

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

ÉRIKA DE CÁSSIA VIEIRA DA COSTA

**ESTUDO DE SOROPREVALÊNCIA DE HANTAVÍRUS E *YERSINIA PESTIS* EM
ÁREAS FOCAIS DE PESTE DO NORDESTE DO BRASIL**

RECIFE

2011

ÉRIKA DE CÁSSIA VIEIRA DA COSTA

**ESTUDO DE SOROPREVALÊNCIA DE HANTAVÍRUS E *YERSINIA PESTIS* EM
ÁREAS FOCAIS DE PESTE DO NORDESTE DO BRASIL**

Dissertação apresentada ao **Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas** da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito para obtenção do grau de **Mestre em Ciências Biológicas**.

Orientador: **Dr^a Alzira Maria Paiva de Almeida**
Dept^o de Microbiologia do Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães.

Co-orientador: **Dr^a Marise Sobreira**
Dept^o de Microbiologia do Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães

RECIFE
Março, 2011

Costa, Érika de Cássia Vieira da

Estudo de soroprevalência de Hantavírus e *Yersinia pestis* em áreas focais de peste do Nordeste do Brasil / Érika de Cássia Vieira da Costa. – Recife: O Autor, 2011.

72 folhas : il., fig., tab.

Orientadora: Alzira Maria Paiva de Almeida

Co-Orientador: Marise Sobreira

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Pernambuco. Centro de Ciências Biológicas. Ciências Biológicas, 2011.

Inclui bibliografia e apêndices.

- 1. Zoonoses 2. *Yersinia Pestis* 3. Roedores como transmissores de doenças I. Título.**

571.98

CDD (22.ed.)

UFPE/CCB-2011-170

**Universidade Federal de Pernambuco
Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas
Nível Mestrado**

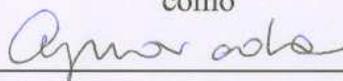
Parecer da comissão examinadora da defesa da dissertação do mestrado de

ÉRIKA DE CÁSSIA VIEIRA DA COSTA

**ESTUDO DE SOROPREVALÊNCIA DE HANTAVÍRUS E *YERSINIA PESTIS* EM
ÁREAS FOCAIS DE PESTE DO NORDESTE DO BRASIL**

A comissão examinadora, composta pelos professores abaixo, sob a presidência do primeiro,
considera a candidata **ÉRIKA DE CÁSSIA VIEIRA DA COSTA**

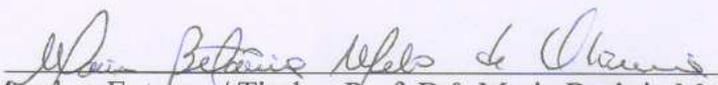
como



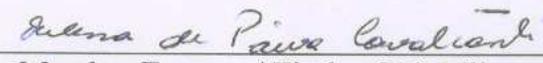
Recife, 21 de março de 2011



Orientadora: Prof. Dr^a. Alzira Maria Paiva de Almeida
Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães – Departamento de Microbiologia



Membro Externo / Titular: Prof. Dr^a. Maria Betânia Melo de Oliveira
Universidade Federal de Pernambuco – Departamento de Bioquímica



Membro Externo / Titular: Dr^a. Milena de Paiva Cavalcanti
Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães – Departamento de Imunologia

Membro Interno / Suplente: Prof. Dr^a. Maria Tereza dos Santos Correia
Universidade Federal de Pernambuco – PPGCB

Membro Externo / Suplente: Dra. Nilma Cintra Leal
Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães – Departamento de Microbiologia

“Descobri como é bom chegar quando se tem paciência. E para se chegar, onde quer que seja, aprendi que não é preciso dominar a força, mas a razão. É preciso, antes de qualquer coisa, querer”.

Autor desconhecido

*A Deus, fonte inesgotável de Força,
Amor e Graça; E aos meus pais,
Marcondes e Elionilde, pelos numerosos
esforços, amor e compreensão, que
sempre me incentivaram a lutar por
meus sonhos.*

Dedico

AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus pela Força, Consolo, Amor e abundante Graça oferecida em todos os instantes. Grata por tornar tudo possível, sem Ele eu nada sou.

Ao meu pai Marcondes, pelo amor, incentivo e dedicação demonstrados em todos os dias de minha vida, e a minha querida mãe Elionilde, pelo amor, confiança e palavras de garra e Fé: “Minha filha, Deus está no controle, você vai conseguir.” Vocês sempre acreditaram em minha vitória. Amo vocês!

À Dr^a Alzira Almeida pelo apoio, oportunidades e confiança na orientação deste trabalho.

À Prof^a Dr^a Marise Sobreira, pela amizade, confiança, por ser responsável pelo meu ingresso no mundo da pesquisa científica e pelos eternos ensinamentos proporcionados na minha formação.

À Gerlane Chioratto, pelo apoio e preciosas dicas nas análises laboratoriais.

A todos os colegas do Departamento de Microbiologia do CPqAM, especialmente a Paulo Guaraná, Lívia Alves e Valdemir Júnior, por todos os momentos que compartilhamos. Valeu pela paciência de ouvir meus desabafos.

A todos meus familiares, especialmente a minha querida irmã Mayse Cíntia e tia Elda (minha segunda mãe), pelo companheirismo, paciência, conselhos, e disponibilidade para ajudar nos momentos mais difíceis. Minha eterna gratidão.

Aos queridos colegas do Movimento estudantil Alfa e Ômega/UFPE, pela força, incentivo, compreensão e as maravilhosas experiências compartilhadas. Obrigada por sonharem comigo.

Ao CPqAM e ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas/UFPE, pelo apoio técnico e científico.

Minha gratidão a todas as pessoas que contribuíram para a concretização deste trabalho.

RESUMO

No Brasil, as áreas de ocorrência da Síndrome Pulmonar Cardiovascular por Hantavírus (SPCVH) e a peste (infecção por *Yersinia pestis*) podem se sobrepor, pois compartilham os mesmos roedores reservatórios da subfamília Sigmodontinae. O *Necromys lasiurus* reservatório de hantavírus em outras regiões, desempenha importante papel na disseminação da peste nas áreas focais do Nordeste. A hantavirose e a peste são doenças de notificação compulsória nacional e vêm sendo reconhecidas como doenças ocupacionais. Apesar da progressão de casos e óbitos por hantavirose no Brasil, os estudos nas áreas focais de peste, ainda são escassos. No nosso estudo, objetivamos conhecer a soroprevalência de hantavirose e peste entre os profissionais envolvidos nas atividades do Programa de Controle da Peste (PCP) e Serviço de Referência Nacional em Peste (SRP) do Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães (CPqAM/Fiocruz/PE) e de hantavírus em roedores das áreas focais de peste. Esses profissionais constituem um grupo de risco para as infecções dos roedores, pois suas atividades vão desde a manipulação de roedores em campo a pesquisas biológicas e manipulação de culturas da *Y. pestis* em laboratório. As análises em 434 amostras de soros de roedores (311 Sigmodontinae, 42 Cavidae; 43 Equimidae, 35 Muridae e três sem identificação), capturados nas atividades da rotina do PCP em quatro estados do Nordeste do Brasil (Ceará: 239, Pernambuco: 159, Bahia: 30 e Rio Grande do Norte: 06), detectaram anticorpos contra hantavírus apenas no estado (CE), onde soros de dois *N. lasiurus* da Serra da Ibiapaba (CE) foram reagentes. Amostras sorológicas de profissionais do PCP que atuam nos Estados de Pernambuco (31), Ceará (21) e Rio Grande do Norte (11), e do SRP (seis) foram analisadas para pesquisa de anticorpos contra hantavírus e *Y. pestis*, e mais 14 amostras de profissionais do SRP foram analisadas para pesquisa de anticorpos contra *Y. pestis*. As análises revelaram a presença de anticorpos contra hantavírus em dois profissionais do PCP/CE (Serra do Araripe e Serra da Ibiapaba respectivamente) e anticorpos antipestosos em um do PCP/PE (Planalto da Borborema) e um do SRP em duas amostras coletadas com intervalo de 24 meses. Os sororeagentes não relataram manifestações clínicas sugestivas de peste ou hantavirose no transcorrer das suas atividades profissionais, mas relataram não usar equipamentos de proteção individual (EPI) desde o início de suas atividades. Em conclusão, este estudo evidenciou pela primeira vez a presença de anticorpos contra hantavírus em roedores (02) e profissionais (02) das áreas focais de peste do Ceará e a presença de anticorpos antipestosos em profissionais do PCP/PE (01) e SRP (01). Esses resultados evidenciam os riscos nas atividades em campo e laboratoriais, a necessidade da adoção de práticas rigorosas de biossegurança e o acompanhamento sistemático da saúde dos profissionais.

Palavras-chave: Soroprevalência. Zoonoses. Roedores. Biossegurança.

ABSTRACT

In Brazil, Hantavirus Pulmonary Cardiovascular Syndrome (HPCVS) and plague (*Yersinia pestis* infection) areas may overlap for they share the same rodent (Sigmodontinae) reservoirs. *Necromys lasiurus*, hantavirus host in other regions, plays an important role for plague spreading in the focal areas of the Northeast. Hantaviruses and plague are national notification diseases and have been recognized as occupational diseases. Despite hantavirus cases and deaths progression in Brazil, studies in plague focal areas are scarce. In our study, we aimed to determine the seroprevalence for hantavirus and plague among professionals from the Plague Control Program (PCP) and Plague Reference Service (SRP) from the Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães (CPqAM / Fiocruz / PE), and for hantavirus among rodents from plague focal areas. These professionals represent a risk group for rodent infections for their activities, ranging from handling rodents in the field to biological research and handling *Y. pestis* cultures in the laboratories. The analysis of 434 rodent sera (311 Sigmodontinae, 42 Cavidae; 43 Equimidae, 35 Muridae and three unidentified specimens) obtained from the PCP routine in four northeastern states of Brazil (Ceará: 239, Pernambuco: 159, Bahia: 30 and Rio Grande do Norte: 06), detected hantavirus antibodies only at CE state, and sera from two *N. lasiurus* from Serra da Ibiapaba proved (CE) reagents. Sera samples from PCP professionals from Pernambuco (31), Ceará (21) and Rio Grande do Norte, (11) and SRP (06) were analyzed for hantavirus and plague antibodies plus 14 samples from SRP professional were tested for plague antibodies only. Hantavirus antibodies were detected in two professionals from PCP/CE (Serra Araripe and Serra Ibiapaba respectively) and antiplague antibodies in one PCP/PE (Serra da Borborema) and one SRP professionals, in two samples collected within 24 months. The positives did not report clinical symptoms suggestive of hantavirus or plague in the course of their professional activities. However, their use of protective equipment is rather recent. In conclusion, we show for the first time the presence of hantavirus antibodies among rodents (02) and professionals (02) from plague focal areas in Ceará and antiplague antibodies in PCP/PE (01) and SRP (01) professionals. These results highlight the field and laboratory activities risks, the need for strict biosafety practices and systematic monitoring of the professionals health.

Key words: Seroprevalence. Zoonoses. Rodents. Biosafety.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1. Linha representativa do histórico das hantavirose (Antropozoonose emergente).	15
Figura 2: Desenho esquemático da estrutura viral do hantavírus. L, M e S: segmentos do RNA viral: Large, Medium e Small respectivamente que codificam para RNA polimerase (L), Proteínas de membrana G1 e G2 (M) e para proteína N do nucleocapsídeo (S).	16
Figura 3: Ciclo epidemiológico de transmissão dos hantavírus.	18
Quadro 1: Distribuição dos hantavírus mais importantes identificados, reservatórios e sua associação com a enfermidade humana.	20
Figura 4: Biomas, prováveis reservatórios e variantes de hantavírus detectados no Brasil.	21
Figura 5: Evidência da circulação de hantavírus no Brasil: 1993 – 2010.	21
Tabela 1: Casos e Óbitos por hantavírus no Brasil: 1993-2010.	22
Gráfico 1: Hantavirose: casos e taxa de letalidade no Brasil - 1993-2010.	23
Figura 6: Equipamentos de proteção individual (EPI) utilizados para manipulação de roedores em laboratório (a) e captura de roedores (b).	28
Figura 7: Esquema do ciclo epidemiológico da Peste.	31
Figura 8: Áreas de peste no Brasil.	32
Quadro 2: Principais roedores dos focos de peste do Brasil.	33

LISTA DE ABREVIATURAS

CPqAM	Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães
DNA	Ácido dextrorribonucléico
ELISA	Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay, Ensaio imunoenzimático
FHSR	Febre Hemorrágica com Síndrome Renal
IgG	Imunoglobulina G
IgM	Imunoglobulina M
PCP	Programa de Controle da Peste
RNA	Ácido ribonucléico
SINAN	Sistema de Informação de Agravos de Notificação
SPCVH	Síndrome Pulmonar Cardiovascular por Hantavírus
SRP	Serviço Nacional de Referência em Peste
SVS	Secretaria de Vigilância em Saúde

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	12
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	14
2.1 HANTAVIROSES.....	14
2.1.1 HISTÓRICO.....	14
2.1.2 ETIOLOGIA.....	15
2.2 EPIDEMIOLOGIA E ECOLOGIA DAS HANTAVIROSES.....	17
2.2.1 RESERVATÓRIOS/HOSPEDEIROS.....	17
2.2.2 TRANSMISSÃO.....	18
2.2.3 DISTRIBUIÇÃO GEOGRÁFICA.....	19
2.2.4 SITUAÇÃO DA HANTAVIROSE NO BRASIL.....	21
2.3 HANTAVÍRUS EM HUMANOS.....	23
2.3.1 MANIFESTAÇÕES CLÍNICAS.....	23
2.3.2 TRATAMENTO.....	25
2.4 DIAGNÓSTICO LABORATORIAL DA HANTAVIROSE.....	25
2.5 MEDIDAS DE PREVENÇÃO E CONTROLE.....	27
2.6 A PESTE.....	28

2.6.1 A DOENÇA.....	28
2.6.2 OS FOCOS DE PESTE NO BRASIL.....	31
2.6.3 DIAGNÓSTICO LABORATORIAL DA PESTE.....	33
3 REFERÊNCIAS	34
4 JUSTIFICATIVAS.....	42
5 OBJETIVOS.....	43
CAPÍTULO 1 - SOROPREVALÊNCIA DA INFECÇÃO POR HANTAVÍRUS EM ROEDORES DO ESTADO DO CEARÁ, BRASIL.....	44
CAPÍTULO 2 - SOROPREVALÊNCIA DE ANTICORPOS CONTRA HANTAVÍRUS E <i>YERSINIA PESTIS</i> EM PROFISSIONAIS DO PROGRAMA DE CONTROLE DE PESTE.....	51
CAPÍTULO 3 - RESULTADOS COMPLEMENTARES: PESQUISA DE ANTICORPOS PARA HANTAVÍRUS EM ROEDORES DOS ESTADOS DE PERNAMBUCO, BAHIA E RIO GRANDE DO NORTE.....	64
6 CONCLUSÃO.....	68
7 APÊNDICE.....	69
7.1 APÊNDICE A - TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO.....	70
7.2 APÊNDICE B – QUESTIONÁRIO (Hantaviroses).....	71
7.3 APÊNDICE C – QUESTIONÁRIO (Peste)	72

1 INTRODUÇÃO

As áreas pestíferas do Nordeste do Brasil são os focos naturais de peste (infecção causada pela *Yersinia pestis*), remanescentes da introdução da doença por via marítima em 1899, durante a terceira pandemia. A peste foi eliminada da área portuária e zona urbana, mas penetrou por via terrestre e se estabeleceu entre os roedores sinantrópicos silvestres em vários complexos ecológicos na região Nordeste localizados nos estados do Ceará, Rio Grande do Norte, Paraíba, Pernambuco, Piauí, Alagoas, Bahia, estendendo-se até o norte de Minas Gerais, além de uma pequena área na Serra dos Órgãos no Rio de Janeiro. Estes focos são totalmente independentes uns dos outros, e sem nenhuma conexão entre eles. Apresentam diferentes características epidemiológicas e padrões de manifestações da doença na população humana, com períodos alternados de alta incidência seguidos por outros de baixa incidência ou até mesmo ausência de casos.

O roedor *Necromys lasiurus* (*Zygodontomys lasiurus pixuna*, *Bolomys lasiurus*) e suas pulgas (*Polygenis spp.*) são os mais frequentemente infectados na natureza, desempenhando um papel importante na amplificação da infecção, mas outras espécies de roedores e pulgas são também envolvidas. Quando a densidade populacional de roedores é alta, os rastilhos epizooticos se estendem se ramificam e entrecruzam-se e no clímax da multiplicação dos roedores, a epizootia se estende por vastas áreas, atingindo diversas espécies de roedores e outros mamíferos e as populações humanas.

Até a década de 1970, o número de casos humanos de peste notificados anualmente nesses focos variou entre 20 a 100. Depois todos os focos tenderam para quiescência, alguns desde os anos 1970 e os últimos surtos ocorreram nos estados do Ceará e da Paraíba na década de 1980. Desde os anos 1990, as ocorrências de peste humana no Brasil, limitam-se a raros e esporádicos casos nas áreas pestíferas do Ceará. No entanto a circulação do bacilo pestoso tem sido detectada nos inquéritos sorológicos nos animais sentinela/indicadores (roedores e carnívoros domésticos) nas áreas pesquisadas. A presença de anticorpos antipestosos significa que a peste ainda representa uma ameaça real e permanente de acometimento humano nessas regiões, podendo ser estendida para outros lugares, inclusive centros urbanos, e determinar sérias consequências médicas e socioeconômicas justificando a manutenção de uma vigilância contínua para atender as recomendações do regulamento sanitário internacional (RSI). O RSI, implementado em 2007 enfatiza a prevenção da propagação internacional de doenças e a manutenção das condições de segurança do tráfego

internacional. Pelo potencial de gerar uma situação de emergência de saúde pública internacional a peste deve ser imediatamente notificada aos níveis local, nacional e dependendo do resultado do algoritmo, à Organização Mundial da Saúde (OMS).

A Síndrome Pulmonar Cardiovascular por Hantavírus (SPCVH) foi identificada pela primeira vez no Brasil em 1993, no Estado de São Paulo, logo após seu reconhecimento no sudoeste dos EUA. Desde então, cerca de 1.368 casos e 534 óbitos foram notificados nas diferentes regiões do país sendo 14 casos e oito óbitos registrados até o momento na região Nordeste. A SPCVH, assim como a peste, integra a lista nacional de doenças de notificação compulsória segundo o Anexo I da Portaria Nº 104, de 25 de Janeiro de 2011.

Estudos sorológicos, etiológicos e moleculares em roedores e humanos vêm sendo conduzidos nas localidades onde há relatos de casos, e em áreas que apresentam as condições ambientais e epidemiológicas favoráveis à circulação dos vírus, mas no Nordeste os estudos ainda são escassos. As hantavirose e a peste compartilham como reservatórios no Brasil, algumas espécies de roedores da subfamília Sigmodontinae e, acredita-se que a distribuição viral pode acontecer em toda a área de ocorrência da(s) espécie(s) reservatório(s), de forma que a distribuição de uma espécie de roedor reservatório supõe a ocorrência dos vírus.

Apesar de suas diferentes etiologias e modos de transmissão as duas zoonoses oferecem risco para as populações das áreas rurais ou para os que ali se dirigem nas suas atividades profissionais ou de lazer como, por exemplo, práticas agrícolas e ecoturismo respectivamente. Ambas podem ser consideradas doenças ocupacionais e a contaminação pode ocorrer tanto no ambiente intra- quanto peri- ou extra-domiciliar.

A ocorrência das espécies de roedores, reservatórios potenciais de Hantavírus, e a notificação, mesmo em pequeno número, de casos autóctones da SPCVH no Nordeste sugerem a circulação viral e a vulnerabilidade das populações.

Nosso objetivo foi conhecer a soroprevalência da peste e hantavírus entre os profissionais envolvidos nas atividades do Programa de Controle da Peste e Serviço de Referência Nacional em Peste (SRP) do Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães (Fiocruz/PE) e roedores das áreas focais de peste. Estes profissionais estão potencialmente expostos ao risco da peste e das hantavirose, pois nas suas atividades, que incluem o manejo de roedores silvestres e outros animais, os procedimentos de biossegurança não são rotineiramente contemplados. Esperamos com nossos resultados, ampliar o conhecimento sobre as hantavirose na região e contribuir para medidas de proteção para os profissionais e para as populações em risco. Estes estudos tiveram a aprovação do CEP/CPqAM/Fiocruz n. 48/2004 e IBAMA n. 02001.007935/2006-36.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 HANTAVIROSES

2.1.1 HISTÓRICO

As hantaviroses foram reconhecidas no início da década de 1950, quando tropas militares durante a guerra da Coreia foram acometidas de uma doença febril aguda com manifestações hemorrágicas e taxa de letalidade em torno de 5 a 10%. Entretanto, desde 1913 um grupo de doenças infecciosas hemorrágicas com disfunção renal, recebia diferentes denominações em países da Europa, Ásia e desde 1986 também na África, até que a Organização Mundial da Saúde (OMS) recomendou o nome de Febre Hemorrágica com Síndrome Renal (FHSR) para aquelas doenças. A etiologia viral só foi confirmada em 1976 através de estudos sorológicos, isolamento e caracterização do vírus do tecido pulmonar de roedor silvestre (*Apodemus agrarius*) que continha antígenos específicos reativos a amostras de soro de pacientes com FHSR. O vírus foi denominado Hantaan, pois o reservatório foi capturado às margens do rio Han, na região rural da Coreia e o novo vírus ficou como protótipo do gênero (LEE; LEE; JOHNSON, 1978; LEE, 1989; SCHMALJOHN; NICHOL, 2007).

Em 1993, uma epidemia entre índios Navajos na região sudoeste dos Estados Unidos (EUA) com comprometimento pulmonar infeccioso grave, foi reconhecida como hantavirose (NOLTE et al., 1995) e as análises moleculares em exemplares de roedores *Peromyscus maniculatus*, identificaram material genético viral nesses animais. O vírus foi considerado um novo membro do gênero Hantavírus, e recebeu inicialmente a identificação de Four Corners (nome do local de ocorrência) mudado posteriormente para Sin Nombre (por razões sociais e culturais) e a forma clínica da doença foi denominada Síndrome Pulmonar Cardiovascular por Hantavírus (SPCVH) (NICHOL et al., 1993; HJELLE et al., 1994).

Os primeiros casos da SPCVH no Brasil, foram identificados no final de 1993, na área rural de Juitiba, SP em três indivíduos da mesma família, dois dos quais evoluíram para óbito (IVERSSON et al., 1994; VASCONCELOS et al., 1997). No entanto desde a década de 1980, estudos sorológicos e retrospectivos registraram sorologia positiva em roedores das cidades de Belém, São Paulo, Recife e Olinda (LEDUC et al., 1986) e a partir de vísceras de *Rattus norvegicus* capturado em Belém (PA) foi isolado um vírus antigenicamente relacionada ao vírus cosmopolita Seoul (LEDUC et al., 1985) A SPCVH passou a ser

reconhecida em outras localidades e continua em expansão nas Américas revelando-se importante problema de Saúde Pública (FIGUEIREDO et al., 2001; FERREIRA, 2003; SAGGIORO et al., 2007). A figura 1 mostra a evolução dos conhecimentos sobre a hantavirose.

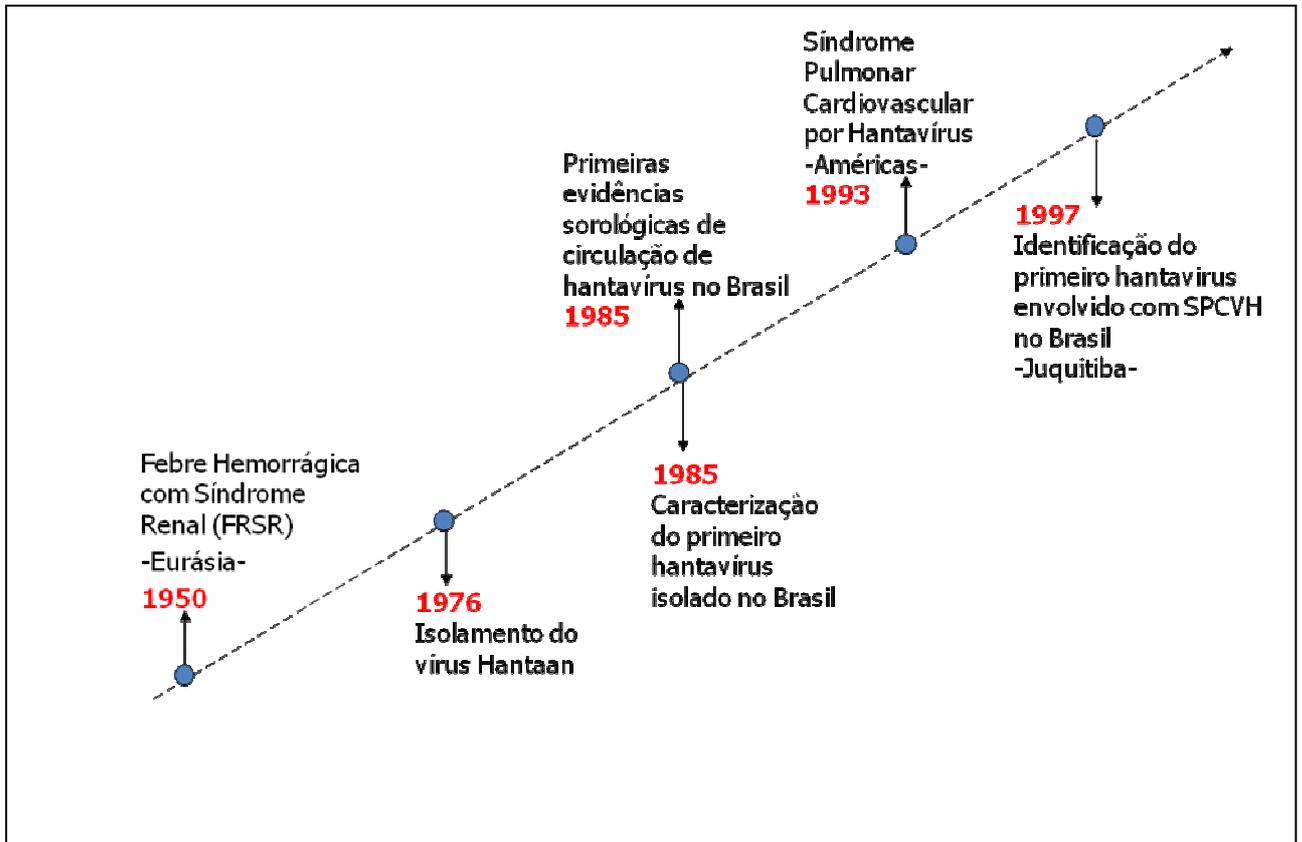


Figura 1. Linha representativa do histórico das hantavíroses no mundo (Antropozoonose emergente). Fonte: cedido por SOUZA-CHIORATTO, 2010.

2.1.2 ETIOLOGIA

Os hantavírus compreendem um grupo de mais de 300 vírus distintos pertencentes à família Bunyaviridae divididos em cinco gêneros: *Orthobunyavirus*, *Phlebovirus*, *Nairovirus*, *Hantavirus*, e *Tospovirus* (FAUQUET et al., 2005; SCHMALJOHN; NICHOL, 2007). Eles apresentam propriedades morfológicas, genômicas e protéicas similares, sendo transmitidos por artrópodes (mosquitos e carrapatos), com exceção dos hantavírus transmitidos por roedores (ELLIOT et al., 2000; SCHMALJOHN; NICHOL, 2007).

São vírus esféricos, medindo de 80 a 120 nm de diâmetro, apresentam um envelope de dupla camada lipoprotéica oriundo da célula hospedeira e possuem projeções glicoprotéicas

na superfície. O genoma é composto de RNA de filamento único, polaridade negativa, trisegmentado: segmento L (large), que codifica a polimerase viral; segmento M (medium), que codifica as glicoproteínas G1 e G2 do envelope; e segmento S (small), que codifica a nucleoproteína (proteína N) (SCHMALJOHN, 1996) (Figura 2). A nucleoproteína N é a proteína mais conservada dos hantavírus; é altamente imunogênica para roedores e humanos, o que a torna a primeira escolha como antígeno em testes diagnósticos para detecção da infecção viral; também está envolvida em diversos mecanismos de regulação da transcrição e replicação, no processo de encapsidação do genoma e na montagem da partícula viral. O processo de replicação viral acontece exclusivamente no citoplasma das células hospedeiras (SANTOS et al, 2002; RABONI et al. 2007; FIGUEIREDO et al., 2008).

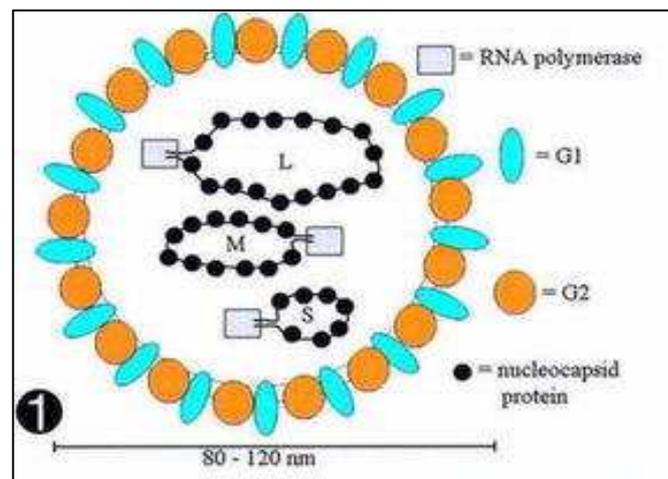


Figura 2. Desenho esquemático da estrutura viral do hantavírus. L, M e S: segmentos do RNA viral, Large, Medium e Small respectivamente que codificam para RNA polimerase (L), Proteínas de membrana G1 e G2 (M) e para a proteína N do nucleocapsídeo (S). Fonte: LEDNICKY, 2003.

Os hantavírus infectam roedores específicos e sua denominação deriva da região onde foram descritos pela primeira vez. Estudos filogenéticos sugerem que os hantavírus evoluíram com os respectivos hospedeiros reservatórios, de forma que cada variante viral está predominantemente associada a uma espécie de roedor em determinada região geográfica (PLYUSNIN; VAPALAHTI; VAHERI, 1996). O sequenciamento genômico é de grande importância nos estudos de múltiplas linhagens, uma vez que há uma grande distribuição geográfica dos hantavírus em todo o mundo (FERREIRA, 2003). Baseado no

sequenciamento, atualmente são conhecidas diversas variantes virais nas Américas. No Brasil, foram identificadas dez variantes, sendo oito associadas à SPCVH (Araraquara, Jucituba, Castelo dos Sonhos, Anajatuba, Araucária, Jaborá, Paranoá e Laguna negra-like) e duas linhagens (Rio Mearim e Rio Mamoré), até o momento, só foram detectadas em roedores (JOHNSON et al., 1999; MONROE et al., 1999; MENDES et al., 2001; SUZUKI et al., 2004; RABONI et al., 2005; ROSA et al., 2005; PADULA et al., 2007; BRASIL, 2009; MELO-SILVA et al., 2009; RABONI et al., 2009).

2.2 EPIDEMIOLOGIA E ECOLOGIA DAS HANTAVIROSES

2.2.1 RESERVATÓRIOS/HOSPEDEIROS

Os hospedeiros naturais para os hantavírus pertencem à ordem Rodentia, família Muridae das subfamílias Murinae e Arvicolinae, amplamente distribuídos no hemisfério Norte, enquanto os roedores da família Cricetidae, subfamília Sigmodontinae, são endêmicos apenas no continente americano (NOWAK, 1991; ROMANO-LIEBER; YEE; HJELLE, 2001; KATZ et al., 2001; LEMOS et al., 2004; SUZUKI et al., 2004; FIGUEIREDO et al., 2010). A maioria dos roedores/reservatórios dos hantavírus tem hábitos silvestres, exceto algumas espécies, como o *Rattus norvegicus*, adaptada aos ambientes urbanizados.

Os roedores possuem hábitos predominantemente noturnos, mas algumas espécies podem ser ativas durante o dia, a maioria tem potencial reprodutivo ao longo de todo o ano principalmente em áreas de temperatura elevada e o aumento da população contribui para a ocorrência de casos humanos (PINCELLI et al., 2003). O contexto ambiental, ecológico e as relações do homem com o ambiente além de eventos climáticos, frutificação da vegetação nativa e tipos de culturas agrícolas propiciando abrigo e alimentação fartos, contribuem para o aumento, manutenção e mudança comportamental dos roedores silvestres (ENRIA et al., 2004; PEREIRA, 2006). A presença de anticorpos em animais domésticos, principalmente predadores naturais de roedores, tais como cães e gatos, foi relatada, mas sem manifestações clínicas nem evidência de transmissão para o homem (ELKHOURY, 2007).

2.2.2 TRANSMISSÃO

Nos roedores a infecção por hantavírus é assintomática e aparentemente não letal, resultando em infecção crônica. Embora anticorpos neutralizantes sejam encontrados no soro, os vírus podem ser isolados principalmente de vísceras (pulmão, baço, rins e etc.) e parecem mais ativos quando eliminados em fezes e urina desses animais (LEE, et al., 1982; CHILDS; MILLS; GLASS, 1995; NICHOL, 1999). A transmissão horizontal, principalmente por contato direto, é o mecanismo mais importante de infecção entre os roedores, acontecendo normalmente durante encontros agressivos intra-específicos (PETERS, 1998; PADULA et al., 2004).

A doença é transmitida ao homem através da inalação de partículas virais presentes em aerossóis formados a partir de secreções e excreções de roedores infectados, e mais raramente através da mordedura de roedores, ingestão de água e alimentos contaminados, ou por escoriações cutâneas e contato do vírus com mucosas (Figura 3) (WELLS et al., 1997; ENRIA; LEVIS, 2004). Apesar de rara, a transmissão interhumana (vírus Andes) foi relatada na Argentina e no Chile, inclusive como transmissão hospitalar na Argentina. (WELLS et al., 1997; PADULA et al., 1998; MARTINEZ et al., 2005). A transmissão vertical relatada em casos de FHSR (LEE 1989), não foi confirmada (PARTANEN et al., 1990; HOWARD et al., 1999).

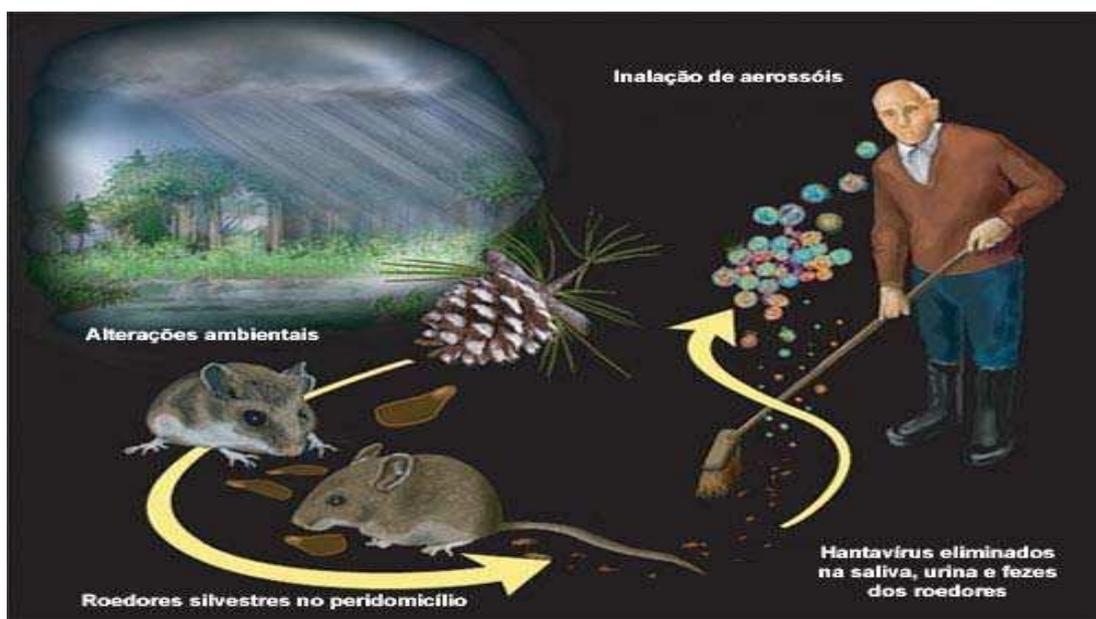


Figura 3. Ciclo epidemiológico de transmissão dos hantavírus. Fonte: adaptado de <http://www.nsf.gov/news/specialreports/eoinf/solved.jsp>

2.2.3 DISTRIBUIÇÃO GEOGRÁFICA

A distribuição viral pode acontecer em toda a área de ocorrência da espécie reservatária ou pode ser restrita a uma pequena secção geográfica. Estudos de filogenia sugerem que os hantavírus co-evoluíram com seus hospedeiros, de forma que a distribuição de uma espécie de roedor restringe a ocorrência de seu vírus específico (PLYUSNIN et al., 1996; MILLS; CHILDS, 1998). Contudo, pode haver ocorrência interespecífica como resultado de *spillover* quando uma espécie de roedor não reservatório adquire infecção secundária por um vírus não específico (MILLS et al., 1997; DELFRARO, 2008; PLYUSNIN et al., 2008; ZOU et al., 2008; TRAVASSOS-ROSA et al., 2010).

Os hantavírus encontram-se amplamente distribuídos em vários continentes, mas distinguem-se os “vírus do velho mundo”, endêmicos na Ásia e Europa e os “vírus do novo mundo”, predominantes nas Américas (quadro 1). O vírus associado à FHSR nas Américas é o vírus cosmopolita Seoul, introduzido provavelmente junto com a ratazana (*R. norvegicus*), roedor comensal proveniente da Eurásia (LEDUC et al., 1985; 1986). No continente americano, após a identificação do Sin Nombre nos EUA em 1993 (NICHOL, 1993), diversos hantavírus associados à SPCVH foram descritos (CHILDS et al., 1994; ELLIOTT et al., 1994; HJELLE et al., 1994; SONG; et al., 1994; ROLLIN et al., 1995).

Os sigmodontinos estão largamente distribuídos, adaptados a diferentes biomas no continente sul americano e no Brasil se encontram no Cerrado, Caatinga, Floresta Tropical Atlântica e Floresta Equatorial Amazônica, e cada um desses biomas apresenta roedores específicos adaptados àquele ambiente (AB’SABER, 1977) (Figura 4). As investigações eco-epidemiológicas e de soroprevalência identificaram prováveis espécies reservatórias e variantes virais em diferentes biomas brasileiros: Araraquara (*Necromys lasiurus*), Anajatuba (*Oligoryzomys fornesi*), Juquitiba (*Oligoryzomys nigripes*), Rio Mearim (*Holochilus sciurus*), Castelo dos Sonhos (*Oligoryzomys moojeni*), Rio Mamoré (*Oligoryzomys microtis*), Araucária (não identificado), Jaborá (*Akodon montensis*), Laguna negra-like (não identificado) e Paranoá (não identificado) (Figura 4) (JOHNSON et al., 1999; MONROE et al., 1999; MENDES et al., 2001; SUZUKI et al., 2004; RABONI et al., 2005; ROSA et al., 2005; PADULA et al., 2007; BRASIL, 2009; MELO-SILVA et al., 2009; RABONI et al., 2009).

QUADRO 1: Distribuição dos hantavírus mais importantes identificados, reservatórios e sua associação com a enfermidade humana.

Linhagem	Vírus	Distribuição	Roedor Reservatório	Enfermidade Humana
Velho Mundo	Hantaan	Ásia e Europa	<i>Apodemus agrarius</i>	FHSR grave
	Seoul	Cosmopolita	<i>Rattus norvegicus</i>	FHSR leve ou moderada
	Dobrava/ Belgrado	Europa	<i>Apodemus flavicollis</i>	FHSR grave
	Puumala	Europa Escandinávia, Rússia; Eslovênia	<i>Clethrionomys glareolus</i>	FHSR leve
Novo Mundo	Prospect Hill	América do Norte	<i>Microtus pennsylvanicus</i>	Desconhecida
	Sin Nombre	América do Norte	<i>Peromyscus maniculatus</i>	SPCVH
	Black Creek Canal	Estados Unidos	<i>Sigmodon hispidus</i>	SPCVH
	New York 1	Estados Unidos	<i>Peromyscus leucopus</i>	SPCVH
	El Moro Canyon	Estados Unidos	<i>Reithrodontomys megalotis</i>	Desconhecida
	Bayou	Sudeste dos Estados Unidos	<i>Oryzomys palustris</i>	SPCVH
	Bloodland Lake	América do Norte	<i>Microtus ochrogaster</i>	Desconhecida
	Isla Vista	Oeste dos Estados Unidos	<i>Microtus californicus</i>	Desconhecida
	Rio Segundo	Costa Rica; Panamá	<i>Reithrodontomys mexicanus</i>	Desconhecida
	Caño Delgadito	Venezuela	<i>Sigmodon alstoni</i>	Desconhecida
	Choclo	Panamá	<i>Oligoryzomys fulvescens</i>	SPCVH
	Pergamino	Argentina	<i>Akodon azarae</i>	Desconhecida
	Maciel	Argentina	<i>Bolomys obscurus</i>	Desconhecida
	Rio Mamoré	Bolívia/Brasil	<i>Oligoryzomys microtis</i>	Desconhecida
	Lechiguanas	Argentina	<i>Oligoryzomys flavescens</i>	SPCVH
	Bermejo	Argentina	<i>Oligoryzomys chacoensis</i>	SPCVH
	Laguna Negra símil	Argentina	<i>Calomys callosus</i>	SPCVH
	Laguna Negra	Paraguai	<i>Calomys laucha</i>	SPCVH
	Andes	Argentina; Chile	<i>Oligoryzomys longicaudatus</i>	SPCVH
	Oran	Argentina	<i>Oligoryzomys longicaudatus</i>	SPCVH
	Araraquara	Brasil	<i>Necromys lasiurus</i>	SPCVH
	Castelo dos Sonhos	Brasil	<i>Oligoryzomys moojeni</i>	SPCVH
	Juquitiba	Brasil	<i>Oligoryzomys nigripes</i>	SPCVH
	Anajatuba	Brasil	<i>Oligoryzomys fornesis</i>	SPCVH
	Rio Mearim	Brasil	<i>Holochilus sciurus</i>	Desconhecida
	Araucária	Brasil	<i>Desconhecido</i>	SPCVH
	Laguna negra-like	Brasil	<i>Desconhecido</i>	SPCVH
Jaborá	Brasil	<i>Akodon montensis</i>	SPCVH	
Paranoá	Brasil	<i>Desconhecido</i>	SPCVH	

FHSR: Febre Hemorrágica com Síndrome Renal

SPCVH: Síndrome Pulmonar Cardiovascular por Hantavírus

Fonte: Adaptado de ELKHOURY et al., 2005; ENRIA; LEVIS, 2004.

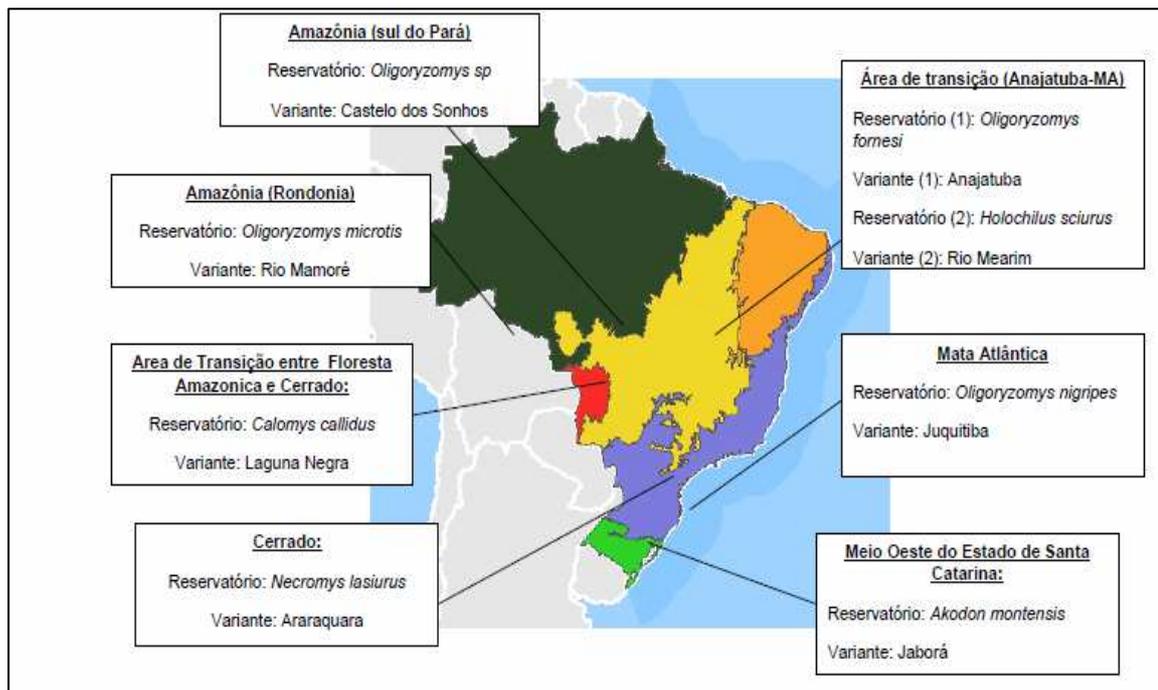


Figura 4: Biomas, prováveis reservatórios e variantes de hantavírus detectados no Brasil. Fonte: ELKHOURY et al., 2005; NUNES, 2010.

2.2.4 SITUAÇÃO DA HANTAVIROSE NO BRASIL

Antes da descrição da SPCVH nas Américas estudos sorológicos evidenciaram a presença de anticorpos anti-hantavírus em roedores de áreas urbanas das cidades de Belém, São Paulo, Recife e Olinda (LEDUC et al., 1986) e a partir de vísceras de *R. norvegicus* capturado em Belém (PA) foi isolado um vírus antigenicamente relacionado ao vírus cosmopolita Seoul (LEDUC et al., 1985; HINDRICHSEN et al., 1993; IVERSSON et al., 1994). Atualmente há evidência da circulação dos hantavírus em todas as regiões do Brasil. A figura 5 mostra as áreas de circulação dos hantavírus e áreas não afetadas.

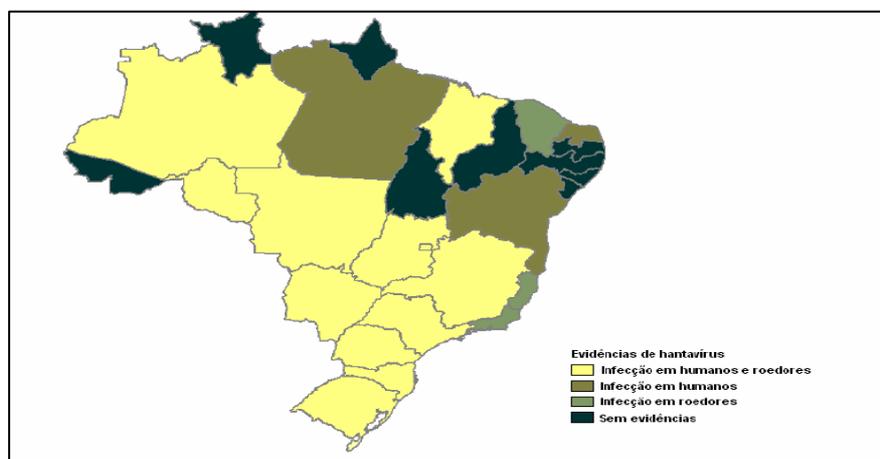


Figura 5: Evidência da circulação de hantavírus no Brasil: 1993 - 2010. Fonte: NUNES, 2010.

De 1993 a dezembro de 2010, foram notificados no Brasil 1.368 casos de SPCVH com 534 óbitos. Destes, 495 (36,18%) foram registrados na região Sul: 190 (41,39%) no Paraná, 225 (49,01%) em Santa Catarina e 80 (17,42%) no Rio Grande do Sul; 418 (30,55%) na região Sudeste: 171 (40,90%) em São Paulo e 247 (59,09%) em Minas Gerais; 337 (24,63%) na região Centro-Oeste: 196 (58,16%) no Mato Grosso, 61 (18,1%) em Goiás e 80 (23,73%) no Distrito Federal; 82 (5,99%) na região Norte: três (3,65%) em Rondônia, quatro (4,87%) no Amazonas e 75 (91,46%) no Pará e 14 (1,02%) no Nordeste: onze (78,57%) no Maranhão, dois (14,28%) no Rio Grande do Norte, e um (7,14%) na Bahia (Tabela 1). A taxa de letalidade é de cerca de 40% no país (MS/SVS, 2010) (Gráfico 1).

Vale salientar que em 2010 foram notificados 116 casos com 45 óbitos sendo a maior ocorrência na região Centro-Oeste (46 casos). Na região Nordeste nenhum caso foi notificado (MS/SVS, 2010). A maioria das ocorrências foi em indivíduos do sexo masculino que exercem atividades agrícolas e/ou de pecuária (BRASIL, 2009).

TABELA 1: Distribuição dos Casos e Óbitos por hantavírus no Brasil, por região. 1993-2010. Fonte: SVS/MS-2010.

Região	Casos	Óbitos
<i>Norte</i>	82	30
<i>Nordeste</i>	14	8
<i>Sul</i>	495	156
<i>Sudeste</i>	418	180
<i>Centro-Oeste</i>	337	149
<i>Localização Ignorado</i>	22	11

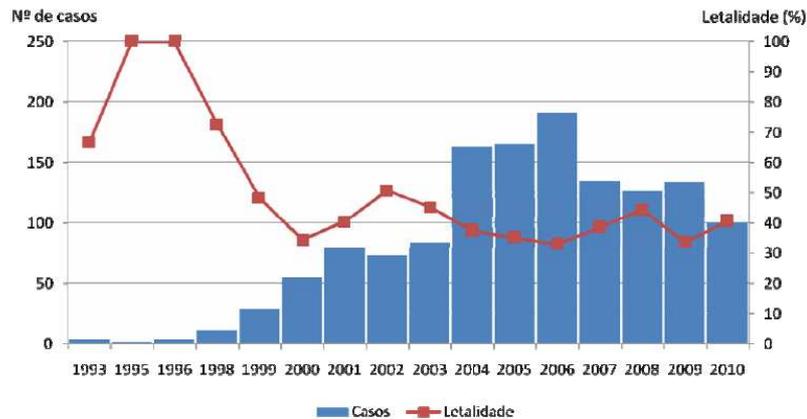


Gráfico 1: Hantavirose: casos e taxa de letalidade. Brasil, 1993-2010 (*). Fonte: MS/SVS, 2010. (*) Dados sujeitos à alteração.

O Ministério da Saúde mantém um programa de vigilância das hantavirose objetivando identificar os casos e conhecer os fatores de risco associados à doença, a fim de direcionar ações adequadas de controle e realizar investigação epidemiológica indispensáveis a esta zoonose emergente de distribuição mundial.

2.3 HANTAVÍRUS EM HUMANOS

2.3.1 MANIFESTAÇÕES CLÍNICAS

A doença causada pelos hantavírus pode se manifestar sob várias formas, e os humanos são considerados hospedeiros acidentais. As manifestações clínicas podem variar desde uma síndrome gripal, até quadros pulmonares e cardiovasculares mais severos e característicos, como as febres hemorrágicas com síndrome renal e síndrome pulmonar cardiovascular (HYELLE et al., 1996; BRASIL, 2009).

A FHSR inicia por uma fase febril (prodrômica) com sintomas semelhantes à influenza: febre, mal-estar, tremores e prostração, que dura de três a cinco dias. Durante esta fase podem ocorrer hemorragias, decorrente da dilatação dos capilares, e dores nas costas decorrentes do aumento da permeabilidade capilar (NICHOL, 2001). Seguem-se outros sinais como, hipotensão, trombocitopenia grave, náuseas, vômitos e choque; podendo também ocorrer oligúria. A insuficiência renal contribui para a metade dos óbitos durante esta fase. Os

sobreviventes entram em uma fase diurética, seguida da fase de convalescença, que pode durar de semanas a meses (NICHOL, 2001).

Na SPCVH, a infecção pode variar desde uma forma assintomática a quadros graves de comprometimento cardiovascular e respiratório de alta letalidade, atualmente em torno de 40% (BRASIL, 2009). O período de incubação varia de nove a 33 dias, com uma média de 15 dias (YOUNG et al., 2000), e nem todos os indivíduos que se infectam desenvolvem a doença (MASCARENHAS-BATISTA et al., 1998; CAMPOS et al., 2003). A SPCVH geralmente apresenta quatro fases clínicas distintas: a fase prodrômica que pode durar de três a seis dias, caracterizada por febre, mialgia, cefaléia, calafrios, dor abdominal, náuseas e diarreias, podendo se prolongar por até 15 dias e regredir. Nesse período pode ser confundida com outras doenças virais (NICHOL, 2001; BRASIL, 2009; CAMPOS et al., 2009). Quando surge tosse seca, ao final dessa primeira fase, suspeita-se da possibilidade de ser o início de uma forma clínica mais severa, a fase cardiopulmonar, que se caracteriza por, taquipnéia, dispnéia e hipoxemia. Nas formas graves há evolução rapidamente para insuficiência respiratória aguda associada com hipotensão, edema pulmonar não-cardiogênico, distensão abdominal e, possível manifestação hemorrágica. Pode estar presente algum comprometimento renal, mas em geral é leve a moderado, podendo evoluir para insuficiência renal. O óbito ocorre, mais comumente, entre quatro a seis dias após o início dos sintomas das formas graves na fase cardiopulmonar (SAGGIORO et al., 2007; BRASIL, 2009).

Nos sobreviventes, ocorre subitamente a fase diurética, na qual há reabsorção do líquido retido, e posteriormente a fase de convalescença, que consiste no período de recuperação dos pacientes (LEMOS; SILVA, 2005).

2.3.2 TRATAMENTO

Ainda não há terapêutica antiviral comprovadamente eficaz contra a SPCVH (BRASIL, 2009). A manutenção do estado geral e o atento acompanhamento dos sinais vitais dos pacientes com quadro clínico compatível com a SPCVH têm sido as medidas de suporte utilizadas, assim como a admissão imediata em unidades de terapia intensiva (UTI) (LEMOS; SILVA, 2005; MURANYI et al., 2005).

As medidas devem englobar os possíveis diagnósticos diferenciais, com cobertura antibiótica de amplo espectro quando necessário; adequada oxigenação e monitoramento da função hemodinâmica; acesso venoso, evitando-se a administração excessiva de líquidos por via endovenosa; controle do estado cardiovascular; mobilização adequada sem causar desgaste físico aos pacientes; assim como a utilização de barreiras de proteção (avental, luvas e máscara dotadas de filtros N95) (BRASIL, 2009). O uso de drogas vasoativas frequentemente se faz necessário, como também os corticosteróides, que provavelmente atuam diminuindo a liberação de citocinas, as quais participam no processo inflamatório, estimulando a produção de surfactante pelos pneumócitos, no caso de um quadro de pneumonite.

Estudos sobre a terapia intravenosa com ribavirina em pacientes com FHSR mostram uma considerável queda na taxa de letalidade quando a droga é administrada precocemente (HUGGINS et al., 1991) porém ainda não há resultados conclusivos quanto à utilização da droga no tratamento da SPCVH que não parece eficaz (KHAN; YOUNG, 2001; MURANYI et al., 2005). A administração de vacinas tem sido objeto de estudos. A imunização passiva utilizando vírus Hantaan (HTNV) inativado está disponível na Coreia desde 1990 (LEE, 1990), mas nenhuma vacina capaz de conferir proteção cruzada e capaz de cobrir todas as variantes dos hantavírus, principalmente as causadoras da SPCVH, ainda não foi validada (SCHMALJOHN, 2009).

2.4 DIAGNÓSTICO LABORATORIAL DA HANTAVIROSE

O diagnóstico laboratorial da SPCVH no Brasil é realizado principalmente por testes sorológicos (NICHOL, 2001) sendo mais frequente o ELISA indireto para detecção de anticorpos IgG ou pelo método de captura, para detecção de anticorpos IgM utilizando antígenos dos vírus Sin Nombre e Andes de ocorrência nos Estados Unidos e Argentina

respectivamente ou Araraquara e Araucária circulantes no Brasil (FELDMANN et al., 1993; PADULA et al., 2000; RABONI et al., 2007; FIGUEIREDO et al., 2009). Esses métodos são altamente sensíveis e específicos e têm sido empregados rotineiramente na investigação de casos suspeitos de hantavirose em laboratórios de referência (NICHOL, 2001; PETERS; KHAN, 2002; LEDNICKY 2003). Os antígenos são produzidos por purificação direta do material viral após inativação ou, preferencialmente, por clonagem e expressão de genes virais que passam a produzir uma proteína antigênica em sistemas procarióticos como *Escherichia coli* ou eucarióticos como a *Drosophila* (HJELLE et al., 1997; KALLIO-KOKKO et al., 1998; PADULA et al., 2000). A proteína N tem sido utilizada por ser um alvo antigênico mais sensível do que as glicoproteínas, e também por induzir inicialmente uma resposta humoral mais intensa, precoce e duradoura (KALLIO-KOKKO et al., 1993). No entanto, as glicoproteínas G1 e G2 do envelope também têm sido utilizadas.

Outros métodos são a imunohistoquímica, utilizada principalmente em estudos retrospectivos, com materiais de necropsia de casos fatais de SPCVH; e o isolamento viral em culturas de células VERO E6, oriundas de rim de macaco verde africano. Estas técnicas são complexas e bastante restritas, principalmente pelo risco na manipulação dos vírus, além de serem de execução demorada, e exigem infra-estrutura e pessoal técnico treinado, possuem baixa sensibilidade (NICHOL, 2001; PETERS; KHAN, 2002). Outras técnicas menos utilizadas são a imunofluorescência indireta e o westernblot (HJELLE et al., 1994).

As técnicas de biologia molecular, como a RT-PCR, que permitem a detecção do RNA viral têm se revelado valiosas para o diagnóstico das hantavirose. A RT-PCR é um método bastante sensível para o diagnóstico da infecção aguda por hantavírus, em combinação com o sequenciamento do DNA, oferece um nível de especificidade superior ao dos métodos imunológicos para a detecção e caracterização genética dos hantavírus (NICHOL et al., 1993; HJELLE et al., 1994).

2.5 MEDIDAS DE PREVENÇÃO E CONTROLE

Considerando a ineficácia do controle das hantaviroses pela eliminação dos roedores reservatórios devido à abundância das espécies hospedeiras, sua grande dispersão e principalmente, pelo desequilíbrio ecológico que tal medida acarretaria (FERREIRA, 2003) outras medidas devem ser tomadas para evitar a instalação e proliferação desses animais no peridomicílio e domicílio tais como: eliminar todos os resíduos, entulhos e objetos que possam servir como tocas ou ninhos, reduzir fontes de água ou alimentos, vedar fendas ou aberturas nas habitações humanas ou construções para armazenamento de grãos ou rações para impedir a entrada dos roedores (FERREIRA, 2003; BRASIL, 2009).

É de extrema importância a educação em saúde a população das áreas rurais e os profissionais que atuam em áreas de transmissão, devem ser orientados quanto à gravidade da doença, os meios de transmissão e as medidas de prevenção e tratamento (FERREIRA, 2003). Atividades relacionadas ao ecoturismo, caça, pesca, desenvolvidas em áreas rurais ou florestais onde haja possibilidade de transmissão, exigem cuidados, como por exemplo, os acampamentos devem ser montados longe de locais com presença de roedores, cabanas ou abrigos que tenham permanecido fechados ou com sinais evidentes da presença dos reservatórios, só devem ser usados após arejados e corretamente descontaminados (BRASIL, 2009) salientando-se que os hantavírus são sensíveis aos desinfetantes (hipoclorito, detergentes), álcool etílico (70%), éter e clorofórmio.

Manipulação de roedores, amostras obtidas dos possíveis infectados, armadilhas ou ambientes contaminados, assim como trabalho com material anatomopatológico devem ser realizados seguindo estritas medidas de proteção. Os hantavírus e a *Y. pestis* são organismos patogênicos classificados na classe de risco 3 (BRASIL, 2010), exigindo medidas de biossegurança adequadas nas atividades, como o uso de Equipamentos de Proteção Individual (EPI's), destacando as máscaras com pressão positiva e filtro P3, luvas descartáveis, avental cirúrgico, macacão, botas de borracha ou calçados adequados, dependendo do local de trabalho, se no laboratório ou no campo (Figura 6). Sendo assim, essas atividades precisam ser realizadas sempre respeitando as normas de biossegurança, a fim de garantir a qualidade das pesquisas e das atividades de vigilância (BRASIL, 2010).



(a)



(b)

Figura 6: Equipamento de proteção individual (EPI) utilizado para manipulação de roedores em campo (a) e captura de roedores (b). Atividades realizadas durante investigação ecoepidemiológica no município de Campo Verde-MT em junho de 2010. Fonte: autor.

2.6 A PESTE

2.6.1 A DOENÇA

A peste é uma zoonose focal primordialmente de roedores, causada pela bactéria gram-negativa *Yersinia pestis*, e transmitida geralmente pela picada de pulgas infectadas. A pulga *Xenopsylla cheopis*, por sua capacidade de “bloqueio do proventrículo”, larga distribuição geográfica e historicamente se confundir com a doença foi considerada o principal vetor da peste. Atualmente, porém, outros mecanismos de transmissão da *Y. pestis* são reconhecidos e a importância do mecanismo de transmissão varia de acordo com a espécie do vetor envolvida e os diferentes estágios epizootiológicos. Mais de 200 espécies de pulgas já foram encontradas infectadas com a *Y. pestis*, demonstrando a importância dessas espécies na manutenção da doença nos focos e também para sua disseminação para outras áreas, pois podem ser carregadas em objetos pessoais ou mesmo por animais domésticos parasitados. No Brasil as espécies *Polygenis bohlsi* e *P. tripus* (pulgas de roedores silvestres) foram mais frequentemente encontradas naturalmente infectadas pela *Y. pestis* seguindo-se a *X. cheopis*, *Pulex irritans* e *Ctenocephalides felis* (TAVARES, 2007). Originária provavelmente do

Planalto Central Asiático, a peste expandiu-se para todo o mundo ao longo de três pandemias (PERRY; FETHERSTON, 1997) e continua representando uma ameaça global pela persistência de numerosos focos naturais em diversos países da África, Ásia e Américas, além do risco de utilização do bacilo como arma biológica em ataques terroristas. A peste é atualmente considerada uma doença reemergente pela Organização Mundial de Saúde, com uma aparente tendência para o aumento de sua incidência e dispersão geográfica (STENSETH et al., 2008; WHO, 2010).

A doença no homem se manifesta sob três formas clínicas principais: a bubônica, a pneumônica e a septicêmica. Além da picada das pulgas a transmissão pode ocorrer pela via sanguínea, pela pele, pela conjuntiva ocular ou através das mucosas respiratórias e digestivas. A inoculação do bacilo pela conjuntiva ocular determina a peste septicêmica, enquanto a via subcutânea reproduz a peste bubônica e pela via respiratória a peste pneumônica. O homem é infectado acidentalmente quando penetra no ecossistema dos roedores reservatórios da infecção, em atividades de caça, agricultura, ou lazer. Em circunstâncias especiais a peste pode ser transmitida de homem a homem (PERRY; FETHERSTON, 1997).

A peste chegou ao Brasil através do porto de Santos no estado de São Paulo, durante a última pandemia em outubro de 1899 e logo alcançou várias cidades litorâneas (peste portuária). Em seguida pelas estradas de ferro e outras vias, atingiu várias cidades do interior (peste urbana), de onde foi eliminada por medidas sanitárias adequadas, mas fixou-se na zona rural principalmente na região Nordeste onde encontrou condições ecológicas adequadas para a sobrevivência do bacilo e sua transmissão pela existência de roedores reservatórios e pulgas vetores (BALTAZARD, 1968; GILES et al., 2011).

Até a década de 1970, o número de casos humanos de peste notificados anualmente nesses focos variou entre 20 a 100. Depois todos os focos tenderam para quiescência, alguns desde os anos 1970 e os outros desde os anos 1980 e os últimos surtos ocorreram nos estados do Ceará e da Paraíba na década de 1980. Desde os anos 1990 as ocorrências de peste humana no Brasil limitam-se a raros e esporádicos casos nas áreas pestíferas do Ceará sendo o último em 2005 e foi inicialmente confundido com Dengue. A circulação da bactéria nos focos tem sido confirmada pelo monitoramento sorológico de animais sentinela/indicadores (roedores e carnívoros domésticos) nas áreas pesquisadas. A presença de anticorpos antipestosos significa que a peste ainda representa uma ameaça real e permanente de acometimento humano nessas regiões, podendo ser estendida para outros lugares, inclusive centros urbanos, e determinar sérias consequências médicas e socioeconômicas justificando a manutenção de uma vigilância contínua para atender as recomendações do regulamento sanitário internacional (RSI). O RSI,

implementado em 2007 enfatiza a prevenção da propagação internacional de doenças e a manutenção das condições de segurança do tráfego internacional. Pelo potencial de gerar uma situação de emergência de saúde pública internacional a peste deve ser imediatamente notificada aos níveis local, nacional e dependendo do resultado do algoritmo, à Organização Mundial da Saúde (ALMEIDA et al., 1989; ARAGÃO et al., 2007; 2009).

A cadeia epidemiológica da peste é complexa e envolve diferentes populações de roedores e pulgas (Figura 7). Os roedores são os principais reservatórios, estima-se que cerca de 200 espécies estejam envolvidas no ciclo epidemiológico da doença. Em graus variáveis todos os roedores são susceptíveis à infecção pestosa, inclusive as espécies associadas à hantavirose. Cada foco pode apresentar uma fauna distinta de roedores e pulgas. Nos diversos focos do mundo, os roedores hospedeiros/ reservatórios da peste pertencem a várias famílias e gêneros: nos focos africanos, os Muridae (*Tatera*, *Desmodillus*, *Mastomys*); na Ásia Central, Muridae (*Meriones*, *Tatera*, *Bandicota*), Sciuridae (*Citellus*, *Marmota*); nos EUA, Sciuridae (*Cynomys*, *Spermophilus*) e nos focos da América do Sul, Sigmodontinae e Cavidae. O *Necromys lasiurus* (= *Bolomys lasiurus**) (Sigmodontinae), foi apontado como amplificador da peste nos focos do Nordeste do Brasil. Os ratos (*Rattus rattus*), roedores sinantrópicos comensais (Muridae), existem em quase todos os focos do mundo e servem de hospedeiro intermediário, transportando os bacilos. Além dos roedores, outros mamíferos são susceptíveis à peste: lagomorfos (coelhos e lebres), primatas não humanos, alguns insetívoros (musaranho, porco-espinho), camelos, carnívoros selvagens (raposas, gambás) e domésticos (cães e gatos). Os carnívoros domésticos, cães e gatos, predadores dos roedores, além de desenvolver a infecção também podem carrear pulgas de roedores silvestres infectadas pela *Y. pestis*, para dentro de casa e transmitir a doença por arranhaduras e mordidas. As aves são refratárias à infecção pela *Y. pestis*, mas podem, principalmente as de rapina e outras que utilizam tocas dos roedores para ninho, carregar pulgas e transportar carcaças infectadas contribuindo para a disseminação da infecção (GAGE; KOSOY, 2004; STENSETH et al., 2008).

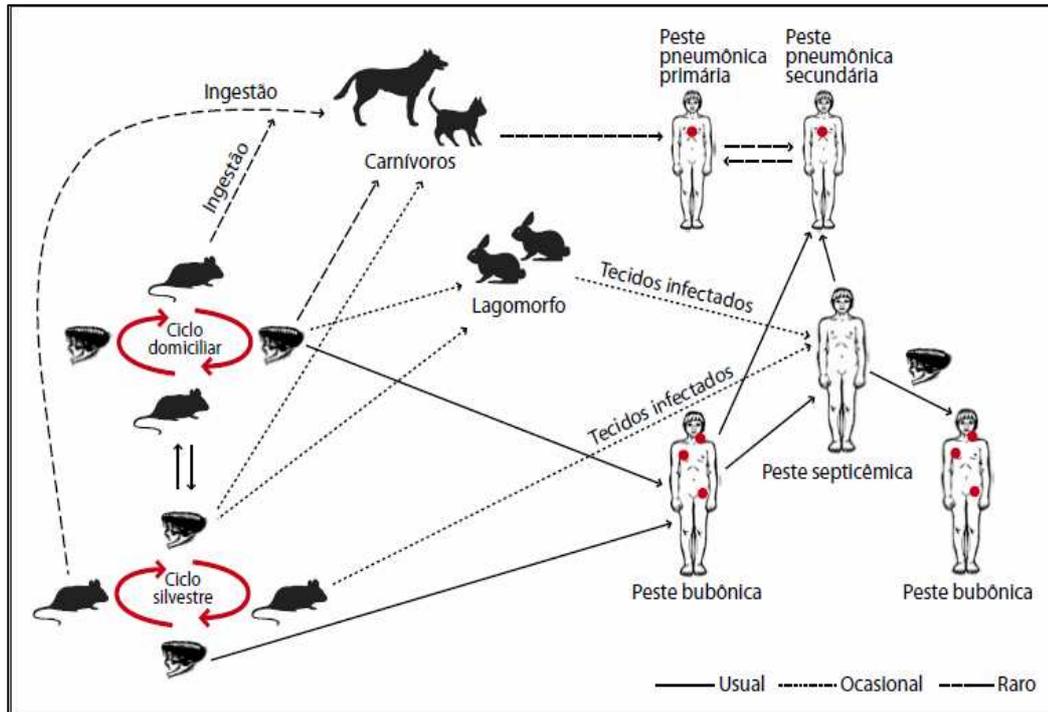


Figura 7: Esquema do ciclo epidemiológico da Peste. Fonte: BRASIL, 2008.

2.6.2 Os focos de peste do Brasil

No Brasil existem dois focos naturais de peste: o do Nordeste e o da Serra dos Órgãos. O foco do Nordeste estende-se pela zona semi-árida do estado do Ceará ao Norte de Minas Gerais. As áreas pestíferas estão situadas em regiões serranas como a Serra da Ibiapaba e de Baturité (Ceará), Chapada do Araripe (Pernambuco, Ceará e Piauí), Chapada da Borborema (Rio Grande do Norte, Paraíba, Pernambuco e Alagoas), na Serra de Triunfo (Paraíba e Pernambuco), Planalto Oriental (Bahia), Vale do Rio Doce e piemonte da Chapada Diamantina (Minas Gerais). O foco da Serra dos Órgãos abrange os municípios de Teresópolis, Sumidouro e Nova Friburgo, do estado do Rio de Janeiro (BRASIL, 2008) (Figura 8).

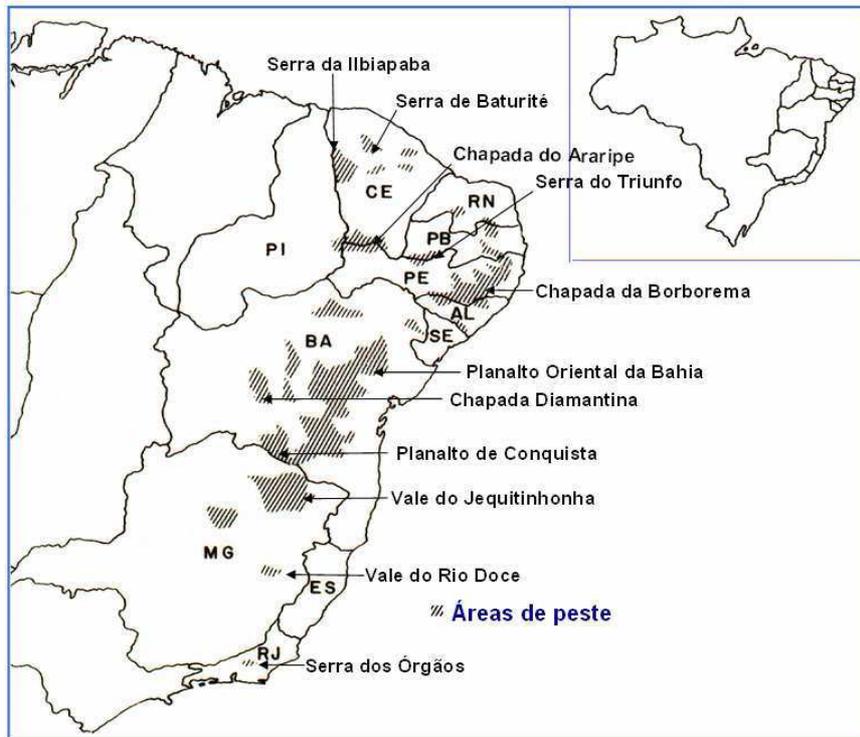


Figura 8: Áreas de peste no Brasil. Fonte: BRASIL, 2008.

As áreas focais devem ser mantidas sob contínua vigilância, para atender as recomendações do regulamento sanitário internacional (RSI) que enfatiza a prevenção da propagação internacional de doenças e a manutenção das condições de segurança do tráfego internacional (STENSETH et al., 2008).

A peste e as hantavirose apresentam sobreposição de condições epidemiológicas inclusive de reservatórios, pois as espécies de roedores reservatórios das hantavirose também ocorrem nas áreas pestíferas (quadro 2).

QUADRO 2. Principais roedores dos focos de peste do Nordeste do Brasil.

Família	Subfamília	Gênero, species
Muridae	Murinae* (sinantrópicos comensais)	<i>Rattus rattus</i> , <i>Rattus norvegicus</i> , <i>Mus musculus</i>
	Sigmodontinae* (sinantrópicos silvestres)	<i>Akodon</i> , <i>Necomys</i> , <i>Calomys</i> , <i>Holochilus</i> , <i>Nectomys</i> , <i>Oligoryzomys</i> , <i>Cerradomys</i> (= <i>Oryzomys</i>), <i>Oxymycterus</i> , <i>Rhipidomys</i> , <i>Wiedomys</i>
Caviidae	---	<i>Cavia</i> , <i>Galea</i> , <i>Kerodon</i>
Echimydae	---	<i>Thrichomys</i> , <i>Proechimys</i>

* Possíveis hospedeiros de hantavírus
Fonte: BRASIL, 2008.

2.6.3 Diagnóstico laboratorial da peste

O diagnóstico laboratorial da peste é realizado tradicionalmente por métodos bacteriológicos e sorológicos. Entre as técnicas sorológicas a Hemaglutinação com hemácias de carneiro (HA) controlada pela Inibição da Hemaglutinação (HI), é amplamente utilizada para o diagnóstico de casos humanos, rastreamento da peste em roedores e em inquéritos sorológicos para delimitação dos focos (BRASIL, 2008). Entre as técnicas bacteriológicas o isolamento e identificação da *Y. pestis* por cultura constitui o diagnóstico de certeza. Outros testes como Imunofluorescência direta (IFD) e detecção do antígeno F1 por reação imunocromogênica em fita reagente são usados para diagnóstico presuntivo. Numerosas técnicas baseadas em PCR apesar de rápidas e sensíveis já foram desenvolvidas, mas ainda não são admitidas como critério único de diagnóstico de peste.

3 REFERÊNCIAS

AB'SABER, A. N. Os domínios morfoclimáticos na América do Sul. **Boletim do Instituto de Geografia da Universidade de São Paulo**. 52:1-21, 1977.

ALMEIDA, A. M. P. et al. Estudos bacteriológicos e sorológicos de um surto de peste no Estado da Paraíba, Brasil. **Mem Inst Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 84, p. 249-256, 1989.

ARAGÃO, A. I. et al. Tendência Secular da Peste no Estado do Ceará, Brasil. **Cad S Publ**, 23: 715-724, 2007.

ARAGÃO, A. I. et al. Prevalência de anticorpos contra *Yersinia pestis* em carnívoros domésticos nos focos pestosos do Estado do Ceará. **Rev Soc Bras Med Trop**, Brasília, v. 42, p. 711-715, 2009.

BALTAZARD, M. Viagem de estudo ao Brasil para a organização de um projeto de pesquisas sobre a peste. **Rev Bras Malariol Doenç Trop**, Brasília, v. 20, p. 335-366, 1968.

BRASIL. Fundação Nacional da Saúde. **Manual de Vigilância e Controle de Peste**, Brasília DF: Ministério da Saúde. (Série A: Normas e Manuais Técnicos). 2008.

BRASIL. Secretaria de Vigilância em Saúde. **Guia de Vigilância Epidemiológica**. 7ª edição, Brasília, DF: Ministério da Saúde. (Série A. Normas e Manuais Técnicos). 2009.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Biossegurança em saúde : prioridades e estratégias de ação**. MS/ Organização Pan-Americana da Saúde. – Brasília, DF : Ministério da Saúde, 2010.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Portaria Nº 104, de 25 de Janeiro de 2011**. Disponível em: http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/gm/2011/prt0104_25_01_2011.html. Acesso em 28 fev. 2011.

CAMPOS, G. M. et al. Serological survey of hantavirus in Jardinópolis Count, Brasil. **J Med Virol**, New York, v. 71, p. 417-422, 2003.

CAMPOS, G. M. et al. Síndrome pulmonar e cardiovascular por hantavírus: aspectos clínicos de uma doença emergente no sudeste brasileiro. **Rev Soc Bras Med Trop**, Brasília, v. 43, p. 282-289, 2009.

CHILDS, J.E. et al. Serologic and genetic identification of *Peromyscus maniculatus* as the primary rodent reservoir for a new hantavirus in the southwestern United States. **J Infect Dis**, v. 169, n. 6, p. 1271- 1280, Jun 1994.

CHILDS J. E; MILLS J. N; GLASS F. E. Rodent borne hemorrhagic fever viruses: A special risk for mammalogists. **J Mammal**. 76(3):664-680, 1995.

- DELFRARO, A. et al. Juquitiba-like hantavirus from 2 nonrelated rodent species, Uruguay. **Emerg Infect Dis**, Atlanta, v. 14, p. 1-9, 2008.
- ERLICH, H. A.; GELFAND, D.; SNINSKY, J. J. Recent advances in the Polymerase Chain Reaction, **Science**, Washington, v. 252, n. 5013, p. 1643-1651, 1991.
- ELLIOT, R. M. et al. Isolation of the causative agent of Hantavirus Pulmonary Syndrome. **Am J Trop Med Hyg**, v. 51, N. 1, p. 102-108, Jul.1994.
- ELLIOT, R. M. et al. In: Van M.H.V et al., editors. **Virus Taxonomy**. Seventh Report of the International Committee on Taxonomy Viruses. San Diego: Academic Press. p. 599-640, 2000.
- ELKHOURY, M. R. et al. Aspectos epidemiológicos da infecção e da patogenicidade por hantavírus no Brasil (2004). **Boletim Eletrônico Epidemiológico**, n. 2005. Disponível em: <http://www.saude.gov.br/svs>. Acesso em: 13 de nov. 2010.
- ELKHOURY, M. R. Estudo da Síndrome Cardiopulmonar por hantavírus: epidemiologia e fatores prognósticos para óbito dos casos notificados no Brasil. **[Dissertação de mestrado]**. Universidade Federal da Bahia. Brasília, 2007.
- ENRIA, D. A.; LEVIS, S. C. Emerging viral zoonoses: hantavirus infections. **Rev Sci Technol**, v. 23, n. 2, p. 595-611, Aug. 2004.
- FAUQUET, C. M. et al. Bunyaviridae. In: **Virus Taxonomy**: Classification and nomenclature of viruses. Eighth report of the International Committee on the Taxonomy of Viruses. San Diego, California: Elsevier Academic Press, p: 695-723, 2005.
- FELDMANN, H. et al. Utilization of autopsy RNA for the synthesis of the nucleocapsid antigen of a newly recognized virus associated with hantavirus pulmonary syndrome. **Virus Res**, Amsterdam, v. 30, p. 351-367, 1993.
- FERREIRA, M.S. Hantavírus. **Rev Soc Bras Med Trop**. 36(1): 81-96, jan-fev, 2003.
- FIGUEIREDO, L.T.M et al. Síndrome pulmonar e cardiovascular por Hantavírus: aspectos epidemiológicos, clínicos, do diagnóstico laboratorial e do tratamento. **Rev Soc Bras Med Trop**. 34(1): 13-23, jan-fev, 2001.
- FIGUEIREDO, L. T. M. et al. Expression of a hantavirus N protein and its efficacy as antigen in immune assays. **Braz J Med Biol Res**, Ribeirão Preto, v. 41, p. 596-599, 2008.
- FIGUEIREDO, L. T. M. et al. Evaluation of an Enzyme-Linked Immunosorbent Assay based on Araraquara Virus Recombinant Nucleocapsid Protein. **Am J Trop Med Hyg**, Baltimore, v. 81, p. 273-276, 2009.

FIGUEIREDO, G.G. et al. Diagnóstico de infecção por hantavírus em humanos e roedores em Ribeirão Preto, Estado de São Paulo. **Rev Soc Bras Med Trop.** 43(4):348-354, jul-ago, 2010.

GAGE, K. L.; KOSOY, M. Y. Natural history of plague: perspectives from more than a century of research. **Ann Rev Entomol**, Palo Alto, v. 50, p. 505-528, 2004.

GILES, J.; PETERSON, A. T. P; ALMEIDA A. M. P. Ecology and geography of plague transmission areas in northeastern Brazil. **PLoS Negl Trop Dis**, 5(1): e925, jan, 2011.

HINDRICHSEN, S. M. L. et al. Hantavirus infection in brazilian patients from Recife with suspected leptospirosis. **Lancet**, London, p. 341, p. 350, 1993.

HJELLE, B. et al. Novel hantavirus associated with an outbreak of fatal respiratory disease in the southwestern United States: Evolutionary relationships to known hantaviruses. **J Virol.** v. 68, n. 2, p. 592-596, 1994.

HJELLE, B. et al. Rapid and specific detection of Sin Nombre virus antibodies in patients with hantavirus pulmonary syndrome by a strip immunoblot assay suitable for field diagnosis. **J Clin Microbiol.**, Washington, v.35, n.3, p.600-608, 1997.

HUGGINS, J. W.; HSIANG, C. M.; COSGRIFF, T. M. Prospective, Double-blind, concurrent, placebo-controlled clinical trial of intravenous ribavirin therapy for hemorrhagic fever with renal syndrome. **J Infect Dis**, v. 164, p. 119-127, jul. 1991.

HYELLE, B. et al. Hantavirus pulmonary syndrome, renal insufficiency and myositis associated with infection by Bayou Hantavirus. **Clin Infect Dis.** 23: 495-500, 1996.

HOWARD, M. J. et al. Hantavirus pulmonary syndrome in pregnancy. **Clin Infect Dis.** v. 29, p. 1538-1544, Dec. 1999.

IVERSSON, L. B. et al. Infecção humana por hantavírus no sul e sudeste do Brasil. **Rev Assoc Med Bras**, São Paulo, v. 40, p. 85-92, 1994.

JOHNSON, A. M. et al. Genetic investigation of novel hantaviruses causing fatal HPS in Brazil. **J Med Virol**, New York, v. 59, p. 527-535, 1999.

KALLIO-KOKKO, H. et al. Puumala virus antibody and immunoglobulin G avidity assays based on a recombinant nucleocapsid antigen. **J Clin Microbiol.**, Washington, v.31, n.3, p.677-680, 1993.

KALLIO-KOKKO, H. et al. Evaluation of Puumala virus IgG and IgM immunoassay based on recombinant baculovirus-expressed nucleocapsid protein for early nephropathia epidemic diagnosis. **Clin Diagn Virol.**, Amsterdam, v.10, p.83-90, 1998.

KATZ, G. et al. Hantavirus pulmonary syndrome in the State of Sao Paulo, Brazil, 1993-1998. **J Vect Born Dis**, Delhi, v. 1, p. 181-190, 2001.

KHAN A. S.; YOUNG J. C. Hantavirus pulmonary syndrome: at the crossroads. *Curr Opin Infect Dis*. 14(2): 205-9, 2001.

LEDNICKY, J. A.; Hantaviruses: a short review. *Arch Pathol Lab Med*. v. 127, p. 30-35, Jan. 2003.

LEE, H. W.; LEE, P. W.; JOHNSON, K. M. Isolation of the etiologic agent of Korean Hemorrhagic fever. *J Infect Dis*, Chicago, v.137, p. 298-308, 1978.

LEE, H. W.; BAEK, L. J.; JOHNSON, K. M. Isolation of Hantaan virus, the etiologic agent of Korean hemorrhagic fever, from wild urban rats. *J Infect Dis*, v. 146, n. 5, p 638-644, Nov. 1982.

LEE, H. W. Hemorrhagic fever with renal syndrome in Korea. *Rev Infect Dis*, v. 11, p. 864-876, 1989.

LEE, H.W.; AN, C.N.; SONG, J.W. Field trial of an inactivated vaccine against hemorrhagic fever with renal syndrome. *Arch Virol*, Viena, Suppl 1, p.35-47, 1990.

LEDUC, J. W. et al. Isolation of a Hantaan-related virus from Brazilian rats and serological evidence of its widespread distribution in South America. *Am J Trop Med Hyg*, Baltimore, v. 34, p. 810-815, 1985.

LEDUC, J. W. et al. Global survey of antibody to Hantaan-related viruses among peridomestic rodents. *Bulletin of the World Health Organization*, v. 64, n. 1, p. 139-144, 1986.

LEMOS, E. R. S. et al. Evidence of hantavirus infection in wild rodents captured in a rural area of the state of São Paulo, Brazil. *Pesq Vet Bras*, Rio de Janeiro, v. 24, p. 71-73, 2004.

LEMOS, E. R. S.; SILVA, M. V. Hantavírus. In: Coura J.R. (ed.) *Dinâmica das Doenças Infecciosas e Parasitárias*. Ed. Guanabara Koogan S.A., Rio de Janeiro. p. 1845-1853, 2005.

MASCARENHAS-BATISTA, A. V. et al. Anticorpos anti-hantavírus em escolares de Salvador, Bahia. *Rev Soc Bras Med Trop*, Brasília, v. 31, p. 433-440, 1998.

MARTINEZ, V. P. et al. Person-to-Person Transmission of Andes Virus. *Emerg infect Dis*, Atlanta, v. 11, 2005.

MELO-SILVA, C. et al Characterization of hantaviruses circulating in Central Brazil. *Infect Gent Evol*. Amsterdam, v, 9, p. 241-247, 2009.

MENDES, W. S. et al. Hantavírus pulmonary syndrome in Anajatuba, Maranhão, Brazil. *Rev Inst Med Trop S Paulo*. São Paulo, v. 43, p. 237-240, 2001.

MILLS, J. N. et al. Patterns of association with host and habitat: Antibody reactive with Sin Nombre virus in small mammals in the major biotic communities of the southwestern United States. **Am J Trop Med Hyg.** v. 56, n. 3, p. 273-284, 1997.

MILLS, J. N.; CHILDS, J. E. Ecologic studies of rodent reservoirs: their relevance for human health. **Emerg Infect Dis.** 4:529-537, 1998.

MONROE, M. C. et al Genetic diversity and distribution of Peromyscus-borne hantaviruses in North America. **Emerg infect Dis**, Atlanta , v. 5, p. 75-86, 1999.

MS/SVS. Ministério da Saúde-Secretaria de Vigilância em Saúde. **Casos e óbitos por Hantavirose por Unidade Federada. Brasil, 1993-2010.** 2010, Disponível em: <http://www.saude.gov.br/svs>. Acesso em: 04 jan. 2011.

MURANYI, W. et al. Hantavirus infection. **J Am Soc Nephrol**, Baltimore, v. 16, p. 3669-3679, 2005.

NICHOL, S. T. et al. Genetic identification of a hantavirus associated with an outbreak of acute respiratory illness. **Science**, Washington, v. 262, p.914-917, 1993.

NICHOL, S. T. Genetic analysis of hantaviruses and their host relationships. In: Saluzzo J. F.; Dodet, B. (eds). Emergence and control of rodent-borne viral diseases. **Elsevier**, Paris, p. 99-109, 1999.

NICHOL, S.T. Bunyaviruses. In: KNIPE, A.M.; HOWLEY, P.M. **Field's Virology**. 4.ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins. v.2. p.1603-1633, 2001.

NOLTE, K.B. et al. Hantavirus pulmonary syndrome in the United States: a pathological description of a disease caused by a new agent. **Hum. Pathol.**, Philadelphia, v.26, n.1, p.110-120, 1995.

NOWAK, R. M. Walker's mammals of the world. 5 ed. Baltimore: **Johns Hopkins Univ Press**, 1991.

NUNES, M. L. Vigilância da Hantavirose no Brasil e no estado de Goiás. **Seminário de hantavirose e leptospirose.** 2010. Disponível em: <http://www.sgc.goias.gov.br>. Acesso em: 14 jan. 2011.

WHO/WORLD HEALTH ORGANIZATION. Human Plague: review of regional mortality, 2004-2009, **Wkly. Epidemiol Rec, Geneva**, v. 85, p. 40-45, 2010.

PADULA, P. et al Hantavirus pulmonary syndrome outbreak in Argentina: Molecular evidence for person-to-person transmission of Andes virus. **Virology**, New York, v. 241, p. 323-330, 1998.

PADULA, P. Development and evaluation of a solid-phase enzyme immunoassay based on Andes hantavirus recombinant nucleoprotein. **J. Med Microbiol**, Edinburgh, v. 49, p. 149-155, 2000.

PADULA, P. et al. Transmission study of andes hantavirus infection in Wild Sigmodontine rodents. **J Virol**, Washington, v. 78, p. 11972-11979, 2004.

PADULA, P. et al. Pathogenic hantaviruses, northeastern Argentina and eastern Paraguay. **Emerg Infect Dis**. Atlanta, v. 13, p 1211–1214, 2007.

PARTANEN, S. et al. Infection with the Puumala virus in pregnancy: case report. **Br J Obstet Gynaecol**. v. 97, p. 274 275, 1990.

PEREIRA, L. E. Estudo epidemiológico de hantavírus em roedores das regiões da Mata Atlântica e Cerrado do Brasil [**Tese de Doutorado**]. São Paulo: Coordenadoria de Controle de Doenças, Secretaria de Estado de Saúde de São Paulo; 2006.

PERRY, R. D.; FETHERSTON, J. D. *Yersinia pestis* – etiologic agent of plague. **Clin Microbiol Rev**, Washington, v. 10, p. 35-66, 1997.

PETERS, C. J. Hantavirus pulmonary syndrome in the Americas. In: SCHELD, W. M.; CRAIG, W. A.; HUGHES, J. M. (eds). **Emerg Infect** . v. 2, ASM Press, Washington, p. 15-50, 1998.

PETERS, C. J.; KHAN, A. S. Hantavirus pulmonary síndrome: the new American hemorrhagic fever. **Clin Infect Dis**. v. 34, p. 1224-1231, Apr. 2002.

PINCELLI, M. P. et al. Síndrome pulmonary e cardiovascular por hantavírus. **J Pneumol**. v. 29, n.5, p. 309-324, 2003.

PLYUSNIN, A; VAPALAHTI .O; VAHERI . A. Hantaviruses: genome structure, expression and evolution. **J Gen Virol**, London, v. 77, p. 2677-2687, 1996.

PLYUSNIN, A. et al. Genetic analysis of hantaviruses carried by Myodes and Microtus rodents in Buryatia .**Virol J**, London, 5:4, 2008.

RABONI, S. M. et al. Clinical survey of hantavirus in southern Brazil and the development of specific molecular diagnosis tools. **Am J Trop Med Hyg**, Atlanta, v. 72, p. 800–804, 2005.

RABONI, S. M. et al. Hantavirus infection in Brazil: development and evaluation of an enzyme immunoassay and immunoblotting based on N recombinant protein. **Diagn Microbiol Infect Dis**, New York, v. 58, p. 89-97, 2007.

RABONI, S. M. et al Evidence of circulation of Laguna Negra-like hantavirus in the Central West of Brazil: case report. **J Clin Virol**, Amsterdam, v.2, p. 153-156, 2009.

ROLLIN, P. E. et al. Isolation of Black Creeck Canal virus, a new Hantavirus from *Sigmodon hispidus* in Florida. **J Med Virol**, v. 46, p. 35-39, 1995.

ROMANO-LIEBER, N. S; YEE, J; HJELLE, B. Serologic survey for hantavirus infections among wild animals in rural areas of São Paulo state, Brazil. **Rev Inst Med Trop S Paulo**, São Paulo, v. 43, p. 325-327, 2001.

ROSA, E. S. et al. Newly recognized hantaviruses associated with hantavirus pulmonary syndrome in northern Brazil: partial genetic characterization of viruses and serologic implication of likely reservoirs. **Vect Born Zoonot Dis**, Larchmont, v. 5, p. 11–19, 2005.

SAGGIORO, F. P. et al. Hantavírus infection induces a typical myocarditis that may be responsible for myocardial depression and shock in hantavírus pulmonary syndrome. **J Infect Dis**, Chicago, v. 195, p. 1541-1549, 2007.

SANTOS, N.S.O. et al. Febre hemorrágicas virais. In: **Introdução à Virologia Humana**. 1ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan S/A, p. 221-224. 2002.

SCHMALJOHN, C. S. Bunyaviridae: The viruses and their replication. In: FIELDS, B. N., KNIPE, D. M., HOWLEY, P. M. (eds). **Field's Virology**. 3 ed. v. 1, p. 1447-1471. Philadelphia, Lippincott-Raven Publishers, 1996.

SCHMALJOHN, C. S.; NICHOL, S. T. In: KNIPE, D. M.; GRIFFIN, D. E.; LAMB, R. A.; STRAUS, S. E.; HOWLEY, P. M.; MARTIN, M. A.; ROIZMAN, B. Ed. **Field's Virology**. 5 th. Ed. Philadelphia Lippincott, Williams & Wikins, p. 1741-1789. 2007.

SCHMALJOHN, C.S. Vaccines for hantaviruses. **Vaccine**, v. 27, p. D61-D64, 2009.

SOUZA-CHIORATTO, G. T. Soroprevalência de infecção por hantavírus em roedores dos focos de peste do Brasil [Tese. Doutorado]. Universidade Federal de Pernambuco. Recife, 2010.

STENSETH N, C. et al. Plague: past, present and future. **PLoS Med**, 5:9-13, 2008.

SONG, J. W. et al. Isolation of pathogenic hantavirus from white-footed mouse (*Peromyscus leucopus*). **Lancet**, v. 344, p 1637, Dec. 1994.

SUZUKI, A. et al. Identifying rodent hantavirus reservoirs. Brazil. **Emerg Infect Dis**, Atlanta, v. 10, p. 2127–2134, 2004.

TAVARES, C. Análise do contexto, estrutura e processos que caracterizaram o Plano Piloto de Peste em Exu e sua contribuição ao controle da peste no Brasil. [Tese doutorado]. Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães. Recife, 2007.

TRAVASSOS-ROSA, E. S. et al. Hantaviruses and Hantavirus Pulmonary Syndrome, Maranhão, Brazil. **Emerg Infect Dis** v. 16, n. 12, p. 1952-1955, Dec 2010.

VASCONCELOS, M. I. et al. Hantavirus pulmonary syndrome in the rural area of Jucituba, metropolitan area of São Paulo, Brazil. **Rev Inst Med Trop S Paulo**; 39:237-238, 1997.

YOUNG, J. C. et al; The incubation period of hantavirus pulmonary syndrome. **Am J Trop Med Hyg**, Baltimore, v. 62, p. 714-717, 2000.

WELLS, R. M. et al. An unusual hantavirus outbreak in southern Argentina: person-to-person transmission? Hantavirus Pulmonary Syndrome study group for Patagonia. **Emerg Infect Dis** v. 3, n. 2, p. 171-174, Apr-Jun. 1997.

WHO/WORLD HEALTH ORGANIZATION. Human Plague: review of regional mortality, 2004-2009, **Wkly Epidemiol Rec Geneva**, v. 85, p. 40-45, 2010.

ZOU, Y. et al. Genetic characterization of hantaviruses isolated from Guizhou, China: Evidence for spillover and reassortment in nature. **J Med Virol**, New York, v. 80, p. 1033–1041, 2008.

4 JUSTIFICATIVA

As hantavirose são zoonoses em expansão no Brasil, com alguns casos e óbitos já notificados no Nordeste, mas apesar dessas notificações, ainda são escassos os estudos sobre a situação da hantavirose nesta região. Espécies de roedores comumente soropositivas para hantavirose em diversas regiões do país, estão presentes nas áreas focais de peste, e estudos preliminares do nosso grupo detectaram soropositividade para hantavírus em uma das áreas pestíferas evidenciando a importância do aprofundamento das investigações. A hantavirose e a peste estão sendo consideradas zoonoses de caráter ocupacional. Diversas categorias de profissionais estão envolvidas na manipulação de roedores e amostras biológicas em campo e em laboratório e constituem um grupo de risco para as infecções dos roedores. Investigações sorológicas devem ser realizadas regularmente para acompanhamento sistemático da saúde dos profissionais a avaliação da eficácia das práticas de biossegurança.

5 OBJETIVOS

5.1 Geral

Investigar a soroprevalência para hantavírus e peste em profissionais que atuam no Programa de Controle da Peste (PCP) e no Serviço de Referência Nacional em Peste (SRP), e em roedores das áreas focais de peste do Nordeste Brasil, a fim de gerar subsídios para o programa de vigilância das zoonoses no País.

5.2 Específicos

- Investigar a soroprevalência da infecção por hantavírus nas populações de roedores silvestres e profissionais do PCP nas áreas focais de peste.
- Investigar a soroprevalência da infecção por hantavírus e peste em profissionais do SRP.
- Relacionar os resultados das análises sorológicas com os dados epidemiológicos obtidos através do questionário aplicado aos profissionais do estudo.
- Investigar o uso dos EPI's nas atividades da metodologia do PCP e o impacto de medidas biosseguras na saúde dos profissionais.

CAPÍTULO 1

Artigo publicado

SOROPREVALÊNCIA DA INFECÇÃO POR HANTAVÍRUS EM ROEDORES DO
ESTADO DO CEARÁ, BRASIL

*Gerlane Tavares de Souza Chioratto, Érika de Cássia Vieira da Costa, Marise Sobreira,
Alzira Maria Paiva de Almeida*



ARTIGO ORIGINAL

**SOROPREVALÊNCIA DA INFECÇÃO POR HANTAVÍRUS
EM ROEDORES DO ESTADO DO CEARÁ, BRASIL**

Gerlane Tavares de Souza Chioratto,^{1*2} Érica de Cássia Vieira da Costa,² Marise Sobreira¹ e Alzira Maria Paiva de Almeida¹

RESUMO

A síndrome pulmonar cardiovascular por hantavírus (SPCVH) e a peste (infecção pela *Yersinia pestis*) são zoonoses que ocorrem no Brasil. As áreas de distribuição dos dois agravos poderão se sobrepor, pois eles compartilham os mesmos roedores reservatórios. Nosso objetivo foi analisar a prevalência de anticorpos contra hantavírus em roedores de áreas focais de peste no estado do Ceará. A amostra foi composta por 239 animais: 136 *Necromys lasiurus*, 31 *Oligoryzomys nigripes*, 33 *Oryzomys subflavus*, 4 *Holochilus sciureus*, 24 *Rattus rattus*, 1 *Mus musculus*, 8 *Trichomys apereoides* e 2 *Galea spixii*. Os soros de dois *N. lasiurus* capturados na serra da Ibiapaba apresentaram anticorpos anti-hantavírus, evidenciando que as populações humanas dessas áreas estão sob risco de contrair uma infecção potencialmente letal, o que requer a estruturação de um programa de pesquisas com o objetivo de estudar sistematicamente a hantavirose.

DESCRITORES: Roedores. Hantavírus. Soroprevalência. Peste.

INTRODUÇÃO

A síndrome pulmonar cardiovascular por hantavírus (SPCVH) e a peste (infecção pela *Yersinia pestis*) são zoonoses de ocorrência no Brasil e compartilham roedores reservatórios (5, 6). Considerando a expansão das hantavirose no país e o fato de que elas ocorrem nas áreas de distribuição de seus hospedeiros, é possível supor que, nos focos pestosos, as infecções se sobreponham. Os primeiros casos da síndrome no Brasil foram diagnosticados no estado de São Paulo, em 1993 (20), quase simultaneamente com a sua descoberta nos Estados Unidos da América (8). É

1 Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães, CPqAM/FIOCRUZ/PE

2 Programa de Pós-graduação em Ciências Biológicas, UFPE

Endereço para correspondência: Gerlane Tavares de Souza Chioratto. Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães, Setor Biotério, Av. Professor Moraes Rego, s/n Cidade Universitária, CEP 50670-420, Recife, Pernambuco, Brasil. Email: gerlane@cpqam.fiocruz.br

Recebido para publicação em: 22/7/2009. Revisto em: 12/3/2010. Aceito em: 25/3/2010.

uma doença de notificação nacionalmente compulsória e já foi identificada em todas as regiões do país, com o registro de 1.148 casos e 455 óbitos até 2009 (7). Entre os roedores, a infecção já foi detectada nas espécies *Necromys lasiurus*, *Oligoryzomys nigripes*, *O. moojeni*, *O. fornesii*, *O. microtis*, *H. sciureus*, *Akodon cursor* e *A. montensis* (5, 9, 13, 15, 19, 22).

Atualmente há registros de casos nos seguintes estados: Pará, Rondônia, Amazonas, Bahia, Maranhão, Rio Grande do Norte, Mato Grosso, Goiás, Distrito Federal, Minas Gerais, São Paulo, Paraná, Santa Catarina e Rio Grande do Sul (7). Os casos diagnosticados de SPCVH em estados com história de peste (Minas Gerais, Bahia e Rio Grande do Norte) ocorreram em áreas distantes dos focos pestosos (5, 6).

A peste é uma zoonose de roedores silvestres transmitida usualmente por picadas de pulgas e permanece como problema de particular interesse em saúde pública por sua persistência em extensas áreas de quatro continentes, constituindo um perigo potencial para as suas populações (23, 24, 25). A zoonose foi introduzida no Brasil pelo porto de Santos (SP), em outubro de 1899, e se estabeleceu em focos localizados no Ceará, Rio Grande do Norte, Paraíba, Pernambuco, Alagoas, Bahia, Minas Gerais e Rio de Janeiro (25). Os focos de peste são mantidos sob contínua vigilância para que sejam desencadeadas oportunas ações de controle se forem detectadas manifestações da atividade pestosa (3, 4).

O objetivo deste trabalho foi analisar a prevalência de anticorpos contra hantavírus em roedores capturados na rotina das atividades do Programa de Controle da Peste (PCP) no estado do Ceará, de modo que seja possível uma maior compreensão da epidemiologia da hantavirose nesta área.

MATERIAL E MÉTODOS

As amostras sorológicas foram obtidas de roedores capturados por equipes do Programa de Controle da Peste (PCP) nos focos das serras de Ibiapaba e Baturité no Ceará, no período de 2002 a 2005, e conservadas a -20° C na soroteca do Serviço de Referência em Peste (SRP) do Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães (CPqAM/FIOCRUZ).

Os soros foram analisados na diluição 1/400 para detecção de anticorpos contra a nucleoproteína N recombinante do vírus Araucária (17), pelo teste Elisa-IgG, utilizando-se o *kit* IBMP/EIE IgG HANTEC, segundo as recomendações do fabricante (IBMP/FIOCRUZ). Como segundo anticorpo, utilizou-se uma mistura de Ig anti-IgG (*anti-rat* e *anti-Peromyscus leucopus*) marcada com a enzima peroxidase e o cromógeno tetrametilbenzidina (TMB) para revelação. A leitura das densidades ópticas foi realizada em espectrofotômetro para microplacas com filtro de 450nm para leitura e filtro de referência de 492nm. Os cálculos das absorvâncias das amostras e do valor de corte seguiram as orientações contidas no *kit*. A sensibilidade do teste é de 95,2% e a especificidade, de 98,4%.

Uma das amostras sororreagentes foi submetida a RT-PCR (16) para amplificação e posterior caracterização da variante viral.

RESULTADOS

A amostra compunha-se de 239 soros de roedores: 136 *Necromys lasiurus*, 31 *Oligoryzomys nigripes*, 33 *Oryzomys subflavus*, 4 *Holochilus sciureus*, 24 *Rattus rattus*, 1 *Mus musculus*, 8 *Trichomys apereoides* e 2 *Galea spixii* (Tabela 1).

Os soros de dois *N. lasiurus* capturados em 2005, na serra de Ibiapaba, apresentaram anticorpos anti-hantavírus: um era oriundo do município de Guaraciaba do Norte e o outro, de São Benedito (Tabela 1). Não houve amplificação do genoma viral na amostra submetida ao RT-PCR.

Tabela 1. Distribuição por origem e por espécie dos roedores analisados para pesquisa de anticorpos contra hantavírus

Focos	Municípios	Espécies de roedores					Total
		<i>N. lasiurus</i>	<i>O. nigripes</i>	<i>O. subflavus</i>	<i>R. rattus</i>	Outros	
Serra de Baturité	Aratuba	17	11	28	8	4	68
	Itapiúna	14	0	1	0	1	16
	Pacoti	5	0	4	4	2	15
	Redenção	0	0	0	12	8	20
	Total	36	11	33	24	15	119
Serra da Ibiapaba	Carnaubal	0	1	0	0	0	1
	Croatá	2	1	0	0	0	3
	Guaraciaba do Norte	28 (1)	0	0	0	0	28 (1)
	Ibiapina	2	1	0	0	0	3
	Ipu	24	13	0	0	0	37
	Ipueiras	11	0	0	0	0	11
	Pirres Ferreira	9	0	0	0	0	9
	Poranga	5	0	0	0	0	5
	São Benedito	4 (1)	3	0	0	0	7 (1)
	Tianguá	3	0	0	0	0	3
Ubajara	12	1	0	0	0	13	
Total	100	20	0	0	0	120 (2)	
Total de roedores		136 (2)	31	33	24	15	239 (2)

() Sororeagente ao ELISA para pesquisa de anticorpos contra hantavírus.

Outros: *Galea spixii*: 2; *Holochilus sciureus*: 4; *Mus musculus*: 1; *Thrichomys apereoides*: 8.

DISCUSSÃO

A maioria dos estudos sobre hantavírus em roedores no Brasil limita-se às áreas onde foram notificados casos da SPCVH (10, 11, 12, 18). A ocorrência desencadeia uma série de ações: notificação ao Ministério da Saúde (MS) e as subsequentes investigações epidemiológicas (dados demográficos, antecedentes epidemiológicos, local provável de infecção, dados clínicos e laboratoriais dos casos) e ecoepidemiológicas (captura e análise de roedores na área) (5). Ainda são escassos os estudos em áreas sem registro de casos da síndrome pulmonar cardiovascular por hantavírus.

O presente estudo relata, pela primeira vez, a ocorrência de anticorpos anti-hantavírus em roedores (*N. lasiurus*) no estado do Ceará. O *N. lasiurus* anteriormente foi associado à variante viral Araraquara no estado de São Paulo (9). Neste estudo, porém, não foi possível determinar a variante circulante na serra de Ibiapaba, pois não houve amplificação do genoma viral nos soros reagentes. Em virtude do pequeno volume de soro disponível, apenas uma das duas amostras reagentes pelo Elisa foi submetida a RT-PCR (16) para amplificação do genoma e identificação da variante viral.

O levantamento de anticorpos contra hantavírus com base na soroteca do PCP forneceu informações sobre roedores infectados. Entretanto, não se logrou a amplificação do genoma e a identificação da variante viral por falta de espécimes adequados em volume suficiente, pois as rotinas do PCP (4) não incluem coleta e estocagem de outros espécimes, como vísceras ou coágulo sanguíneo, o que impossibilitou o aprofundamento da pesquisa.

A detecção de anticorpos nos roedores não constitui prova da circulação do vírus no local no momento da captura, apenas que houve contato dos roedores com o micro-organismo. No roedor, a infecção pelo hantavírus aparentemente não é letal e pode levá-lo à condição de reservatório, o que o leva a eliminar partículas virais provavelmente por toda a vida (14).

Em condições experimentais em laboratório, o *N. lasiurus* (anteriormente denominado *Zygodontomys lasiurus pixima*) pode viver por até 29 meses (1). Estudos de soroprevalência em roedores indicam que os machos adultos são maioria entre os infectados em consequência de fatores comportamentais, como a maior exposição pelas disputas por território e alimento (14). Em nosso estudo, os dados sobre sexo e idade dos animais não estavam disponíveis, o que impossibilitou qualquer inferência sobre o contato dos roedores com o vírus.

Sobreira et al. (21) detectaram anticorpos anti-hantavírus em três espécimes de *O. nigripes* capturados na rotina do PCP no foco pestoso da serra dos Órgãos, no estado do Rio de Janeiro. A espécie está associada à variante Jucituba nas regiões Sul e Sudeste (22), mas nenhum dos exemplares analisados no presente estudo apresentou anticorpos contra hantavírus.

A ausência de anticorpos nos roedores da serra de Baturité não deve ser interpretada como ausência de circulação viral na região, pois seu ecossistema, que se assemelha ao de Ibiapaba, oferece condições para a manutenção e disseminação das hantavirose: área rural com atividade agrícola e presença de espécies de roedores hospedeiros *N. lasiurus*, *O. nigripes* e *H. sciureus* (2).

A inexistência de notificações de casos nas áreas de focos de peste pode estar relacionada à circulação de vírus com baixa virulência para humanos ou ao não reconhecimento da SPCVH, pois ela pode ser confundida com outras doenças que cursam com comprometimento cardiopulmonar (5).

É imprescindível, portanto, que as atividades de vigilância do hantavírus sejam implementadas imediatamente no estado do Ceará, com captura de roedores e análise de soros e vísceras, visando à identificação e caracterização da variante

viral circulante, bem como dos animais hospedeiros e dos fatores de risco para as populações humanas.

AGRADECIMENTOS

A Dra Cláudia Nunes Duarte dos Santos pela disponibilização da infra-estrutura do laboratório e fornecimento dos kits para as análises sorológicas; a Dra Sônia Mara Raboni pelas orientações recebidas para realização das análises sorológicas; ao Dr Celso Tavares pelas sugestões para a elaboração do manuscrito e leitura crítica; ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico pelo auxílio financeiro (Processo CNPq n. 401552/2004-Ed 392004).

ABSTRACT

Seroprevalence of hantavirus infection in rodents from the State of Ceará, Brazil

The hantavirus cardiovascular pulmonary syndrome (HCVPS) and the plague (*Yersinia pestis* infection) are zoonoses that occur in Brazil, having in common rodent reservoirs. Therefore their distribution areas may overlap. The prevalence of hantavirus antibodies in animals caught in the routine activities of the Plague Control Program (PCP) in the State of Ceará in the period from 2002 to 2005 was analyzed in the rodent population in the plague areas. The sample consisted of 239 animals: 136 *Necromys lasiurus*, 31 *Oligoryzomys nigripes*, 33 *Oryzomys subflavus*, 4 *Holochilus sciureus*, 24 *Rattus rattus*, 1 *Mus musculus*, 8, *Trichomys apereoides* and 2 *Galea spixii*. Two *N. lasiurus* captured in the Serra da Ibiapaba were positive for hantavirus antibodies, indicating that humans in these areas are at risk of contracting a potentially lethal infection what justifies the implementation of a research program to study systematically the hantaviruses and rodent hosts in this area.

KEY WORDS: Rodents. Hantavirus. Seroprevalence. Plague.

REFERÊNCIAS

1. Almeida CA, Almeida AMP, Brasil DP. Observations sur le comportement de fouissement de *Zygodontomys lasiurus pixuna*, Moojen, 1943. Réproduction au laboratoire (Rongeurs, Cricetidés). *Mammalia* 45: 415-421, 1981.
2. Aragão AI. *Peste no Estado do Ceará (1900-2008): Epidemiologia, Vigilância e Ações de Controle*. Fortaleza [Dissertação de Mestrado em Saúde Pública – UFC], 2009.
3. Brasil. Ministério da Saúde. *Manual de controle de roedores*. Brasília, DF: Assessoria de Comunicação e Educação em Saúde/ASCOM/FUNASA (Manual), 2002. 130 p.
4. Brasil. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. *Manual de Vigilância e Controle da Peste* – Brasília, DF: Ministério da Saúde, 80 p: II. – (Série A. Normas e Manuais Técnicos), 2008.
5. Brasil. Secretaria de Vigilância em Saúde. Hantavírus in: *Guia de Vigilância Epidemiológica*. caderno 8, 7ª edição, Brasília, DF: Ministério da Saúde, 2009 (Série A. Normas e Manuais Técnicos).

6. Brasil. Secretaria de Vigilância em Saúde. Peste in: *Guia de Vigilância Epidemiológica*. caderno 10, 7ª edição, Brasília, DF: Ministério da Saúde, 2009 (Série A. Normas e Manuais Técnicos).
7. Brasil. Secretaria de Vigilância em Saúde: Casos e óbitos de hantavirose no Brasil de 1993 a 2009. Brasília, DF: Ministério da Saúde. Disponível em: http://portal.saude.gov.br/portal/saude/profissional/area.cfm?id_area=1558. Acesso em 11.03.2010.
8. CDC Update: Outbreak of hantavirus infection. Southwestern United States: Interim Recommendations for Risk Reduction. *MMWR* 42: 441-443, 1993.
9. Johnson AM, de Souza LT, Ferreira IB, Pereira LE, Ksiazek TG, Rollin PE, Peters CJ, Nichol ST. Genetic investigation of novel hantaviruses causing fatal HPS in Brazil. *J Med Virol* 59: 527-535, 1999.
10. Katz G, Williams RJ, Burt MS, de Souza LT, Pereira LE, Mills JN, Suzuki A, Ferreira IB, Souza RP, Alves VA, Bravo JS, Yates TL, Meyer R, Shieh W, Ksiazek TG, Zaki SR, Khan AS, Peters CJ. Hantavirus pulmonary syndrome in the State of Sao Paulo, Brazil, 1993-1998. *Vector Borne Zoonotic Dis* 1: 181-190, 2001.
11. Lemos ER, D'Andrea PS, Bonvicino CR, Famadas KM, Padula P, Cavalcanti AA, Schatzmayr HG. Evidence of hantavirus infection in wild rodents captured in a rural area of the state of São Paulo, Brazil. *Pesq Vet Bras* 24: 71-73, 2004.
12. Limongi JE, Costa FC, De Paula MBC, Pinto RMC, Oliveira MLA, Pajuaba Neto AA, Borges AS, Ferreira MS. Síndrome cardiopulmonar por hantavírus no Triângulo Mineiro e Alto Paranaíba, Minas Gerais, 1998-2005: aspectos clínico-epidemiológicos de 23 casos. *Rev Soc Bra Med Trop*. 40: 295-299, 2007.
13. Mendes WS, Aragão NJL, Santos HJ, Raposo L, Vasconcelos PFC, Rosa EST, Elkhoury MR. Hantavirus pulmonary syndrome in Anajatuba, Maranhão, Brazil. *Rev Inst Med Trop São Paulo* 43: 237-240, 2001.
14. Meyer BJ, Schmaljohn CS. Persistent hantavirus infections: characteristics and mechanisms. *Trends Microbiol* 8: 61-67, 2000.
15. Monroe MC, Morzunov SP, Johnson AM, Bowen MD, Artsob H, Yates T, Peters CJ, Rollin PE, Ksiazek TG, Nichol ST. Genetic diversity and distribution of *Peromyscus*-borne hantaviruses in North America. *Emerg Infect Dis* 5: 75-86, 1999.
16. Raboni SM, Rubio G, Borba L, Zeferino A, Skraba I, Goldenberg S, Dos Santos CN. Clinical survey of hantavirus in southern Brazil and the development of specific molecular diagnosis tools. *Am J Trop Med Hyg* 72: 800-804, 2005.
17. Raboni SM, Levis S, Rosa EST, Bisordi, I, Delfraro A, Lemos E, Correia, DC, Santos CND. Hantavirus infection in Brazil: development and evaluation of an enzyme immunoassay and immunoblotting based on N recombinant protein. *Diagn Microbiol Infect Dis* 58: 89-97, 2007.
18. Romano-Lieber NS, Yee J, Hjelle B. Serologic survey for hantavirus infections among wild animals in rural areas of São Paulo state, Brazil. *Rev Inst Med Trop S Paulo* 43: 325-327, 2001.
19. Rosa ES, Mills JN, Padula PJ et al. Elkhoury MR, Ksiazek TG, Mendes WS, Santos ED, Araújo GC, Martinez VP, Rosa JF, Edelstein A, Vasconcelos PF. Newly recognized hantaviruses associated with hantavirus pulmonary syndrome in northern Brazil: partial genetic characterization of viruses and serologic implication of likely reservoirs. *Vect Born Zoon Dis* 5: 11-19, 2005.
20. Silva MV, Vasconcelos MJ, Hidalgo NTR, Veiga APR, Canzian M, Marotto PCF, Lima VCP. Hantavirus Pulmonary Syndrome. Report of the first three cases in São Paulo, Brazil. *Rev Inst Med trop S Paulo* 39: 231-234, 1997.
21. Sobreira M, Souza GT, Moreli ML, Borges AA, Morais FA, Figueiredo LT, Almeida AM. A serosurvey for hantavirus infection in wild rodents from the states of Rio de Janeiro and Pernambuco, Brazil. *Acta Tropica* 107: 150-152, 2008.
22. Suzuki A, Bisordi I, Levis S, Garcia J, Pereira LE, Souza RP, Sugahara TK, Pini N, Enria D, Souza LT. Identifying rodent hantavirus reservoirs. Brazil. *Emerg Infect Dis* 10: 2127-2134, 2004.
23. Stenseth NC, Atshabar BB, Begon M, Belmain SR, Bertherat C, Gage KL, Leirs H, Rahalison L. Plague: past, present and future. *PLoS Medicine* 5: 9-13, 2008.
24. WHO. International meeting on prevention and controlling plague: the old calamity still has a future. *Weekly Epidem Rep* 80: 278-284, 2006.
25. WHO. *Plague in the Americas*. Washington, WHO/PAHO. Scient. Publ. 115, 1965. p. 44-68.

CAPÍTULO 2

Artigo a ser submetido à revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical.

SOROPREVALÊNCIA DE ANTICORPOS CONTRA HANTAVÍRUS E *YERSINIA PESTIS* EM PROFISSIONAIS DO PROGRAMA DE CONTROLE DE PESTE

Érika CV Costa, Gerlane T Souza Chioratto, PauloThiago M Guaraná, Marise

Sobreira, Celso Tavares, Alzira MP Almeida.



REVISTA DA
SOCIEDADE BRASILEIRA
DE MEDICINA TROPICAL

Soroprevalência de anticorpos contra hantavírus e *Yersinia pestis* em profissionais do Programa de Controle de Peste

Seroprevalence of hantavirus and *Yersinia pestis* antibodies in professionals from the Plague Program Control

**Érika CV Costa^{1,2}, Gerlane T Souza Chioratto^{1,2}, Paulo Thiago M Guaraná^{2,3},
Marise Sobreira², Celso Tavares⁴, Alzira MP Almeida²**

RESUMO

No Brasil, as áreas de ocorrência da Síndrome Pulmonar Cardiovascular por Hantavirus (SPCVH) e a peste (infecção por *Yersinia pestis*) podem se sobrepor, pois compartilham os mesmos roedores reservatórios. A manipulação de roedores em campo e em laboratório nas atividades de controle, ensino e pesquisa é praticada por diversas categorias de profissionais que geralmente não adotam e/ou mantêm os procedimentos de biossegurança nas suas rotinas por conta da falta de protocolos institucionais e constituem um grupo de risco para infecção por microorganismos albergados naqueles animais. Para verificar a soroprevalência e estabelecer correlações com relatos das doenças foram realizadas análises em amostras sorológicas de profissionais que atuam nas diversas atividades em campo ou em laboratório desenvolvidas nos programas de controle da peste (PCP) e no Serviço de Referência Nacional em Peste (SRP). Dois indivíduos foram reagentes para hantavírus e dois para peste, sem relato de manifestações clínicas sugestivas dessas enfermidades no transcorrer das suas atividades profissionais. Os resultados evidenciam que, independentemente da fonte de estímulo antigênico, há riscos nas atividades em campo e laboratoriais, reforçando a importância da utilização de equipamentos de proteção individual.

Palavras-chave: Zoonoses. Reservatórios. Biossegurança.

ABSTRACT

In Brazil, Hantavirus Pulmonary Cardiovascular Syndrome (HPCVS) and plague (*Yersinia pestis* infection) areas may overlap for they share the same rodent reservoirs. Health professionals handling rodents in the fields and in the laboratories for diseases control, education and research activities are at risk of infection by microorganisms from these animals. Furthermore, they usually do not follow the biosafety procedures during their routines, due to the lack of strict institutional protocols. To determine hantavirus and plague seroprevalence and to establish a relationship with reports of these diseases serum samples from professionals involved in various field or laboratory activities in the plague control program (PCP) and Plague Reference Service (PCP) were analyzed. Two individuals revealed reagent for hantavirus and two for plague without reporting clinical symptoms suggestive of that diseases in the course of their professional activities. The results show that, regardless the source of antigenic stimulus, there are risks in the field and laboratory activities, evidencing the paramount importance of using personal protective equipment.

Key words: Zoonoses. Reservoirs. Biosafety.

1. Curso de Pós Graduação em Ciências Biológicas da Universidade Federal de Pernambuco.
2. Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães CPqAM/FIOCRUZ. 3. Curso de Medicina Veterinária da Universidade Federal Rural de Pernambuco. 4. Faculdade de Medicina – Universidade Federal de Alagoas UFAL.

Endereço para correspondência: Alzira Maria Paiva de Almeida. Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães, Campus da UFPE, Cidade Universitária - Recife - PE – Brasil. CEP: 50.670-420
Telefone/fax: (81) 2101-2676. E-mail: aalmeida@cpqam.fiocruz.br

A peste, infecção determinada por *Yersinia pestis*, apresenta um espectro clínico amplo, variando de quadros oligossintomáticos a formas gravíssimas, como a pneumônica e a septicêmica. A frequência de infecções assintomáticas não está bem estabelecida e no Brasil prevalece a peste bubônica, correspondendo a mais de 90 % dos casos. A picada de pulgas é o principal mecanismo de transmissão, mas a infecção também pode ocorrer por outros mecanismos, inclusive a via aerógena, na peste pneumônica. Nas áreas de foco, ela deve ser distinguida da Síndrome Pulmonar Cardiovascular por Hantavírus (SPCVH), pois ambas exigem pronto tratamento, uma com antimicrobianos e eventualmente medidas de suporte e a outra com imediata internação em unidade de terapia intensiva (UTI), respectivamente^{22 24}.

A peste foi introduzida no Brasil pelo porto de Santos-SP, em 1899. Foi eliminada da área portuária e disseminou-se a partir de 1906 pelas estradas de ferro e outras vias atingindo as cidades interioranas, a fase urbana. Daí, a partir da década de 1930, passou a afligir pequenos distritos, fazendas e sítios como endemia rural e, finalmente, assumindo o seu caráter de enzootia, a infecção foi transferida dos roedores sinantrópicos comensais (murídeos), para os hospedeiros silvestres (sigmodontíneos, equimídeos e cavídeos), constituindo os focos naturais do Nordeste e o da serra dos Órgãos²⁹.

Os focos pestosos, áreas geográficas com peculiaridades ecológicas bem definidas e determinadas pela topografia, clima, vegetação e por outros fatores mesológicos, localizam-se nos Estados do Ceará, Rio Grande do Norte, Paraíba, Pernambuco, Alagoas, Bahia, Piauí e nordeste de Minas Gerais, constituindo os chamados Focos do Nordeste, além de uma pequena área situada nos limites dos municípios de Nova Friburgo, Sumidouro e Teresópolis-RJ, o foco da Serra dos Órgãos⁹.

A SPCVH, quadro determinado por vírus da família *Bunyaviridae*, é potencialmente fatal, de difícil diagnóstico, cursando com insuficiência respiratória, choque e alta letalidade (40%). Apesar da gravidade da síndrome, estudos de soroprevalência na população humana sugerem que as infecções assintomáticas e os quadros oligossintomáticos prevalecem^{6 14 20}. Os primeiros casos foram diagnosticados nos Estados Unidos da América (EUA) em 1993 e inicialmente foram confundidos com a peste pneumônica, que faz parte do diagnóstico diferencial^{5 18}. No mesmo ano foram descritos casos da síndrome no Brasil, em Juquitiba, SP, e atualmente há registros de casos nos Estados do Pará, Rondônia, Amazonas; Bahia, Maranhão, Rio Grande do Norte; Mato Grosso, Goiás, Distrito Federal, Minas Gerais, São Paulo, Paraná, Santa Catarina e Rio Grande do Sul^{12 16 23}.

Os roedores sinantrópicos silvestres são os reservatórios, neles a infecção é aparentemente não letal, sendo possível a detecção do vírus em diversos órgãos do animal, com o agente sendo eliminado na saliva, urina e fezes. O homem infecta-se habitualmente ao inalar aerossóis contendo excretas e secreções contaminadas desses animais. Há raros registros de transmissão através de mordidas, arranhaduras, bem como por ingestão de água e alimentos contaminados e contato do vírus com as mucosas, além da inter-humana^{1 7 21 27}.

No Brasil, as áreas de ocorrência das duas zoonoses podem se sobrepor, pois elas compartilham os mesmos reservatórios (Sigmodontíneos). Porém, até o momento, não há casos humanos da SPCVH notificados nos focos pestosos, uma vez que os municípios em que ocorreram os casos registrados na Bahia e Rio Grande do Norte não compõem a área focal de peste^{9 16}. O fato poderia decorrer da inexistência da SPCVH nessas regiões ou da incapacidade das equipes das assistências primárias e secundárias e dos serviços de urgência e emergência e terapia intensiva em diagnosticá-la ou dos núcleos de vigilância epidemiológica em investigar todos os óbitos mal definidos^{3 4}.

O presente estudo teve como objetivo verificar a soroprevalência para peste e hantavirose em profissionais que manipulam *Y. pestis* e/ou roedores em laboratório ou em campo, a fim de estabelecer correlações com relatos dessas doenças.

MATERIAL E MÉTODOS

Amostras séricas. Obtidas no período entre 2007 a 2010 de profissionais que atuam nas diversas atividades desenvolvidas em campo e em laboratório no programa de controle da peste (PCP), da manipulação de roedores à atividades de gerenciamento (Tabela 1) e de profissionais do Serviço de Referência Nacional em Peste (SRP) do Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães (Fiocruz/PE), envolvidos em atividades diversas inclusive manipulação de culturas da *Y. pestis*.

Antes da coleta foi realizada uma exposição sobre o trabalho e todos os selecionados preencheram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE), aceitando participar da pesquisa, e um questionário contendo perguntas sobre tempo de serviço, atribuições, uso de equipamento de proteção individual (EPI) e acidentes ocupacionais. O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisas do CPqAM (CEP/CPqAM/Fiocruz n. 48/2004).

Pesquisa de anticorpos contra hantavírus e *Y. pestis*. A pesquisa de anticorpos contra hantavírus foi realizada por ensaio imunoenzimático indireto com o kit EIE IgG HANTEC

produzido pelo Instituto Carlos Chagas (Fiocruz-PR) para detecção de anticorpos da classe IgG anti hantavírus. Os testes foram realizados seguindo as instruções do fabricante. A sensibilidade do teste é 95,2% e a especificidade 98,4%.

A pesquisa de anticorpos antipestosos foi realizada pela técnica de hemaglutinação (HA) controlada pela inibição da hemaglutinação (HI) para pesquisa de anticorpos contra a proteína capsular (F1) específica da *Y. pestis*².

RESULTADOS

Profissionais que atuam no PCP

As amostras (n= 63) foram obtidas de profissionais que atuam nos focos de peste do Estado de Pernambuco (49,2%), Ceará (33,3%), Rio Grande do Norte (17,5%): os agentes de endemias, responsáveis pela captura de roedores, coleta de pulgas e obtenção de espécimes para análises, corresponderam a 54% (n=34) dos participantes; os agentes de saúde, que respondem pelos aspectos educativos do Programa e esporadicamente participam da captura de roedores, 25,4% (n=16); os laboratoristas, que manipulam pulgas e amostras biológicas (carcaças, vísceras e sangue) de roedores para pesquisa da *Y. pestis* e análises sorológicas, 12,7% (n=08); os motoristas, que conduzem os agentes de endemias às áreas a serem trabalhadas e acompanham a captura de roedores, participando eventualmente da atividade, 4,7% (n=3), os supervisores, que organizando e orientando o fluxo do trabalhos, envolvem-se em todas as atividades, 3,2% (n=2) (Tabela 1).

A idade mediana dos profissionais foi de 45 anos (27 a > 60), sendo a maioria (62 = 98,4%) do sexo masculino e apenas um (1,6%) do sexo feminino. Em relação ao tempo no PCP, 28 (44%) participam há mais de dez anos, 13 (21%) entre seis a 10 anos, 18 (29%) de um a cinco anos e 4 (6%) há menos de um ano. Mais de 80 % afirmaram usar regularmente os EPIs (botas, macacões, bonés, luvas, óculos e máscaras), mas 60% não os utilizaram desde o início das suas atividades e apesar das normas, 17% ainda não os usam regularmente.

Acidentes durante o trabalho - arranhaduras e mordeduras de roedor e arranhaduras nas armadilhas foram referidos por 40% (n=25) dos profissionais.

Foram detectados anticorpos IgG anti-hantavírus em amostras séricas de dois profissionais do sexo masculino que atuam como agentes de saúde pública no PCP no estado do Ceará. Uma das amostras resultou inicialmente “indeterminada”, mas o reteste em amostra coletada após dois meses confirmou positivo. Um dos profissionais exerce atividades no programa, no Foco da Chapada do Araripe (CE) há mais de 10 anos, usa EPI há apenas cinco

e relatou acidente por mordedura de roedor; outro profissional trabalha no Foco da Serra da Ibiapaba (CE) há cerca de dois anos sem EPI e nunca sofreu acidente.

Anticorpos antipestosos foram encontrados no soro de um profissional (supervisor) do sexo masculino; extremamente ativo; envolvido nas mais diversas atividades do programa na área pestígena da Chapada da Borborema (PE) há mais de 10 anos, utiliza EPI há apenas cinco e não relata acidentes ocupacionais ou manifestações sugestivas de peste associadas às suas atividades no PCP. No questionário, queixas de mialgia foram relacionadas à idade e ao peso dos equipamentos utilizados na prática diária.

Profissionais do Serviço de Referência Nacional em Peste (SRP). Das 20 amostras sorológicas dos membros da equipe do SRP e colaboradores, seis foram analisadas para hantavírus e peste e 14 apenas para anticorpos antipestosos. O soro de um profissional (sexo feminino), envolvido em atividades com a bactéria, reservatórios e vetores, há mais de 10 anos, foi reagente para *Y. pestis* em duas amostras coletadas com intervalo de 24 meses, sem relato de acidente ou manifestação sugestiva de peste associados as suas atividades. Todas as demais amostras foram negativas.

DISCUSSÃO

A análise da morbimortalidade permite considerar a peste e a SPCVH doenças ocupacionais e os seus modos de transmissão tornam os profissionais do PCP um grupo que requer especial atenção^{10 13 15 18}.

Kelt e cols¹³ afirmam que apesar de ser uma doença ocupacional, o risco de infecção por hantavírus entre profissionais que trabalham com roedores é de 0,28%, considerado baixo pelo autor. Os resultados obtidos por Fritz e cols⁸, ao não detectarem soros reagentes no estudo de 82 profissionais que manipulavam roedores no campo, reforçam essa noção.

No entanto, na análise sorológica de profissionais do PCP, dois foram reagentes para hantavírus, e dois para peste, indicando que há riscos nas atividades em campo e em laboratório.

Os indivíduos reagentes para hantavírus realizam atividades de rotina com roedores. Apesar de nenhum caso de hantavirose ter sido notificado no Ceará, nem registro de manifestações clínicas sugestivas da doença naqueles profissionais, atividades de vigilância são impreteríveis nessa área onde também foram capturados roedores sororeagentes para hantavírus, sugerindo a circulação do vírus na região e risco para população. Outros estudos

confirmam soroprevalência em profissionais atuantes em laboratório e campo, sem relato do agravo em nenhum momento de suas vidas^{7 30}, enfatizando o caráter ocupacional das hantavirose^{11 17}. Já a soronegatividade no estado de Pernambuco pode corroborar para a hipótese da baixa ou mesmo ausência de circulação do vírus no Estado²⁵. No RN, a circulação de hantavírus em roedores ainda não foi investigada, apesar da notificação de dois casos humanos¹⁶.

A soropositividade para peste em profissionais é um alerta sobre o risco do trabalho com roedores e da importância das medidas de biossegurança. Vale salientar que ambas infecções podem ser assintomáticas ou manifestarem-se brandamente, podendo ser confundidas com outras enfermidades^{3 13}.

No Brasil há apenas um relato de infecção ocupacional pela *Y. pestis* cursando com a forma pulmonar da doença antes do advento do uso de EPI nas atividades de laboratório e em campo, quando algumas práticas perigosas de rotina eram realizadas sem proteção²⁶. Não obstante todos os conhecimentos e recursos de proteção disponíveis atualmente, em 2009, nos EUA, um pesquisador que manipulava cepas atenuadas de *Y. pestis*, morreu infectado com a bactéria¹⁹.

Há registros, nos EUA, de infecção e morte de biólogos associadas à manipulação de animais silvestres como o lince (*Lynx spp*), puma (*Puma concolor*), coelhos (*Oryctolagus cuniculus*) e lebres (*Lepus europaeus*)^{8 28}. A hipótese de peste habitualmente não é considerada, mesmo em áreas endêmicas, e assim os princípios básicos de biossegurança não são adotados. O transporte inadequado dos animais pode favorecer a transmissão da infecção, inclusive por liberação de aerossóis, o que, aliado à falta de uso de EPI, determina a ocorrência de casos, como o do biólogo que morreu após manipular um puma encontrado morto no Parque Nacional Grand Cânion (EUA)²⁸.

No presente trabalho não foi possível confirmar o papel protetor dos EPI, especialmente porque a maioria dos profissionais envolvidos não utilizou EPI desde o início de suas atividades com roedores e alguns ainda o utilizam irregularmente.

O monitoramento sorológico dos profissionais que atuam com roedores ou amostras de materiais desses animais (carcaças, vísceras, sangue e soro) para zoonoses como peste e hantavirose pode ser indicador para mensurar a proteção conferida pelas medidas de biossegurança adotadas. Apesar de um número significativo de profissionais (17%) relatar o uso irregular de EPI, constata-se uma adesão crescente à sua utilização, decorrente da prioridade concedida à biossegurança pelo PCP e a realização sistemática de inquéritos

poderá prover o programa de dados que possibilitem, inclusive, avaliar riscos para os profissionais e a população do foco.

AGRADECIMENTOS: A Coordenação Geral de Laboratórios de Saúde Pública (CGLAB/SVS/MS) pela disponibilização dos kits para pesquisa de anticorpos contra hantavirus, ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico e a Fundação de Amparo à Ciência e Tecnologia do Estado de Pernambuco, pelo auxílio financeiro (Processo IBPG-1850-2.12/08).

REFERÊNCIAS

1. Botten J, Mirowsky K, Kusewitt D, Bharadwaj M, Yee J, Ricci R et al. Experimental infection model for Sin Nombre hantavirus in the deer mouse (*Peromyscus maniculatus*). Proceedings of the national academy of sciences of the United States of America 97:10578-10583, 2000.
2. Brasil. Manual de Vigilância e Controle de Peste, série A: Normas e Manuais Técnicos. Brasília: Ministério da Saúde; 2008. 981 p.
3. Brasil. Manual para Investigação do Óbito com Causa Mal Definida, série A: Normas e Manuais Técnicos. Brasília: Ministério da Saúde; 2009. 50p.
4. Brasil. Ministério da Saúde Portaria Nº 104, de 25 de Janeiro de 2011. Disponível em: http://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/gm/2011/prt0104_25_01_2011.html. Acesso em 28 02.11.
5. CDC Update: Outbreak of hantavirus infection. Southwestern United States. Morbidity and Mortality Weekly Report 42:441-443, 1993.
6. Chandy S, Mitra S, Sathish N, Vijayakumar TS, Abraham OC, Jesudason MV et al. A pilot study for serological evidence of hantavirus infection in human population in south India Indian Journal of Medical Research 122:211-215, 2005.

7. Dournon E, Moriniere B, Matheron S, Girard PM, Gonzales JP, Hirsch F et al. HFRS after a wild rodent bite in the Haute Savoie and risk of exposure to Hantaan-like virus in a Paris laboratory. *Lancet*. 676-7, 1984.
8. Fritz CL, Fulhorst CF, Enge B, Winthrop KL, Glaser CA, Vugia DJ. Exposure to rodents and rodent-borne viruses among persons with elevated occupational risk. *Journal of Occupational and Environmental Medicine* 44:962–967, 2002.
9. Giles J, Peterson AT, Almeida A (2011) Ecology and Geography of Plague Transmission Areas in Northeastern Brazil. *PLoS Negl Trop Dis* 5(1): e925. doi:10.1371/journal.pntd.0000925.
10. Hinrichsen SML, Andrade AM, Clement L, Leirs H, Mckenna P, Matthys P et al. Evidence of hantaviral infection in Brazilian patients from Recife with suspected leptospirosis. *Lancet* 341:50, 1993.
11. Jay M, Hjelle B, Davis R, Ascher M, Baylies HN, Reilly K et al. Occupational exposure leading to hantavirus pulmonary syndrome in a utility company employee. *Clinical Infectious Diseases* 22:841-844, 1996.
12. Katz G, Williams RJ, Burt MS, de Souza LT, Pereira LE, Mills JN, Suzuki A, Ferreira IB, Souza RP, Alves VA, Bravo JS, Yates TL, Meyer R, Shieh W, Ksiazek TG, Zaki SR, Khan AS, Peters CJ 2001. Hantavirus pulmonary syndrome in the State of São Paulo, Brazil, 1993-1998. *Vector Borne and Zoonotic Disease*. 1: 181-90.
13. Kelt DA, Van Vuren DH, Hafner MS, Danielson BJ, Kelly MJ. Threat of hantavirus pulmonary syndrome to field biologists working with small mammals. *Emerging Infectious Diseases* 13:1285-1287, 2007.
14. Limongi JE, da Costa FC, Pinto RM, de Oliveira RC, Bragagnolo C, Lemos ER et al. Cross-sectional survey of hantavirus infection, Brazil. *Emerging Infectious Diseases* 12:1981-1983, 2009.

15. Mascarenhas-Batista AV, Rosa EST, Ksiazek TG, Rosa APAT, LeDuc JW, Pinheiro F et al. Anticorpos anti-hantavírus em escolares de Salvador, Bahia. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical* 31:433-440, 1998.
16. MS/SVS. Ministério da Saúde-Secretaria de Vigilância em Saúde. Casos e óbitos por Hantavirose por Unidade Federada. Brasil, 1993-2010. 2010, Disponível em: http://portal.saude.gov.br/portal/saude/profissional/area.cfm?id_area=1558. Acesso em: 04.01.11.
17. Mills JN, Yates TI, Childs JE, Parmentier RR, Ksiazek TG, Rollin PE et al Guidelines for working with rodents potentially infected with hantavirus. *Journal of mammalogy* 76:716-722, 1995.
18. Mills JN, Corneli A, Young JC, Garrison LE, Khan AS, Ksiazek TG. Hantavirus Pulmonary Syndrome – United States: Updated recommendations for risk reduction. *MMWR Recommendations and Reports* 1:11-12, 2002.
19. MMWR. Morbidity and Mortality Weekly Report. Vol. 60 / No. 7 2011 Fatal Laboratory-Acquired Infection with an Attenuated *Yersinia pestis* Strain — Chicago, Illinois, 2009
20. Nichol ST, Spiropoulou CE, Morzunov S, Rollin PE, Ksiazek TG, Feldmann H et al. Genetic identification of a hantavirus associated with an outbreak of acute respiratory illness. *Science* 262:914-917, 1993.
21. Padula P, Edelstein A, Miguel SDL, López NM, Rossi CM, Rabinovich RD. Hantavirus pulmonary syndrome outbreak in Argentina: Molecular evidence for person-to-person transmission of Andes virus. *Virology*, New York, v. 241, p. 323-330, 1998.
22. Perry RD, Fetherston JD. *Yersinia pestis* – Etiologic agent of plague. *Clin Microb Rev* 1997; 10(1):35-66.

23. Silva MV, Vasconcelos MJ, Hidalgo NTR, Veiga APR, Canzian M, Marotto PCF, Lima VCP. Hantavírus Pulmonary Syndrome. Report of the first three cases in São Paulo, Brazil. *Revista Instituto Medicina Tropical, São Paulo.* 39:231-234, 1997.
24. Simmons JH, Riley LK. Hantaviruses: an overview. *Comparative Medicine* 52:97-110, 2002.
25. Sobreira M, Souza GT, Moreli ML, Borges AA, Moraes FA, Figueiredo LTM et al. A serosurvey for hantavirus infection in wild rodents from the states of Rio de Janeiro and Pernambuco, Brazil. *Acta Tropica* 107:150-152, 2008.
26. Tavares C. Análise do contexto, estrutura e processos que caracterizaram o Plano Piloto de Peste em Exu e sua contribuição ao controle da peste no Brasil. [tese doutorado]. [Recife]: Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães; 2007. 305p.
27. Wells RM, Sosa, Estani S, Yadon ZE, Enria, d, Padula P, Pini N, Mills JN, Peters CJ, Segura EL 1997. An unusual hantavirus outbreak in southern Argentina: person-to-person transmission. *Emerg Infect Dis.* 3 171-174.
28. Wong D, Wild MA, Walburger MA, Higgins CL, Callahan M, Czarnecki LA et al. Primary pneumonic plague contracted from a mountain lion carcass. *Clinical Infectious Diseases* 49:e33-38, 2009.
29. World Health Organization. Plague in the Americas. *Scientific Publication* 115:44-68, 1965.
30. Yanagihara R, Gajdusek DC, Gibbs CJ, Traub R. Prospect Hill virus: serologic evidence infection in mammalogists. *New Engl J Med* 310(20): 1325-26, 1984.

TABELA 1: Distribuição das amostras analisadas pela função no PCP e área de atuação dos doadores.

Área de atuação: UF e área focal de peste										
Função no PCP	PE = 31 (49,2 %)			CE = 21 (33,3 %)			RN = 11 (17,5%)		Total = 63	%
	Borborema	Triunfo	Araripe	Araripe	Ibiapaba	Baturité	Borborema	Apodi		
Agente de endemias	03	08	0	03 (01)	07 (01)	05	05	03	34	54,0
Agente de saúde	07	02	05	0	0	0	0	02	16	25,4
Laboratorista	0	03	0	02	01	01	01	0	08	12,7
Motorista	0	01	0	01	01	0	0	0	03	4,7
Supervisor	01 (*)	0	01	0	0	0	0	0	02	3,2
Total	11	14	06	06	09	06	06	05	63	100 %

() Sororeagentes para hantavírus

(*) Reagente para *Yersinia pestis*

CAPÍTULO 3

RESULTADOS COMPLEMENTARES**PESQUISA DE ANTICORPOS PARA HANTAVÍRUS EM ROEDORES DOS
ESTADOS DE PERNAMBUCO, BAHIA E RIO GRANDE DO NORTE**

Érika CV Costa, Gerlane T Souza Chioratto, Paulo Thiago M Guaraná, Marise

Sobreira, Alzira MP Almeida.

PESQUISA DE ANTICORPOS PARA HANTAVÍRUS EM ROEDORES DOS ESTADOS DE PERNAMBUCO, BAHIA E RIO GRANDE DO NORTE

Érika CV Costa, Gerlane T Souza Chioratto, PauloThiago M Guaraná, Marise Sobreira, Alzira MP Almeida.

Nesse estudo analisamos 195 amostras de soro de roedores das famílias: Sigmodontinae (107), Cavidae (40), Equimidae (38) e Muridae (10), oriundos das áreas pestíferas dos estados da Bahia, Rio Grande do Norte e Pernambuco, obtidas por equipes do Programa de Controle da Peste (PCP), e em áreas não pestíferas da zona da mata de Pernambuco (cedidas pela equipe do Projeto de Vigilância Eco-Epidemiológica de Leishmaniose coordenado pelo Dr. Sinval P. Brandão Filho do CPqAM). A tabela 1 mostra a distribuição dos roedores por espécie e Unidade da Federação (UF).

Os soros foram submetidos ao ensaio imunoenzimático ELISA com o Kit IBMP EIE IgG HANTEC para pesquisa de anticorpos da classe IgG para hantavírus³. O kit foi cedido pela Coordenação Geral de Laboratórios de Saúde Pública (CGLAB/SVS/MS). O projeto teve financiamento do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq n. 401552/2004 – Ed 392004).

Nenhuma das amostras analisadas foi reagente. Embora um número reduzido de amostras sorológicas provenientes do Rio Grande do Norte (06) e da Bahia (30) ter sido analisado, a ocorrência de dois casos humanos no Rio Grande do Norte (1999 e 2001) e um na Bahia (1996) apontam a circulação do vírus nesses Estados. Curiosamente, 26% do total de soros de Pernambuco foram de roedores já associados à hantavirose no Brasil, mas nenhum apresentou anticorpos anti hantavírus o que sugere que até o momento o vírus não foi disseminado nos focos de peste deste Estado. Por outro lado, a ausência de amostras sororeagentes não exclui a presença de hantavírus entre os roedores em Pernambuco, Rio Grande do Norte e Bahia, pois as áreas estudadas não representam os ecossistemas na sua totalidade.

Estudos preliminares sobre a soroprevalência de anticorpos anti hantavírus em roedores capturados em áreas focais de peste revelou uma prevalência de 3,8% entre roedores da espécie *Akodon cursor* e de 5,8% em *Oligoryzomys nigripes* provenientes do estado do Rio de Janeiro⁴. No Ceará foi detectada soroprevalência de 0,7% em *Necromys lasiurus*.

Até o momento, apenas roedores das subfamílias Sigmodontinae, Arvicolinae e Murinae foram associados como hospedeiros de hantavírus e não se conhece o papel de outras famílias como Cavidae e Echimyidae na epidemiologia da doença^{1,5}. Estudos conduzidos por LeDuc e

colaboradores² na década de 1980, evidenciaram anticorpos anti-Hantaan em roedores da subfamília Murinae em áreas urbanas dos estados de Pernambuco, Pará e São Paulo. Embora haja evidência sorológica da infecção por hantavírus em cães e gatos (predadores de roedores) nos Estados Unidos, ainda não foi possível determinar a importância desses animais para manutenção e transmissão da hantavirose⁶.

Sendo a epidemiologia da SPCVH ainda pouco conhecida, todos os parâmetros devem ser exaustivamente estudados para que se possam estabelecer quais são as áreas de risco, os reservatórios a serem monitorados e variantes virais circulantes.

REFERÊNCIAS

1. Figueiredo GG. et al. Diagnóstico de infecção por hantavírus em humanos e roedores em Ribeirão Preto, Estado de São Paulo. *Rev Soc Bras Med Trop.* 43(4):348-354, julho, 2010.
2. Leduc JW. et al. Isolation of a Hantaan-related virus from Brazilian rats and serological evidence of its widespread distribution in South America. *Am J Trop Med Hyg, Baltimore,* v. 34, p. 810-815, 1985.
3. Raboni SM. et al. Hantavirus infection in Brazil: development and evaluation of an enzyme immunoassay and immunoblotting based on N recombinant protein. *Diagn Microbiol Infect Dis, New York,* v. 58, p. 89-97, 2007.
4. Sobreira M. et al. A serosurvey for hantavirus infection in wild rodents from the states of Rio de Janeiro and Pernambuco, Brazil. *Acta Trop.* 107(2):150-2, 2008.
5. Suzuki A. et al. Identifying rodent hantavirus reservoirs. Brazil. *Emerg Infect Dis,* Atlanta, v. 10, p. 2127–2134, 2004.
6. Zeier M. et al. New ecological aspects of hantavirus infection: a change of a paradigm and a challenge of prevention--a review. *Virus Genes.*30(2):157-80, 2005.

TABELA 1
Distribuição dos roedores analisados por espécie e UF

Família	Espécies	Origem			Total
		PE	BA	RN	
	<i>Necromys lasiurus*</i>	45	10	-	55
	<i>Cerradomys spp.</i> (<i>Oryzomys subflavus</i>)	18	11	-	29
Sigmodontíneos	<i>Nectomys squamipes</i>	20	-	-	20
	<i>Holochilus sciureus*</i>	2	-	-	2
	<i>Wiedomys pyrrhorhinos</i>	1	-	-	1
Equimídeos	<i>Thrichomys apereoides</i>	29	6	-	35
Cavídeos	<i>Galea spixii</i>	40	-	-	40
Murídeos	<i>Rattus rattus*</i>	4	-	6	10
Sem identificação			3	-	3
	Total	159	30	6	195

* Espécies associadas à hantavírus.

5 CONCLUSÃO

- A presença de anticorpos contra hantavírus no estado do Ceará é um indicativo da circulação desse vírus entre os roedores e a possibilidade de ocorrência de casos humanos nesses locais, embora não haja até o momento registro de notificações.
- A ausência de reagentes não exclui definitivamente a ocorrência de hantavírus na região, já que existem condições epidemiológicas e reservatórios constituindo um potencial de risco nessas áreas. A ausência de sororeagentes para hantavírus nos estados da Bahia, Rio Grande do Norte e Pernambuco pode estar relacionada ao pequeno número de amostras analisadas e ao tamanho das áreas estudadas não representarem os ecossistemas na sua totalidade.
- A ocorrência de sororeagentes para hantavírus e peste entre os profissionais evidencia o potencial de risco ocupacional para os que lidam com essas zoonoses e justifica a importância de medidas estritas de biossegurança e o uso rigorosos de EPI nas atividades de risco.
- A detecção de roedores positivos evidencia a necessidade de aprofundamento das investigações e ampliação da capacidade de detecção de hantavírus, para estabelecimento de medidas de controle, a fim de evitar a ocorrência de casos.

APÊNDICE

APÊNCIDE A –TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Eu, _____
 aceito participar do projeto intitulado “**Inquérito Sorológico e Epidemiológico de Hantavíroses no Nordeste do Brasil**” e da rotina de **diagnóstico sorológico para peste** desenvolvidos no Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães/FIOCRUZ.

Recebi a informação de que o propósito principal do referido projeto é a condução de investigações relativas às doenças virais e bacterianas, **em especial as doenças em estudo.**

Assim, permito ser submetido à rotina de investigação para os procedimentos diagnósticos indicados para esse objetivo, tais como exames laboratoriais (coleta de sangue), bem como preencher uma ficha de investigação epidemiológica. Estou ciente que todo o material utilizado para a coleta de sangue será estéril e descartável não oferecendo nenhum risco adicional ao de uma coleta de sangue, e que, ao serem apresentados os resultados deste estudo, o meu nome não será identificado.

Antes de minha participação no referido projeto, o seu responsável ou outro profissional envolvido na investigação, forneceu as informações para meu melhor entendimento e solicitou o meu consentimento para os procedimentos relacionados à pesquisa.

Autorizo a Fundação Oswaldo Cruz (CPqAM/FIOCRUZ) a conservar, sob sua guarda, a espécime coletada a partir da amostra de sangue, para exame de laboratório com o objetivo futuro de pesquisa médica ou educacional. Autorizo ainda a utilização destas informações médicas obtidas de minha pessoa, em reuniões, congressos e publicações científicas preservando neste caso a minha identidade.

Este “Termo de Consentimento” me foi totalmente explicado e eu entendi seu conteúdo.

Finalmente, estou ciente que poderei recusar ou retirar meu consentimento, em qualquer momento da investigação, sem qualquer penalização.

 Assinatura do participante

 Data

Endereço: _____ Telefone: _____

 Assinatura do membro da equipe – CPqAM/FIOCRUZ

 Data

Endereço: _____ Telefone: _____

OBS: Este Termo de consentimento foi elaborado e assinado em duas vias, ficando uma com o sujeito da pesquisa e outra arquivada com o pesquisador.

APÊNDICE B – QUESTIONÁRIO

Projeto: Inquérito Sorológico e Epidemiológico de Hantavirose no Nordeste do Brasil

Ficha Epidemiológica

Nome: _____

Data de Nascimento: ____/____/____

Endereço residencial: _____

Endereço do Trabalho: _____

Cargo/função: _____

Vínculo: _____

1-Tempo de serviço (contato com roedores)

- () menos de 1 ano
 () menos de 2 anos
 () menos de 5 anos
 () mais de 5 anos
 () mais de 10 anos

2-Já sofreu algum tipo de acidente no trabalho com roedores, em caso afirmativo qual o tipo de acidente?

- () Sim () Não

Tipo: _____

3- No trabalho com roedores você utiliza equipamentos de proteção individual (EPI)

- () Sim () Não

Quais: _____

4- Em caso afirmativo a quanto tempo você usa EPI

- () Desde que iniciou os trabalhos com roedores
 () A partir dos últimos 2 anos
 () A partir dos últimos 5 anos

5- Você costuma consultar um médico periodicamente

- () Sim () Não

6- Já teve alguma doença associada a sua atividade com roedores?

- () Sim () Não

Qual?: _____

Data da coleta: ____/____/____

Local: _____

APÊNDICE C – QUESTIONÁRIO

Inquérito Sorológico de Peste-Ficha de informações

Nome: _____

Data de Nascimento: _____/_____/_____

Endereço residencial: _____

Cargo/função: () IC () Mestrado () Doutorado () Técnico () Outro: _____

1- Há quanto tempo trabalha com *Yersinia pestis*?

- () menos de 1 ano
 () Entre 2-5 anos
 () Entre 5-10 anos
 () Acima de 1 ano

2- Que tipo de manipulação você realiza?

- () Trabalhos de campo
 () Manipulação da bactéria e ou F1
 () Manipulação de soro
 () Manipulação de material genético
 () Outro: _____

3- Já sofreu algum tipo de acidente durante os trabalhos com *Y. pestis*?

- () Não () Sim Qual: _____

4- Apresentou alguma doença possivelmente relacionada ao seu trabalho?

- () Não () Sim Qual: _____

5- Costuma usar EPI? Caso afirmativo, há quanto tempo?

- () Não () Sim Qual: _____

Tempo: _____

Recife, ____ de _____ de 20__

Assinatura: _____

Comentários: _____
