urban Slum. *PloS One* [Internet]. 2016 [cited 2021 Sep 24]. 11(3): e0152511. Available from: <https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0152511>
 93. Hacker KP. *Et al.* A comparative assessment of track plates to quantify fine scale variations in the relative abundance of Norway rats in urban slums. *Urban Ecosyst* [Internet]. 2016 [cited 2021 Sep 24]. 19(2):561-575. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4955619/>
 94. Costa F. *et al.* Patterns in *Leptospira* Shedding in Norway Rats (*Rattus norvegicus*) from Brazilian Slum Communities at High Risk of Disease Transmission. *PloS One* [Internet]. 2015 [cited 2021 Sep 24]. 9(6): e0003819. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4457861/>
 95. Costa F. *et al.* Influence of Household Rat Infestation on *Leptospira* Transmission in the Urban Slum Environment. *PloS One* [Internet]. 2014 [cited 2021 Sep 24]. 8(12): e3338. Available from: <https://journals.plos.org/plosntds/article?id=10.1371/journal.pntd.0003338>
 96. Tamura K, Stecher G, Kumar S. MEGA11: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 11. *Mol Biol Evol*. [Internet]. 2021 [cited 2021 Sep 24]. 38(7): 3022-3027. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33892491/>

97. Lefort V, Longueville JE, Gascuel O. SMS: Smart Model Selection in PhyML. *Mol Biol Evol* [internet]. 2017 [cited 2022 10 10]; 34(9): 2422-2424. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5850602/39> (8B)- Kallio-Kokko H. *et al.* Hantavirus and arenavirus antibody prevalence in rodents and humans in Trentino, Northern Italy. *Epidemiology & Infection* [Internet]. 2005 [cited 2021 Sep 24]. 134: 830-836. Available from: <https://www.cambridge.org/core/journals/epidemiology-and-infection/article/hantavirus-and-arenavirus-antibody-prevalence-in-rodents-and-humans-in-trentino-northern-italy/0E9B97C94CA8371273B8C15AA0BA0A51>
98. Letunic I, Bork P. Interactive Tree Of Life (iTOL) v5: an online tool for phylogenetic tree display and annotation. *Nucleic Acids Res.* [Internet]. 2021 [cited 2022 Sep 9]; 49(W1): W293-W296. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33885785/>
99. R Core Team. A language and environment for statistical computing [internet] 2022 [cited 2021 Sep 24]. Available from: <https://www.R-project.org/>
100. Brasil. Fundação Nacional de Saúde. Manual de controle de roedores [internet] 2022 [cited 2022 Sep 10]. Available from: <https://cevs.rs.gov.br/upload/arquivos/201701/06105327-manual-de-controle-de-roedores-2002.pdf>
101. Tagliapietra V, *et al.* Spatial and temporal dynamics of lymphocytic choriomeningitis virus in wild rodents, northern Italy. *Emerg Infect Dis* [internet]. 2009 [cited 2022 Aug 10]; 15(7): 1019-25. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2744257/>
102. Costa F. Infections by *Leptospira interrogans*, Seoul virus, and *Bartonella* spp. among Norway rats (*Rattus norvegicus*) from the urban slum environment in Brazil. *Vector Borne Zoonotic Dis* [internet]. 2014 [cited 2022 Aug 10]; 14(1): 33-40. Available from: https://www.liebertpub.com/doi/10.1089/vbz.2013.1378?url_ver=Z39.88-2003&rfr_id=ori:rid:crossref.org&rfr_dat=cr_pub%20%20pubmed⁶
103. Panti-May JA, *et al.* A Two-Year Ecological Study of Norway Rats (*Rattus norvegicus*) in a Brazilian Urban Slum. *PLoS One* [internet]. 2016 [cited 2022 Aug 10]; 11(3): e0152511. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4807843/>
104. Erskine MS, Barfield RJ, Goldman BD. Intraspecific fighting during late pregnancy and lactation in rats and effects of litter removal. *Behav Biol* [internet]. 1978 [cited 2022 Aug 10]; 23(2): 206-18. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/567060/>
105. Ericsson C, Franzén B, Nistér M. Frozen tissue biobanks. Tissue handling, cryopreservation, extraction, and use for proteomic analysis. *Acta Oncol* [internet]. 2006 [cited 2022 Aug 10]; 45(6): 643-61. Available from: <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/02841860600818047>
106. Guan, P., Huang, D., He, M. *et al.* Investigating the effects of climatic variables and reservoir on the incidence of hemorrhagic fever with renal syndrome in Huludao City, China: a 17-year data analysis based on structure equation model. *BMC Infect Dis* [internet]. 2009 [cited 2022 Aug 10]; 9(109): 1-10. Available from: <https://bmcinfectdis.biomedcentral.com/articles/10.1186/1471-2334-9-109#citeas>
107. Ellwanger JH, Byrne LB, Chies JAB. Examining the paradox of urban disease ecology by linking the perspectives of Urban One Health and Ecology with Cities. *Urban Ecosyst* [internet]. 2022 [cited 2022 Aug 10]; 15: 1-11. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35855439/>

108. Dobec M, Dzelalija B, Punda-Polic V, Zoric I. High prevalence of antibodies to lymphocytic choriomeningitis virus in a murine typhus endemic region in Croatia. *J Med Virol* [internet]. 2006 [cited 2022 Aug 10]; 78(12): 1643-7. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17063527/>

9. ANEXOS

9.1 CEUA – Aprovação da Comissão de Ética no Uso de Animais



Ministério da Saúde

FIOCRUZ
Fundação Oswaldo Cruz
Centro de Pesquisas Gonçalo Moniz

COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

PROCOLO: 019/2016

PROJETO: "Estratégias de controle ótimo para zoonoses transmitidas por roedores em comunidades brasileiras"

COORDENADOR: Dr. Federico Costa

| Quantitativo de Animais Aprovados | |
|--|---------------|
| Espécie/Linhagem | Nº de Animais |
| Rato de esgoto (Juvenil, <200g) | 70 |
| Rato de esgoto (Sub-juvenil, 200-400g) | 105 |
| Rato de esgoto (Adulto, >400g) | 175 |

Certificamos que na presente versão este projeto está de acordo com os princípios de ética na pesquisa com animais adotado pela Lei 11.784/2008, foi aprovado e licenciado pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA-CPqGM) em 08/03/2017, e tem validade até 08/03/2019.

The present version of the above referenced project agrees with the ETHICAL PRINCIPLES IN ANIMAL RESEARCH adopted by the Brazilian law 11.784/2008 and was approved and licensed by the ETHICAL COMMITTEE FOR ANIMAL RESEARCH of the CPqGM-FIOCRUZ at 03/08/2017, being valid until 03/08/2019.

SOLICITAMOS O ENVIO DOS RELATÓRIOS PARCIAL E FINAL NOS PRAZOS ESTABELECIDOS ABAIXO:

Vigência: 08/03/2017 a 08/03/2019.

Envio do Relatório Anual: 09/03/2018.

Relatório Final: 09/03/2019.

Salvador, 08 de março de 2017.


DEBORAH BITTENCOURT MOTHE FRAGA
Coordenadora da Comissão de Ética no Uso de Animais
Centro de Pesquisa Gonçalo Moniz - FIOCRUZ
Deborah Bittencourt Mothe Fraga
Pesquisadora em Saúde Pública
CPqGM - FIOCRUZ
Mat. 1573390

Comissão de Ética No Uso de Animais - Rua Waldemar Falcão, nº 121, Candeal, Salvador, Bahia, CEP 40296-710, Brasil.
Tel. (71) 3176-2285
E-mail: ceua@bahia.fiocruz.br

9.2. Parecer consubstanciado do CEP

UFBA - INSTITUTO DE SAÚDE
COLETIVA DA UNIVERSIDADE
FEDERAL DA BAHIA



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DA EMENDA

Título da Pesquisa: Otimização de medidas de controle para zoonoses em comunidades brasileiras

Pesquisador: Federico Costa

Área Temática:

Versão: 4

CAAE: 68887417.9.0000.5030

Instituição Proponente: Instituto de Saúde Coletiva / UFBA

Patrocinador Principal: Medical Research Council

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 4.485.652

Apresentação do Projeto:

O projeto explicita que houve prorrogação do prazo do projeto de pesquisa de 2017 até 2021 e portanto pede para avaliar a proposta de emenda para o projeto acima detalhado.

Justificativa: Entende-se que por necessidade sanitária, além da possível compreensão da relação do ambiente com a disseminação desses patógenos, faz-se necessário medir a prevalência zoonoses na população investigada, e sua relação com potenciais fatores comportamentais, sociodemográficos e ambientais. Procedimentos: Não serão coletadas amostras biológicas adicionais. Aproveitaremos as amostras de sangue já coletadas para análise de outros patógenos. A metodologia laboratorial de análise para presença de anticorpos para SEOV e LCMV nas amostras biológicas está descrita na página 07 do projeto. TCLE e TALE: foi realizada a alteração da informação sobre a análise de amostras biológicas para identificação de exposição a SEOV e LCMV no TCLE das pessoas maiores de idade, no TCLE do responsável legal, TALE de 05 a 11 e no TALE de 12 a 17 anos. Desse modo, na página 03 do projeto, onde lia-se: "Posteriormente, expandiremos este modelo para outros patógenos zoonóticos incluindo Seoul hantavírus (SEOV), Dengue (DENV), Zika (ZICV), Chikunguã (CHIKV hepatites B (HBV), Toxoplasma gondii, Bartonella sp. ". Leia-se: "Posteriormente, expandiremos este modelo para outros patógenos zoonóticos incluindo dengue (DENV), Zika (ZICV), Chicungunha (CHIKV) para arboviroses e, hepatite B (HBV), Toxoplasma gondii, Bartonella sp, Seul hantavírus (SEOV), vírus da Coriomeningite linfocítica (LCMV) bem como outros patógenos zoonóticos transmitidos por roedores.".

Endereço: Rua Basílio da Gama s/n

Bairro: Canela

CEP: 40.110-040

UF: BA

Município: SALVADOR

Telefone: (71)3283-7419

E-mail: cepisc@ufba.br

10. APÊNDICES

Folder para divulgação de informações sobre a Coriomeningite linfocítica

VOCÊ CONHECE?

Coriomeningite linfocítica

É uma doença causada pelo Vírus da Coriomeningite Linfocítica (**LCMV**), transmitido ao homem principalmente por meio da inalação de partículas virais no ar, em ambientes com a presença de fezes e urinas de roedores infectados. Na maioria dos casos o quadro clínico é leve, mas pode ocorrer **casos graves** como **meningite** e **hemorragia**. Por não ter um antiviral específico, o tratamento é de suporte.

Sinais e Sintomas

Mais Comuns

-  Dor de cabeça
-  Febre
-  Rigidez na nuca
-  Sensibilidade à luz

Com quem devo me preocupar?

-  A doença pode ser **LETAL** em casos de baixa imunidade como em:
 - *Pacientes transplantados
-  Na gravidez, o vírus pode ser transmitido ao feto, causando:
 - *Aborto Espontâneo
 - *Má-formações (Ex: Microcefalia)

Como evitar?

-  Evite deixar alimentos acessíveis a roedores dentro e fora de sua residência
-  Ventile ambientes fechados por 30 minutos antes de entrar e utilize máscaras N95
-  Use detergente ou sabão e água sanitária a 10% em locais com a presença de roedores
-  Não acumule lixo próximo de sua residência



A coriomeningite linfocítica é uma doença pouco conhecida no Brasil, mas existem evidências da presença do vírus em roedores e humanos.

PARA MAIS INFORMAÇÕES BUSQUE:

Fonte: Laboratório de Hantavírus e Rickettsioses, Instituto Oswaldo Cruz / FIOCRUZ
<https://www.cdc.gov/vhf/lcm/index.html>

Contato:
E-mail: lr@ioc.fiocruz.br
portal.fiocruz.br/laboratorio-de-hantaviruses-e-rickettsioses

