

**UNIVERSIDADE DE SANTO AMARO – SP
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO
MESTRADO PROFISSIONAL EM ANÁLISES
CLÍNICAS**

IONI OLIVEIRA SANTOS

**EPIDEMIOLOGIA DA HANTAVIROSE NA ÁREA DE
ABRANGÊNCIA DO ESCRITÓRIO REGIONAL DE SAÚDE DE
COLÍDER - MT, NO PERÍODO DE 2007 A 2009.**

São Paulo/SP

2011

IONI OLIVEIRA SANTOS

**EPIDEMIOLOGIA DA HANTAVIROSE NA ÁREA DE
ABRANGÊNCIA DO ESCRITÓRIO REGIONAL DE SAÚDE DE
COLÍDER-MT, NO PERÍODO DE 2007 A 2009.**

Dissertação apresentada para obtenção do título de Mestre em Análises Clínicas do Mestrado em Análises Clínicas do Programa de Pós-Graduação da Universidade de Santo Amaro, sob a orientação da Dra. Celidéia A. Coppi Vaz

São Paulo/SP
2011

**Ficha Catalográfica elaborada pela
Biblioteca Milton Soldani Afonso – Campus I**

S235e	Santos, Ioni Oliveira Epidemiologia da Hantavirose na área de abrangência do Escritório Regional de Saúde de Colíder-MT, no período de 2007 a 2009 / Ioni Oliveira Santos. Orientação da Profa. Dra. Celidéia A. Coppi Vaz. -- São Paulo : 2011. 104 p. Dissertação (Mestrado). Área de Concentração em Análises Clínicas. Faculdade de Biomedicina. Universidade de Santo Amaro. 1. Hantavirus 2. Inquérito Sorológico 3. Epidemiologia I. Título II. Orientador
-------	--

Autorizo a impressão parcial ou total do meu trabalho acadêmico para fins de divulgação científica.

São Paulo, 17 de maio de 2011.

IONI OLIVEIRA SANTOS

EPIDEMIOLOGIA DA HANTAVIROSE NA ÁREA DE ABRANGÊNCIA DO
ESCRITÓRIO REGIONAL DE SAÚDE DE COLÍDER-MT, NO PERÍODO DE
2007 A 2009.

Dissertação apresentada para obtenção do título de Mestre em Análises Clínicas do Mestrado Profissional em Análises Clínicas do Programa de Pós-Graduação da Universidade de Santo Amaro/UNISA.

Data de Aprovação: 17/05/2011

BANCA EXAMINADORA

Dra. Celidéia Aparecida Coppi Vaz (Orientadora)
Doutora em Imunologia – Instituto de Ciência Biomédicas – USP

Dra. Maria Lúcia Barbosa de Oliveira Rácz
Doutora em Microbiologia - USP

Dra. Carolina Guilherme Prestes Beyrodt
Doutora em Imunologia, Microbiologia e Parasitologia – UNIFESP

CONCEITO FINAL: Aprovado

Dedico a Noely, minha companheira, fonte inesgotável de força em todos os momentos desta e de outras caminhadas.

Ao meu saudoso pai Clemente (*in memoriam*), e minha mãe Maria, que sempre me incentivaram a dar um passo a mais além dos primeiros quando me ensinaram a caminhar.

A Maria Gabriela e Victor, filhos amados, pela compreensão da minha ausência durante este período de construção do conhecimento.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus, pela vida!

Este trabalho não existiria se não fosse à colaboração de meus queridos companheiros de trabalho da área da saúde, em especial:

Angela, Antonio Carlos, Francelina, Kelsilene, Luciene, Marise, Melchior, Milton, Neide, Osvaldo, Sandra e Sandrinha, minha equipe de trabalho do Escritório Regional de Saúde de Colíder-ERSCOL;

A Secretaria de Estado de Saúde de Mato Grosso, por ter entendido minha proposta e concedido licença para capacitação profissional, sem a qual jamais teria as condições para realizar este mestrado;

À equipe de vigilância epidemiológica da SES/MT, em especial: Alba, Cidão, Guilherme e Cilene;

A Sonia - Vig. Epidemiológica do município de Marcelândia, pela parceria neste trabalho;

Ao senhor Decil e equipe (FUNASA), no auxílio do trabalho de campo no Assentamento Tupã em Marcelândia;

Equipe do Laboratório de Análises Clínicas do Hospital Regional de Saúde de Colíder – HRCOL;

A professora Dra. Maria Regina A. Azevedo, pela acolhida e atenção dispensada a minha pessoa no mestrado;

A professora Dra. Celidéia A. Coppi Vaz, pelo incentivo incontestável as minhas iniciativas, além da orientação e dicas fundamentais neste trabalho;

A todos os professores do mestrado em Análises Clínicas da UNISA;

A professora Dra. Jane Armond, pelo carinho e atenção dispensada na disciplina de epidemiologia, muito útil neste trabalho;

Ao Dr. Neil e Dra. Yara que me ajudaram a fazer as análises estatísticas;

Ao professor Dr. Luis Tadeu Moraes Figueiredo, pelo apoio logístico a minha pesquisa, acolhida e oportunidade no Centro de Pesquisa em Virologia da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo de Ribeirão Preto/CPV/FMRP/USP/SP;

A Doutoranda Glauciane Garcia de Figueiredo, pelo apoio nas análises laboratoriais e por seu companheirismo neste trabalho;

Aos moradores do Assentamento Tupã que participaram da amostragem sorológica;

Aos meus irmãos: Ismena, Ivan, Ivani, Ismael, Ilário, Eldir, Luiza (in memoriam) e Israel pelo apoio e incentivo constante;

Aos meus primos Elio, Jonas, Francisco, Lino, Laércio e Evangelista e seus familiares que me proporcionaram a sensação que mesmo estando longe de casa estava perto dos meus;

Ao senhor Antonio (Bahia) por me acolher em seu lar durante as idas e vindas para orientações neste trabalho;

Enfim, a todas as pessoas que direta ou indiretamente contribuíram para realização de mais esta jornada, entre tantas que ainda tenho por vencer.

*“Ninguém é tão pequeno que não
possa ensinar...”*

*“Nem tão grande que não possa
aprender...”*

Voltaire

RESUMO

SANTOS, I. O. Epidemiologia da Hantavirose na área de abrangência do Escritório Regional de Saúde de Colíder-MT, no período de 2007 a 2009. 2011. 104p. Dissertação (Mestrado) – Campus I, Universidade de Santo Amaro, 2011.

Introdução: As hantavirose são zoonoses de roedores que transmitem ao homem seu agente etiológico, o vírus do gênero *Hantavirus*, da família *Bunyaviridae*. Os hantavírus nas Américas causam uma síndrome que não possui tratamento específico. A transmissão ocorre pela inalação de aerossóis de excretas de roedores. O objetivo do presente trabalho é o de realizar um levantamento de casos de hantavirose na área de abrangência do Escritório Regional de Saúde de Colíder-MT, no período de 2007 a 2009. Com isso, pretende-se conhecer as características dos pacientes e descrever os aspectos clínicos e laboratoriais dos casos positivos. Faz parte dos objetivos, determinar a frequência de anticorpos IgG anti-hantavirus em uma população rural do município de Marcelândia/MT. O estudo foi conduzido de forma transversal para avaliar dados epidemiológicos, clínicos e laboratoriais. Os resultados mostraram uma frequência de 13% de anticorpos da classe IgG anti-hantavirus em uma população rural constituída de pessoas aparentemente hígidas do extremo norte do Estado de Mato Grosso. Foi possível analisar dados de 37 pacientes com exame confirmatório para hantavirose e que foram atendidos nas unidades de saúde pública situada na área de abrangência do ERSCOL. O maior número de casos de hantavirose ocorreu no gênero masculino. A letalidade averiguada foi de 43,2% e a média de idade foi de 34,2 anos, ocorrendo entre 20 a 50 anos de idade. Os sinais/sintomas mais frequentes foram febre, cefaléia, dispnéia, náuseas/vômitos. Exames complementares de 30 pacientes internados com dados disponíveis de Rx de tórax mostraram que 26 apresentaram alterações significativas. As alterações mais frequentes nos exames hematológicos foram trombocitopenia e distúrbio de coagulação presente em 93,8% dos pacientes. Hematócrito acima de 45% foi verificado em 78,1%, neutrofilia em 75%, desvio a esquerda 68,8% e leucocitose 62,5% dos pacientes. A relação entre hidratação endovenosa e evolução clínica parece mostrar prognóstico negativo entre aqueles que receberam 2000 ml ou mais nas primeiras 24 horas. Os casos de hantavirose acontecem nesta região durante todo o ano, não tendo uma sazonalidade definida.

Palavras Chaves: hantavirose, Epidemiologia, Inquérito Sorológico.

ABSTRACT

SANTOS, I. O. Epidemiology of Hantavirus in the area covered by the Regional Office of Health Colíder-MT in the period 2007 to 2009. 2010. 104p. Thesis (Masters) - Campus I, Universidade de Santo Amaro, 2011.

Introduction: The hantaviruses are zoonosis from rodents that transmit to man its etiologic agent, the virus of the genus *Hantavirus* of the family *Bunyaviridae*. The hantavirus in the Americas cause a syndrome has not specific treatment. Transmission occurs by inhalation of aerosols of rodent excreta. The objective of this work is to realize a survey of hantavirus infection in the area covered by the Regional Office of Health Colíder-MT 2007 to 2009. The profile of patients and the clinical and laboratory aspects of positive cases were studied. The frequency of IgG antibodies to hantavirus in a rural population of the municipality of Marcelândia / MT was also determined. It results shows a frequency of 13% of the anti-hantavirus antibody in healthy population from the extreme north of Mato Grosso. It was also possible to analyze data from 37 patients with positive test for hantavirus infection treated at public health units located in the area of ERSCOL. The largest number of cases of hantavirus occurred in males. Mortality observed was 43.2% and the average age was 34.2 years, with prevalence among 20 to 50 years old. The most common signs / symptoms were fever, headache, dyspnea, nausea / vomiting. Additional examinations in 30 inpatients with available data of X-ray loque that 26 showed significant alterations. The most frequent alterations in hematological examinations were thrombocytopenia and coagulation disorder, present in 93.8% of patients. Hematocrit above 45% was observed in 78.1%, neutrophils in 75%, a left shift in 68.8% and leucocytosis in 62.5% of patients. The relationship between intravenous hydration and clinical evolution seems to show a negative prognosis among those people who received 2000 mL or more in 24 hours. Cases of hantavirus occur in this region throughout the year and a defined seasonality was not present.

Keywords: Hantavirus, Epidemiology, Serological Survey.

TABELAS

Tabela 1. Número de casos e óbitos por Hantavirose por unidade federada, provável local de infecção e ano. Brasil, 1993 a agosto/2010 ¹ .	22
Tabela 2. <i>Primers</i> de região dos genes de N e Gn utilizados em RT-PCR para diagnóstico e estudo filogenético de Hantavirus brasileiros (MORELI, 2004).	45
Tabela 3. Casos de hantavirose confirmados no período de 2007 a 2009 atendidos nos estabelecimento de saúde da área de abrangência do ERSCOL.	47
Tabela 4. Comparação das porcentagens de óbitos entre gêneros.	48
Tabela 5. Distribuição dos casos por faixa etária e frequências relativas	49
Tabela 6. Comparação entre a conduta adotada e cura.	50
Tabela 7. Período mediano de procura pelo atendimento médico.	51
Tabela 8. Frequência dos sinais e sintomas.	51
Tabela 9. Parâmetros hematológicos alterados nos casos de hantavirose atendidos na área de abrangência do ERSCOL no período de 2007/2009..	53
Tabela 10. Comparação entre hidratação endovenosa e evolução para cura	54
Tabela 11. Resultado do Inquérito sorológico realizados no Assentamento Tupã do município de Marcelândia/MT.	55
Tabela 12. Ocupação e escolaridade dos participantes do Inquérito sorológico realizados no Assentamento Tupã do município de Marcelândia/MT.	55

¹ Dados do número de óbitos por hantavirose até agosto de 2010 - sujeito a alterações.

Tabela 13. Origem da população de estudo e frequência relativa dos 56 casos positivos.

Tabela 14. Comparação entre presença de anticorpos anti-hantavirus e a 57 origem dos participantes.

Tabela 15. Nível de informações dos participantes do inquérito sobre 57 hantavirose.

Tabela 16. Relação entre forma de armazenar cereais e presença de 58 anticorpos anti-hantavirus.

Tabela 17. Relação entre contato com roedores e presença de anticorpos 58 anti-hantavirus.

Tabela 18. Ambiente do entorno das residências dos participantes do 59 inquérito.

Tabela 19. Relação entre o tipo de ambiente de entorno da residência e 59 presença de hantavirus.

Tabela 20. Condições de abastecimento e tratamento de água no 60 Assentamento Tupã do município de Marcelândia/MT.

Tabela 21. Relação entre água de consumo e presença de anticorpos 60 anti-hantavirus.

Tabela 22. Sinais e sintomas relatados pelos participantes do inquérito 60 sorológico nos últimos 60 dias.

Tabela 23. Doenças pré-existentes relatadas pelos participantes do 61 inquérito sorológico.

FIGURAS

- Figura 1. Representação esquemática de vírus da família *Bunyaviridae*. 30
Fonte: adaptado de MEDEIROS, 2004.
- Figura 2. Distribuição dos hantavirus causadores de SPCVH nas Américas e 33
seus respectivos reservatórios. **fonte:** www.cdc.gov/hanta.
- Figura 3. Ilustração de uma situação comum, na qual seres humanos podem se 35
contaminar com hantavirus.
Fonte: http://www.nsf.gov/news/newsletter/jul_06/index.jsp
- Figura 4. Mapa da área geográfica dos Escritórios Regionais de Saúde do 39
Estado de Mato Grosso. Fonte: SES/MT.
- Figura 5. Taxa de letalidade dos casos de hantavirose atendidos na área de 49
abrangência do ERSCOL no período de 2007 a 2009
- Figura 6. Sazonalidade da Hantavirose na área de abrangência do ERSCOL no 50
período de 2007 a 2009.
- Figura 7. Critério de confirmação do diagnóstico dos 37 casos de hantavirose 52
atendidos na área de abrangência do ERSCOL, no período de 2007 a 2009.
- Figura 8. Perfil bioquímico dos pacientes com hantavirose atendidos em 54
estabelecimentos de saúde da área de abrangência do ERSCOL no período de
2007 a 2009.
- Figura 9. Resultado da RT-PCR dos pacientes que apresentaram IgG positivo 61
pelo método ELISA.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

>	Maior que
<	Menor que
%	Porcentagem
ABTS	Substrato enzimático (2,2-azino-di [3-ethybenthiazoline sulfonate])
ANDV	Vírus <i>Andes</i>
CASV	Vírus <i>Castelo dos Sonhos</i>
CDC	Centers for Disease Control and Prevention
CTI	Centro de Terapia Intensiva
DNTPs	Deoxinucleotídeos trifosfatos
DOBV	Vírus Dobrava
ELISA	Ensaio imunoenzimático / Enzyme-Linked Immunosorbent Assay
ERSCOL	Escritório Regional de Saúde de Colíder
FHSR	Febre Hemorrágica com Síndrome Renal
g	Grama
Gn	Glicoproteína n
Gc	Glicoproteína c
HRCOL	Hospital Regional de Saúde de Colíder
HTNV	Vírus <i>Hantaan</i>
IEC	Instituto Evandro Chagas
IFI	Imunofluorescência Indireta
IgG	Imunoglobulina G
IgM	Imunoglobulina M
KHF	Febre Hemorrágica da Coreia
NB3	Laboratório com nível de biossegurança 3
mL	Mililitro
mm ³	Milímetro cúbico
nm	Nanômetro
MT	Mato Grosso
OMS	Organização Mundial da Saúde
PA	Pará
pb	Pares de base
PBS	Solução salina tamponada
PBS-Tween	Solução Salina Tamponada adicionada Tween-20 0,005%
pH	Potencial hidrogeniônico
PUUV	Vírus Puumala
RNA	Ácido Ribonucléico
RT	Transcrição reversa
RT-PCR	Reverse Transcriptase Polymerase Chain Reaction
SARA	Síndrome da Angústia Respiratória Aguda
SES	Secretaria de Estado de Saúde
SEOV	Vírus Seoul
SPCVH	Síndrome Pulmonar e Cardiovascular por Hantavírus
SPH	Síndrome Pulmonar por Hantavirus
TAP	Tempo e Atividade da Protrombina
TTPA	Tempo de Tromboplastina Parcial Ativada
UTI	Unidade de Terapia Intensiva
VERO E-6	Células de rim de macaco verde africano

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO.....	14
1.1 Breve histórico.....	15
1.1.1 Hantavirose no Brasil.....	18
1.2 Patologia.....	23
1.2.1 Febre Hemorrágica com Síndrome Renal (FHSR).....	24
1.2.1.1 Síndrome Pulmonar e Cardiovascular por Hantavírus (SPCVH).....	25
1.2.1.1.1 Resposta Imune na SPCVH.....	28
1.3 Os Hantavírus.....	29
1.4 Reservatórios.....	31
1.5 Transmissão.....	34
1.6 Diagnóstico Laboratorial.....	35
2 OBJETIVOS.....	37
2.1 Geral.....	37
2.1.1 Específico.....	37
3 MATERIAIS E MÉTODOS	38
3.1 Aspectos éticos.....	40
3.1.1 Condição do estudo.....	40
3.1.2 Local.....	40
3.1.3 População do Estudo.....	41
3.2 Determinação da frequência de hantavirose	41
3.3 Determinação de anticorpos anti-hantavirus	42
3.3.1 Método ELISA (EIA-IgG).....	42
3.3.4 Método RT-PCR.....	44
3.4.1 Extração de RNA.....	44
3.4.2 RT-PCR para amplificação do genes N e Gn de <i>hantavirus</i>	44
3.5 Análises Estatísticas.....	45
4 RESULTADOS	47
4.1 Dos Pacientes	47
4.1.1 Do Inquérito Sorológico.....	50
5 DISCUSSÃO DOS RESULTADOS.....	62
5.1 Discussão dos resultados da análise dos dados de pacientes.....	62
5.1.1 Discussão dos resultados do inquérito sorológico	72
6 CONCLUSÃO.....	77
REFERÊNCIAS.....	78
ANEXOS.....	86

1. Introdução

O norte de Mato Grosso, nos últimos anos vem se revelando ambiente adequado para a disseminação de diversos agravos de saúde diretamente associados a vetores e hospedeiro silvestres. Entre os diversos agravos há alguns considerados endêmicos como a malária, a leishmaniose, a febre amarela entre outras. Na última década, roubando o cenário de forma expressiva desponta a hantavirose, agravo considerado emergente, que vem ceifando diversas vidas de pessoas, principalmente trabalhadores rurais.

As hantavíroses são zoonoses relacionadas diretamente a roedores, pertencentes a diferentes espécies que habitam ecossistemas distribuídos na maior parte do planeta. Até o momento, só não foi descrita hantavirose na Oceania e Antártida, sendo isso atribuído à ausência de roedores reservatórios nestes continentes (PETERS e KHAN, 2002; LEDNICK, 2003). Os agentes patogênicos deste agravo são vírus da família *Bunyaviridae*, que experimentaram com a transmissão para humanos, ao serem principalmente inalados através da aerossolização de excretas e secreções de roedores contaminados (SCHMALJOHN & HJELLE, 1997; SIMMONS & RILEY, 2002).

Nas Américas, a hantavirose foi reconhecida como entidade patológica em 1993, quando uma epidemia vitimou nativos de uma aldeia de Four Corners nos Estados Unidos (NICHOL et al, 1993; CDC, 1993). No mesmo ano registraram-se casos no Brasil, no município de Juquitiba, no Estado de São Paulo (IVERSSON et al., 1994). Em 1993, estudo retrospectivo atribuiu a hantavírus oito casos diagnosticados clinicamente como febre hemorrágica, sendo um destes casos do Estado de Mato Grosso (IVERSSON et al., 1994).

No Brasil, foram descritos 1335 casos da doença até agosto de 2010. Destes, 525 evoluíram para óbito, correspondendo a uma letalidade em torno de 40%. Todas as regiões brasileiras relataram a presença do agravo, porém o Sul, Sudeste e Centro-Oeste brasileiro, juntos, respondem por 91,2% (1218) dos casos (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2010).

De 1999 até agosto de 2010, foram registrados no Estado de Mato Grosso (MT) 206 casos de hantavirose, e em 86 (43%) destes os pacientes foram a óbito

(MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2010). De 2007 até os dias atuais, MT vem liderando em números de casos no Brasil. A diversidade de ecossistemas presentes no Estado e as atividades econômicas parecem ter um papel importante na frequência de casos positivos. Nas regiões de monocultura agrícolas do Estado a hantavirose pode estar diretamente ligada ao ciclo de colheita e plantio. Porém no extremo norte, onde prevalece a atividade pecuária, não está definida uma sazonalidade para a hantavirose.

O surgimento de doenças infecciosas e sua disseminação não são influenciados apenas por fatores climáticos. Determinantes humanos, biológicos, econômicos e ecológicos também têm papel fundamental na emergência e reemergência de doenças. A compreensão da interação destes fatores climatológicos e ecológicos e demais determinantes, explicaria a presença das doenças emergentes e reemergentes nas Américas (PATZ, et al, 1996; SCHMIDT, 2006).

Dos 206 casos de hantavirose descritos em MT, 19 (9,2%) têm como local provável de infecção municípios da área de abrangência do Escritório Regional de Saúde de Colíder – MT (ERSCOL). O registro oficial de casos de hantavirose no Estado deu-se a partir de 1999, porém, fator importante é que os primeiros casos registrados nos municípios do ERSCOL datam de 2007, um crescimento considerável num curto prazo de tempo. A baixa frequência do número de casos diagnosticados somada à gravidade, alta letalidade e o pouco conhecimento clínico e epidemiológico desta doença preocupa as autoridades de saúde (ORGANIZAÇÃO PANAMERICANA PARA SAÚDE (OPAS), 1999).

1.1 Breve histórico

Até 1993, os hantavírus eram conhecidos como causadores da Febre Hemorrágica com Síndrome Renal (FHSR), nome sugerido pela Organização Mundial de Saúde (OMS) para classificar um grupo de doenças que causavam disfunção renal, conhecida desde 1913 na Europa e Ásia e, a partir de 1986, na África (LEE, 1998).

Há relatos datados de 1932 de casos de doença com sintomatologia semelhante FHSR no Vale do Rio Amon na Rússia e, ao mesmo tempo em soldados japoneses na região da Manchúria (LEE et al, 1978). Entre 1951 e 1954, soldados de tropas americanas acampadas na Coreia desenvolveram uma rara doença desconhecida pelos médicos, caracterizada por febre, cefaléia, dores abdominais, lombares e torácicas, eritema facial e manifestações hemorrágicas variadas, acompanhada de alta letalidade; cinco a 10% dos afetados faleciam por choque e insuficiência renal (SCHMALJOHN e NICHOL, 2007).

A doença na época ficou conhecida como Febre Hemorrágica da Coreia (FHC), e centenas de casos foram descritos entre civis e militares, em regiões rurais e urbanas, com altas taxas de morbidade e letalidade (MORALES, 2000). A partir deste fato, a patologia começou chamar a atenção de pesquisadores do ocidente e correlação com episódios anteriores começou a ser feita, como o acometimento de milhares de soldados da Alemanha, em 1943, na segunda guerra mundial na Finlândia, e uma epidemia muito parecida entre soldados ingleses, franceses e alemães na primeira grande guerra, em 1916, denominada na época como “Nefrite de Guerra” (GAJDUSSEK, 1962; RABONI, 2006). Médicos das forças militares japonesas relataram casos de FHSR em 1934 e 1935 em suas tropas acampadas na província Heilongjiang no nordeste da China. Nesta região os Chineses denominavam a doença como “Febre do Songo” (GONZALEZ-SCARANO, F. & NATHANSON, N, 1990).

Em 1976, foi confirmada a etiologia de origem viral da FHSR e identificado o reservatório natural. Mas somente em 1978 foi isolado pela primeira vez um dos agentes causadores de FHSR, o vírus *Hantaan* (HTNV) a partir do pulmão de um roedor *Apodemus agrarius coreae*. O nome *Hantaan* está relacionado a um rio de mesmo nome localizado entre as duas Coreias, onde foi capturado o roedor coletado que culminou com o isolamento deste hantavírus (FRENCH et al., 1981; LEE et al, 1978). A partir desta data várias espécies de hantavírus causadores de FHSR foram identificadas na Europa e Ásia, sendo a maioria dos casos atribuída aos vírus HTNV, Seoul (SEOV), Puumala (PUUV) e Dobrava (DOBV) (AVSIC-ZUPANC et al, 1992).

Nas últimas décadas, casos com semelhantes quadros epidemiológicos, clínicos e patológicos foram descritos em ampla área da União Soviética estendendo-se até a Hungria, Checoslováquia, Iugoslávia e Bulgária, e a doença passa a ser denominada como Febre Hemorrágica com Síndrome Renal (TKACHENKO et al, 1992).

O primeiro isolamento de hantavírus em humanos foi realizado na Europa. O paciente era um soldado grego que provavelmente se infectou durante atividades militares e, então, se obteve um sorotipo similar ao HTNV que havia sido isolado a partir de roedor (ANTONIADIS et al, 1987).

Inquérito soro-epidemiológico realizado durante um surto na Bélgica de 1992 a 1994, no qual foi usada a reação de Imunofluorescência Indireta (IFI), mostrou que a forma da hantavirose européia devida ao vírus PUUV foi mais frequente que a causada pelo vírus HTNV nessa região (MORALES, 2000; NIKLASSON et al, 1995). Antígenos *Hantaan* têm sido detectados nos pulmões de 10 diferentes espécies de roedores capturados em diferentes regiões da Rússia. A maior taxa de infecção foi encontrada entre os roedores *Rattus norvegicus* (25%) e *Clethrionomys glareolus* (12,8%), e taxas significantes também foram detectadas em *Apodemus* e *Microtus* (OMS, 1982).

Em 2004, foi isolado em um rato da madeira (*Hylomyscus simus*) o primeiro hantavirus no continente Africano, tendo sido denominado vírus Sangassou (SANGV) na Guiné, na África Ocidental. No mesmo ano foram encontrados anticorpos anti hantavirus em 4,8% de 68 pacientes com febre de origem desconhecida na aldeia Sangassou. Em inquérito sorológico populacional na Floresta da Guiné foi encontrada prevalência de 1,2% de anticorpos anti hantavírus (KLEMPA et al, 2006).

Recentemente, no inverno de 2006, foi registrado um grande surto de FHSR na região central da Rússia. Foram investigados 422 casos de FHSR e, destes, 58 pacientes estavam contaminados pelo vírus PUUV e 364 pelo vírus DOBV. As análises moleculares evidenciaram que a linhagem DOBV-Aa, que está associada ao rato do campo listrado *Apodemus agrarius*, seu reservatório natural, é um patógeno comum no leste europeu, que causa epidemia de FHSR (DZAGUROVA et al, 2009).

Nas Américas, os primeiros registros de hantavirose em humanos datam de junho de 1993, quando uma estranha enfermidade grave foi observada na região sudoeste dos Estados Unidos, que acometia indivíduos jovens nativos e aparentemente hígidos da região de Four Corners, Estados Unidos (CDC, 1993; NICHOL et al, 1993). A doença, na época desconhecida, assemelhava-se com um quadro gripal e evoluía com dificuldade respiratória progressiva grave, provocada por edema pulmonar bilateral difuso não cardiogênico, sendo indistinguível da síndrome da angustia respiratória aguda (SARA). Os pacientes, em poucos dias podiam evoluir para o óbito. Na época a letalidade desta doença variava entre 50 a 75% dos

acometidos (MORALES, 2000; PETER, 1998; PETER et al, 2002). Também em 1993, foram registrados os primeiros casos de hantavirose no Brasil. Tratou-se de um surto envolvendo três trabalhadores rurais do município de Juquitiba/SP. Na ocasião dois deles foram a óbito com insuficiência respiratória aguda, e posteriormente exames sorológicos comprovaram a infecção por hantavírus (IVERSSON, 1996).

A partir dos primeiros casos em 1993 nos EUA, uma sistemática investigação do agente causal foi iniciada. Nesta investigação foi incluída pesquisa de anticorpos anti hantavírus, bem como colorações imunohistoquímicas e pesquisas do RNA viral específico. Desta forma, a presença do hantavírus foi evidenciada como novo agente de doença humana no continente americano (ELIOTT et al, 1994). Aproximadamente dois meses após a confirmação dos primeiros casos, determinou-se que se tratava de doença causada por hantavírus com quadro clínico diferente da FHSR na Eurásia. Inicialmente, a doença foi denominada Síndrome Pulmonar por Hantavirus (HPS) e, posteriormente, passou a ser conhecida como Síndrome Pulmonar e Cardiovascular por Hantavirus (SPCVH), nome que dá ênfase ao comprometimento pulmonar e cardiocirculatório (FIGUEIREDO et al., 2003; PINCELLI et al, 2003).

O novo hantavírus americano com epidemiologia relacionada a roedores selvagens da espécie *Peromyscus maniculatus* foi denominado, primeiramente, como Four Corners, seguindo a tradição científica de atribuir o nome da localidade em que foi registrado pela primeira vez. Mas como este agente etiológico desencadeava uma doença com maus prognósticos e letalidade alta, a população local, por objeção de relacionar um agravo desconhecido e mortal à localidade, relutou para que houvesse uma mudança no nome; assim, por consentimento, os pesquisadores acataram e a partir de 1994 o vírus foi denominado vírus “*Sin Nombre*” (NICHOL et al, 1993; RABONI, 2006; ZAKI et al., 1995).

1.1.1 Hantavirose no Brasil

Em 1976 no estado de São Paulo, constatou-se a presença de anticorpos IgG e IgM para hantavírus em pacientes internados com diagnóstico clínico de leptospirose

(VASCONCELOS et al, 1997). Em inquéritos sorológicos realizados em roedores capturados nos estados do Pará, de São Paulo e de Pernambuco também foi demonstrada a presença de anticorpos anti hantavírus em 56% dos roedores capturados no município de Belém do Pará, em 14% em São Paulo e em 6% em Olinda e Recife (LEDUC et al, 1986).

O hantavírus foi isolado pela primeira vez no Brasil, no estado do Pará, de um *Rattus norvegicus*, na década de 80, o qual apresentava características antigênicas semelhantes ao vírus SEOV. Corrobora com isso, o vírus ter sido isolado em roedor murineo, ser originário do velho mundo e introduzido no continente americano, atualmente com ampla distribuição. Em pesquisa feita em parceria entre o Instituto Evandro Chagas (IEC) de Belém do Pará e laboratórios Norte Americanos e da Coreia foi confirmada a presença de anticorpos anti hantavírus em 7,4 % de pessoas residentes em localidades diferentes da Amazônia (LEDUC et al, 1985).

Em 1993, foi registrado o primeiro surto de SPCVH no Brasil, com casos fatais de indivíduos moradores da área rural de Juquitiba/SP, que tiveram enfermidade aguda caracterizada por febre, cefaléia, prostração, náuseas e vômitos. Dois desses pacientes evoluíram para óbito, e os exames sorológicos destes pacientes confirmaram o diagnóstico de hantavirose (IVERSSON, 1996). Pereira (2006) comenta que este surto pode estar relacionado a dois fatores distintos, que aconteciam na época: o primeiro se refere a um fenômeno natural denominado “ratada”, que é uma explosão da densidade demográfica de roedores silvestres devido à oferta abundante de alimento atribuída a ciclo de floração de determinados tipos de bambus da Mata Atlântica; o segundo trata do desmatamento de uma área nativa para o estabelecimento de uma propriedade rural, no momento em que acontecia a “ratada”. Provavelmente, os roedores invadiram a moradia dos posseiros e, então, ocorreu a contaminação.

O vírus envolvido neste primeiro surto foi o Juquitiba (JUQV), que está associado aos casos de SPCVH em regiões de mata Atlântica, com área geográfica que inclui os estados de São Paulo, Paraná, Santa Catarina e Rio Grande do Sul, e que tem como reservatórios roedores da espécie *Oligoryzomys nigripes*. Outros hantavírus foram descritos no Brasil a partir de 1994. O vírus Araraquara (ARAV), que tem como reservatório o roedor *Necromys lasiurus*, predomina no Cerrado brasileiro, sendo responsável pelos casos de SPCVH em extensa área geográfica que compreende parte do Estado de São Paulo, Minas Gerais, Goiás, Distrito

Federal, Mato Grosso do Sul e Mato Grosso (PEREIRA, 2006; SUZUKI et al, 2004). O vírus Castelo dos Sonhos (CASV), associado aos casos de SPCVH na região amazônica, teve recentemente seu reservatório descrito, tratando-se do roedor *Oligoryzomys aff. moojeni* (ROSA, 2008).

Recentemente, Badra (2010), em estudo retrospectivo, constatou a presença de anticorpos anti hantavírus em aliquotas de soro de pacientes do município de Cássia dos Coqueiros/SP, que foram coletados ao final da década de 1980 e começo da década de 1990 e conservadas na soroteca do Laboratório de Sorologia do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto (HCFMRP). Os resultados de Badra (2010) reforçam a hipótese de que a infecção por hantavírus acontecia bem antes dos primeiros casos diagnosticados no Brasil.

A situação da hantavirose no Brasil, verificada no período de janeiro 1999 a agosto de 2010 (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2010) encontrava-se como segue: dos 1335 casos confirmados de hantavirose, 82 (6,1%) foram da região Norte; o estado com mais casos confirmados foi o Pará com 75 casos (91,5%). Dos 82 casos relatados na região Norte, 30 (36,6%) foram a óbito. O Nordeste foi a região que menos notificou hantavirose desde sua emergência no Brasil. Houve registro de 14 casos, o que representou apenas 1% do total confirmado no Brasil, com destaque para o estado do Maranhão que notificou 78,6% destes casos. A letalidade da hantavirose neste período foi de 57% na região Nordeste. A região Sudeste teve registrado 399 (29,9%) dos casos de hantavirose no Brasil; destes, 176 (44,1%) foram a óbito. Minas Gerais é o estado que mais notificou o agravo no Sudeste e no Brasil, sendo 244 casos, o que representou 61,1% no Sudeste e 18,3% no Brasil. Fato interessante aconteceu no estado de São Paulo; dos 155 casos relatados no período do inquérito, 81 (52,3%) foram a óbito. A região Sul registrou o maior número de casos, tendo 487 registros de hantavirose, que correspondeu a 36,5% dos casos no Brasil. A letalidade na região Sul ficou em torno de 38,2% (186), considerando todos os casos notificados na região desde 1993 até os dias atuais. A região Centro-oeste foi a terceira em número de casos de hantavirose, tendo 332 (24,1%) registros desde 1999, quando oficialmente foi relatada a presença do agravo no estado. A letalidade neste período no Centro-oeste ficou em torno de 43,8% (145). O destaque foi para Mato Grosso que teve registro de 58,4% (194) dos casos da região e 14,5% no Brasil. Considerando-se só os casos de Mato Grosso, a letalidade ficou em torno de 44,3% (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2010).

Os hantavírus que ocorrem em cada região do Brasil relacionados com sua virulência foram estudados por Figueiredo et al (2000) os quais encontraram o vírus ARAV como o mais letal entre os hantavírus descritos no Brasil. Isto pode explicar a alta letalidade da hantavirose por esse vírus no estado de São Paulo, considerando-se a totalidade dos casos desde o primeiro surto em 1993, quando a maior parte dos casos esteve associada a este hantavírus. Outro fator é que nos primórdios da doença, não se conhecia a epidemiologia e nem o comportamento clínico, o que contribuiu para o registro, em alguns anos, de até 100% de letalidade.

Analizando-se a série histórica anual de todas as regiões, percebe-se claramente que houve, no Brasil, uma melhora considerável nos índices de letalidade de hantavirose. A tabela 1 mostra a situação do agravo no Brasil no período de 1993 a agosto de 2010.

O conhecimento produzido e adquirido nestes 16 anos de diagnósticos de hantavirose no Brasil, com certeza, têm contribuído para uma melhor abordagem clínica e epidemiológica da doença e, conseqüentemente, vem diminuindo a mortalidade dos acometidos.

A letalidade da hantavirose no período de 2007 a 2009 marcou um índice de 40,6%, considerando-se os 160 óbitos, entre os 394 casos notificados, uma queda significativa em relação ao período de 1998 a 2006, quando foi constatada a letalidade de 46% (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2010). Na tabela 1 também se pode visualizar a série histórica do período de 2007 a 2009 na qual, na região Centro-oeste, a hantavirose teve o registro de letalidade de 42,6%. Mato Grosso, neste mesmo período, teve registrada a letalidade de 48%, bem maior do que o estado de Goiás e o Distrito Federal cujo índice de letalidade, no mesmo período, foi de 37,9% e de 27,8%, respectivamente.

A análise anual de cada região do Brasil, considerando-se os Estados da União, mostrou que em 2007 a letalidade da hantavirose no Centro-oeste foi de 33,3%, sendo que em Mato Grosso foi de 44,4%, em Goiás 16,7% e no Distrito federal 14,3%. Em 2008, dos 34 casos notificados na região Centro-oeste, 17 (50%) foram a óbito. Novamente, Mato grosso aparece com a mais alta taxa de letalidade 61,9%, ou seja, 13 óbitos num total de 21 casos confirmados, seguido pelo Distrito Federal (33,3%) e Goiás com 30%. Em 2009 foram notificados 46 casos de hantavirose na região centro-oeste sendo que destes, 45,6% (21) faleceram. Em 2009, o estado de Goiás registrou a maior letalidade (53,8%) da região, seguido por Mato Grosso (44%)

e Distrito Federal (37,5%). Mato Grosso do Sul é um dos poucos estados brasileiros que ainda não registrou casos de hantavirose (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2010).

Tabela 1 - Número de casos de hantavirose que progrediram para cura ou óbito, ocorridos nas várias regiões do Brasil, no período de 1993 a 2010.

Série histórica	REGIÕES														Casos ignorados	Letalida de %	Total
	Norte		Nordeste		Sudeste		Sul		Centroeste		Subtotal						
	cura	óbito	cura	óbito	cura	óbito	cura	óbito	cura	óbito	cura	óbito	cura	óbito			
1993					1	2					1	2				66,7	3
1994																	
1995		1										1				100	1
1996				1		2						3				100	3
1997																	
1998					1	6	2	2			3	8				72,7	11
1999				1	8	5	7	5		3	15	14				48,3	29
2000		1		1	4	6	30	9	1	2	36	19	1			34,5	55
2001	1			3	5	8	35	17	6	4	47	32				40,5	79
2002					13	16	16	17	7	4	36	37				50,7	73
2003	2		3	1	17	21	20	12	4	3	46	38		1		45,2	84
2004	6				33	16	40	19	22	23	102	61	1	3		37,4	163
2005	7	3			29	21	51	23	21	11	108	58				34,7	166
2006	8	7	1	1	29	14	51	20	38	21	128	63	1			33,1	191
2007	6	4			25	22	21	8	28	14	83	52	3	4		38,8	135
2008	8	10	1		17	18	27	11	17	17	71	57	1	1		44,4	128
2009	12	4	1		25	9	22	10	25	21	89	45	4	1		33,8	131
2010*	2				16	10	9	3	18	22	45	35				42,3	80*
Subtotal	53	29	6	8	223	176	331	156	187	145	810	525	11	10		39,3	1335
Total	82		14		399		487		322		1335		21				
Letalidade	35,4%		57,1%		44,1%		32%		45%		39,3%		47,6%				

Fonte: Saúde/http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/casos_obitos_hantaan_uf_ano_2010.pdf

*Dados do número de óbitos por hantavirose até agosto de 2010 - sujeito a alterações.

Dados parciais de 2010 (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2010) demonstraram que a hantavirose é um agravo que necessita de atenção redobrada das autoridades de saúde pública. Até agosto foram registrados no Brasil 80 casos, e destes, 35 (43,7%) foram a óbito. Na região Centro-oeste ocorreu 50% dos casos notificados no Brasil, com letalidade de 55%, índice bem acima da média nacional (42,3%).

1.2 Patologia

As hantavirose são zoonoses consideradas na atualidade como emergentes. Estas doenças que estão associadas diretamente de roedores, das famílias *Muridae* e *Cricetidae*, têm sua distribuição geográfica conforme a biogeografia das diferentes espécies de roedores reservatórios dos seus agentes etiológicos, os vírus do gênero Hantavirus. Estes vírus teriam co-evoluído de um ancestral comum, que por sua vez também, infectava outro roedor ancestral, assim havendo a transmissão para todas as espécies atuais de roedores reservatórios (RAMOS, 2008; YATES et al, 2002). No entanto, estudo realizado por Ramsden et al (2008) aponta que os hantavírus são espécies recentes que surgiram aproximadamente há 600 a 900 anos, e que não seria possível co-evolução com roedores que são espécies bem mais antigas. Estes achados a partir da determinação das taxas evolutivas evidenciaram que os hantavírus evoluem rapidamente, milhares de vezes mais que os roedores, o que contraria piamente a teoria da co-evolução defendida por outros autores.

Dois tipos de hantavirose são reconhecidos como entidades patológicas tendo em comum os hantavírus, porém com área geográfica, sintomatologia e clínica diferenciada. A Febre Hemorrágica com Síndrome Renal (FHSR), prevalente no velho mundo, que compreende um grupo de doenças clinicamente semelhantes que se manifestam com diferentes graus de gravidade dependendo do agente etiológico, e a Síndrome Pulmonar e Cardiovascular por Hantavirus (SPCVH), exclusiva do continente americano e com ampla distribuição desde o Canadá até a região Sul da Argentina. A SCPVH foi reconhecida mais recentemente, porém, sua letalidade é bem superior àquela devida à FHSR (LEDNICKY, 2003; RAMOS, 2008; YATES et al, 2002).

O número de casos notificados de hantavirose vem aumentando paulatinamente em todo o mundo e foram identificadas novas estirpes de hantavírus. Alterações climáticas e ambientais podem influenciar a distribuição geográfica, a abundância e a dinâmica de roedores reservatórios e, portanto, a epidemiologia das infecções por hantavírus (LEDNICKY, 2003; PATZ, et al, 1996). Microorganismos causadores de doenças infecciosas permanecem durante muito tempo se adaptando e processando as mudanças necessárias às novas condições impostas pela

alteração do ambiente (UJVARI, 2003). Para Schmidt (2006), bactérias e vírus aguardam o momento oportuno para experimentar a transmissão para humanos, e esta condição é dada pelas décadas de degradação da natureza, e as formas de explorar os recursos corroboram com este contexto, seja nas transformações constantes dos ecossistemas ou pela própria dinâmica das populações humanas.

1.2.1 Febre Hemorrágica com Síndrome Renal – FHSR

Na Ásia, Europa e, mais recente, na África os hantavírus causam a Febre Hemorrágica com Síndrome Renal (FHSR), um tipo de hantavirose conhecida desde a segunda década do século XX, com casos ocorrendo na China, Coreia, Finlândia e Rússia. A FHSR é endêmica no velho mundo, e os primeiros registros oficiais foram na década de 1950 quando, na Coreia, 3200 soldados das Nações Unidas foram acometidos. Atualmente, esta síndrome é responsável por 150.000 a 200.000 internações hospitalares por ano, com letalidade entre 1 a 12%, dependendo da espécie de hantavírus envolvida na infecção.

Em toda a extensão Euro-asiática, quadros clínicos semelhantes recebiam as diferentes denominações: Febre hemorrágica epidêmica ou Febre de Songo (Japão), Febre homorrágica com síndrome renal (República Popular da China), nefrosonefrite hemorrágica (URSS), nefrite epidêmica (Europa oriental) e nefropatia epidêmica (Escandinávia). Com o passar do tempo observou-se por meio de testes sorológicos que os agentes causadores destas enfermidades, eram similares ou estreitamente relacionados antigenicamente (IVERSSON, 1983). Hoje se sabe que se trata de hantavirus diferentes, e que causam FHSR brandas, moderadas e graves, com distribuição geográfica conforme seus reservatórios naturais.

A gravidade da doença está associada à virulência da espécie de hantavírus envolvida. Os vírus responsáveis pelo maior número de casos de FHSR são: HTNV, DOBV, PUUV e SEOV; os demais vírus relacionados como causadores do agravo são classificados como variáveis destes quatro vírus. As formas graves de FHSR

estão associadas aos vírus HTNV e PUUV, manifestações moderadas são atribuídas a SEOV e as formas mais leves a DOBV (LEDNICKY, 2003).

A FHSR desenvolve-se em fases sucessivas, geralmente incluindo febre, hipotensão e choque, poliúria, oligúria e convalescença. A fase febril é caracterizada por intensa dor de cabeça, dor nas costas, febre, calafrios, hemorragia e, nos casos graves, albuminúria. Sucedendo a fase febril segue a hipotensiva, que pode durar algumas horas ou perdurar durante alguns dias. Esta fase se caracteriza por hipotensão e aumento da permeabilidade vascular, marcada por trombocitopenia e petéquias, sendo comum o paciente apresentar náuseas e vômitos também. Cerca de 30% dos óbitos ocorrem nesta fase, devido a choque agudo. A fase seguinte é denominada oligúrica em que predomina o comprometimento renal e é nela que se registra a metade dos casos fatais por FHSR. Os sobreviventes progridem para a fase diurética, com melhora da função renal, que pode se estender por até quatro semanas, antecipando a fase de convalescência e recuperação do paciente (LEDNICKY, 2003; PETER et al, 2002; RAMOS, 2008).

Os casos esporádicos de FHSR nas Américas são atribuídos ao vírus SEOV. Este vírus foi introduzido juntamente com seu reservatório natural, *Rattus norvegicus*, roedor *murideo* da subfamília *Murinae*, que têm seu habitat original no velho mundo. Provavelmente, embarcações mercantis desde a época da colonização contribuíram para a introdução de espécies exóticas ao novo continente.

1.2.1.1 Síndrome Pulmonar e Cardiovascular por Hantavírus (SPCVH)

A Síndrome Pulmonar e Cardiovascular por Hantavirus (SPCVH) é considerada na atualidade uma doença genuinamente das Américas; este fato está diretamente associado aos roedores da subfamília *Sigmodontinae* que são exclusivos do continente americano e que albergam os hantavírus causadores desta enfermidade (NICHOL et al, 1993).

Ainda não há vacina ou tratamento para a SPCVH que é considerada doença grave com alto índice de letalidade. É causada por mais de 20 tipos diferentes de hantavírus que são eliminados pela saliva, fezes ou urina de roedores. Sua transmissão ocorre por meio da inalação do vírus presente no ar, por meio de água e

comida contaminadas, lesões na pele ou, ainda, mordidas de ratos (NICHOL, 1999; SIMPSON, 1998).

Desde o primeiro surto em 1993 nos Estados Unidos, casos de SPCVH vêm sendo registrados em vários países das Américas e mais de uma dezena de vírus foram identificados como agentes etiológicos deste agravo. Os vírus associados à SPCVH na América do Norte são: Sin Nombre, Monongahela, New York, Blue River, Limestone Canyon, Bayou, Black Creek Canal, Muleshoe; na América Central são: Choclo, Calabazo, El Morocanyon e Rio Segundo; na América do Sul são: Cano Delgadito, Andes, Oran, Lechinguana, Bermejo, HU39694, Pergamino, Maciel, Laguna Negra, Juquitiba, Araraquara, Castelo dos Sonhos, Anajatuba, Rio Mearim, Rio Mamoré (KSIAZEK et al, 1995; LOPES et al, 1996; NICHOL et al, 1993; ROSA et al, 2005).

No estado de Mato Grosso, até o momento, a SPCVH está associada aos vírus Castelo de Sonho (CASV) e Laguna Negra (LNV). Estudo realizado por Rosa (2008) sobre a associação vírus-hospedeiro e epidemiologia molecular de hantavírus em ecossistemas amazônicos demonstrou que o roedor *Oligoryzomys aff. moojeni* é o provável reservatório do vírus CASV e o roedor *Calomys aff. callosus* é o reservatório do vírus LNV.

A SES/MT, em parceria com os Institutos Evandro Chagas do Pará (IEC) e Osvaldo Cruz do Rio de Janeiro (IOC), realizou captura de roedores no município de Marcelândia em dezembro de 2009, com objetivo de identificar espécies hospedeiras e hantavírus que circulam na região norte do Estado. Porém, os resultados ainda não foram publicados.

Segundo Young et al. (2000) o período de incubação dos hantavírus no organismo humano é de 9 a 33 dias. A manifestação dos sintomas da hantavirose, geralmente, acontece entre o décimo quarto e décimo sétimo dia após o contágio e se assemelha à da gripe em sua fase inicial. Ao surgir a suspeita de infecção por hantavírus, o doente deve ser encaminhado imediatamente a um hospital que disponha de UTI. O diagnóstico precoce é a única medida capaz de evitar a morte. Observa-se que a semelhança dos sintomas com outros agravos causados por vírus tem contribuído para diagnósticos tardios, e em alguns casos equivocados, desencadeando tratamento inadequado aos pacientes que apresentaram quadros graves de hantavirose tendo evoluído a óbito.

Foram descritas quatro fases distintas em quadros clássicos de SPCVH. A fase inicial prodrômica é caracterizada por sinais/sintomas inespecíficos, como cefaléia, febre, mialgia, anorexia, vertigem, e náusea/vômito, e pode durar de três a seis dias. A fase seguinte é denominada cardiopulmonar e é nela que ocorre a maioria dos óbitos por SCPVH. A insuficiência respiratória aguda e o choque cardiocirculatório são as características principais nesta fase que pode durar até 10 dias. Os pacientes que sobrevivem à fase cardiopulmonar em seguida entram na fase diurética que dura em média cinco dias. É nesta fase que o paciente começa a excretar líquidos retidos nos espaços extravasculares, desfazendo o edema pulmonar. A última fase é a de convalescença que pode se prolongar por mais de quatro semanas. A recuperação do paciente acontece gradativamente, reestabelecendo a normalidade hemodinâmica e respiratória (FERREIRA, 2003; JEOR, 2004).

Num estudo de revisão, Pincelli et al (2003) compararam algumas series de casos no Brasil e verificaram que a fase prodrômica da hantavirose tem sido semelhante, tendo como sinais/sintomas comuns, febre, astenia, cefaléia, calafrios, náuseas e vômitos. Diarréia e dor abdominal têm sido muito freqüentes também nesta fase. Apesar de tosse seca e dispnéia serem descritas como sinais ausentes na fase prodrômica, Figueiredo et al (2000) ressaltaram que são fatores que levam o paciente a procurar ajuda médica, principalmente dispnéia que ocorre geralmente após o terceiro e quarto dia da manifestação da doença.

Nos casos de pacientes brasileiros, tosse seca geralmente anuncia a fase cardiopulmonar. Geralmente, a tosse passa a ser produtiva e o paciente apresenta-se dispnéico; em questão de horas pode evoluir para uma insuficiência respiratória grave, necessitando urgente de ventilação mecânica e cuidados de UTI (FIGUEIREDO et al, 2000). A resposta imunológica tem papel fundamental na gravidade do quadro de SPCVH. A tentativa de defesa do organismo produzindo anticorpos para neutralizar os vírus livres e a ativação de linfócitos T com liberação de várias citocinas desencadeia disfunção no tecido endotelial e nas plaquetas, o que corrobora para a instalação do edema pulmonar pelo extravasamento de líquidos dos vasos para o interstício e alvéolos pulmonares, e trombocitopenia que leva a distúrbios de coagulação sanguínea (FERREIRA, 2003; PINCELLI et al, 2003).

Observam-se também nesta fase estertores pulmonares, taquicardia, hipotensão arterial e hipoxemia. Em exames laboratoriais, no hemograma notam-se hematócrito aumentado, neutrofilia, leucocitose com desvio à esquerda, linfócitos

atípicos e plaquetopenia. A hipovolemia diminui o fluxo sanguíneo nos rins o que leva a um aumento da creatinina sérica. É comum alteração das enzimas ALT (Alanina Transaminase) e DHL (Desidrogenase Láctica) nos casos de SPCVH. Comprometimento pulmonar bilateral intersticial que geralmente progride para infiltração alveolar é observado no Raio-X de tórax (CAMPOS, 2000; FIGUEIREDO et al, 2000).

Segundo Saggioro et al (2007), o extravasamento capilar leva à instalação do edema intersticial pulmonar. Quando chega a esta situação de edema pulmonar, a progressão do agravamento do quadro se dá muito rápido e o paciente pode ir a óbito em menos de 24 horas, devido à insuficiência respiratória grave e choque cardiogênico.

1.2.1.1.1 Resposta Imune na SCPVH

Sabe-se muito pouco sobre a resposta imunológica na fase inicial da hantavirose. Galeno et al (2002), demonstraram que imunoglobulinas IgM e IgG anti hantavírus já estão presentes no soro dos pacientes quando estes começam a manifestar os sintomas da doença, e há uma evidência clara entre alto título de anticorpos específicos e bom prognóstico. A presença de IgM anti hantavírus na fase inicial do agravo permite o diagnóstico e confirma precocemente a SPCVH. Bostick et al (2000) relataram a presença de IgM na fase aguda em 100% de pacientes internados com hantavirose.

Nas infecções virais a resposta imune por anticorpos é muito importante na fase inicial, antes que os vírus tenham invadido as células-alvo. Porém, essa fase é comumente curta. Como patógenos intracelulares obrigatórios, os vírus penetram seu material genético nas células do hospedeiro, onde se multiplicam formando novas unidades virais. A resposta imune efetiva nessas infecções é dada pelos linfócitos TCD8+ citotóxicos específicos. Estas células induzem as células infectadas a um processo ativo que termina com sua morte por apoptose, e consequente eliminação dos vírus. Os linfócitos TCD8+ e TCD4+ ativados pelos antígenos virais liberam várias citocinas responsáveis por reações locais e sistêmicas no hospedeiro (BENJAMINI et al, 2002; FERREIRA, 2003; ZAKI et al, 1995). A gravidade da SPCVH parece estar associada à exagerada resposta do sistema imunológico.

A penetração do hantavírus nas células-alvo ocorre, primeiramente, pela interação das partículas virais com receptores celulares específicos e, subsequente endocitose. Os hantavírus não causam efeito citopático nas células-alvo e nem a permeabilidade vascular característica deste agravo. Porém, estudos mostram que o quadro se agrava após o surgimento da resposta imunológica. Antígenos virais foram observados, por método de imuno-histoquímica, em células do endotélio de tecido pulmonar de pacientes que tiveram SCPVH. Em menor proporção, também, foram observados antígenos nos rins, baço, fígado e coração (FERREIRA, 2003; ZAKI et al, 1995). Linfócitos TCD8⁺ são encontrados em grande quantidade nos pulmões e são contados como linfócitos atípicos na corrente sanguínea periférica. Após a ativação, os linfócitos T são atraídos para o sítio de contaminação viral e, aí, produzem citocinas que ativam macrófagos locais; estas células ativadas produzem outras citocinas que provocam a permeabilidade vascular. Fator de necrose tumoral (TNF- α e TNF- β), interleucinas (IL-1 α , IL-1 β , IL-6, IL-2 e IL-4), interferon gama (INF- γ), fator ativador de plaquetas (PAF) e os leucotrienos são as substâncias citadas no quadro de SPCVH (FERREIRA, 2003; MORI et al, 1999; ZAKI et al, 1995).

Para Borges et al (2007), no organismo humano, os hantavírus patogênicos podem ter desenvolvido mecanismos que evitem ou retardem as respostas de INF, que são citocinas com atividades antivirais, o que leva a crer que o tempo de indução da resposta antiviral exerce papel importante na infecção da hantavirose. Ou seja, na infecção por hantavírus patogênicos a indução de resposta mediada por INF é mais lenta, o que favorece uma replicação eficiente destes patógenos no organismo.

Formas mais branda da infecção por hantavírus em humanos, podem estar associada com a intensidade de atuação das células T reguladoras, que controlam a resposta imune exagerada, característica da SPCVH. Nos roedores reservatórios, a infecção é persistente e a doença é ausente, porém nestes as células T são em sua maioria T reguladoras, o que sugere o controle na população de linfócitos efetores que seriam capazes de eliminar os vírus e desencadear resposta imune exagerada, causa principal da doença grave (BORGES et al, 2007).

1.3 Os Hantavírus

Nas últimas décadas os hantavírus têm se destacado como agentes altamente patogênicos e emergentes, que causam infecções com distribuição mundial.

Pertencem à família *Bunyaviridae*, estabelecida em 1975 e, atualmente, contem mais de 300 vírus sorologicamente distintos. A família está dividida em cinco gêneros: *Orthobunyavirus*, *Phlebovirus*, *Nairovirus*, *Hantavirus*, e *Tospovirus*. O gênero *Hantavírus* é constituído de pelo menos 45 espécies, sendo que metade delas, acidentalmente, pode causar doenças em humanos (DEARING et al, 2010). É um gênero distinto dentro da família *Bunyaviridae*, se mantém na natureza pela infecção crônica de roedores silvestres, e os demais gêneros são arbovírus, vírus transmitidos por artrópodes, que se mantêm em natureza através da transmissão biológica entre vertebrados suscetíveis e artrópodes hematófagos, com uma exceção para os vírus do gênero *Tospovirus*, que são transmitidos por insetos para vegetais (SCHMALJOHN et al, 2007).

Os hantavírus bem como o restante dos integrantes da família *Bunyaviridae* são muito parecidos morfolologicamente, exibindo partículas de 80 a 120 nm de diâmetro com forma esférica ou pleomórfica. Possuem um envelope formado por dupla camada lipídica, oriunda da célula hospedeira, na qual estão inseridas as espículas das glicoproteínas virais, de 5-10 nm, envolvendo o nucleocapsídeo, formado por um “core” protéico e pelo genoma ácido ribonucléico trisegmentado associado à polimerase viral. Todos os vírus da família *Bunyaviridae* têm duas proteínas designadas como Gn e Gc, com exceção dos *Nairovirus* que possuem três glicoproteínas (FAUQUET et al., 2005). A figura 1 apresenta um desenho esquemático de um representante da família *Bunyaviridae*.

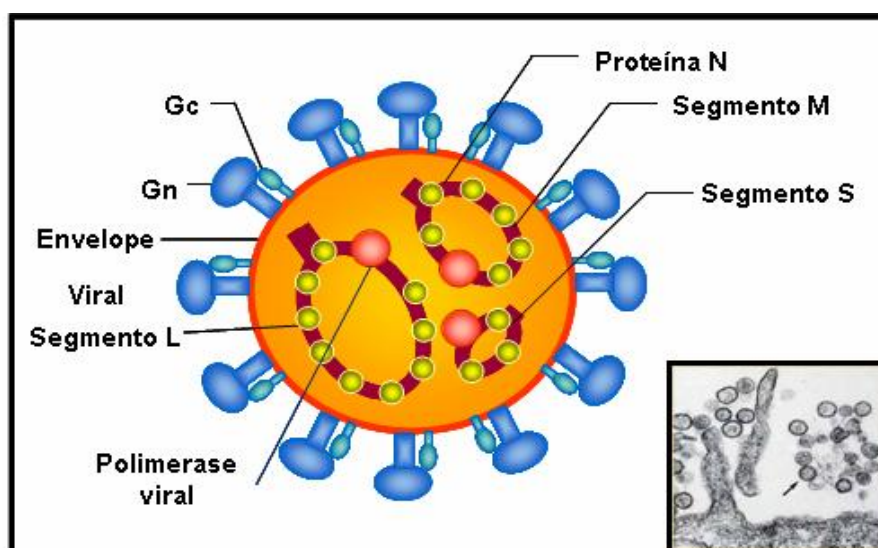


Figura 1: Representação esquemática de vírus da família *Bunyaviridae*.
Fonte: adaptado de MEDEIROS, 2004.

Os segmentos de RNA apresentam números de nucleotídeos diferentes por isso são denominados de L (large = grande), M (medium = médio) e S (small = pequeno). O segmento L possui 6500 nucleotídeos e codifica uma polimerase viral, o M aproximadamente agrupa de 3.600 a 3.800 nucleotídeos e codifica as glicoproteínas G1 e G2 do envelope viral e o S, constituído de 1.700 a 2.100 nucleotídeos, codifica a proteína N do nucleocapsídeo (SCHMALJOHN, 1996).

Os hantavírus são rapidamente inativados pelo calor, detergentes, solventes orgânicos e soluções de hipoclorito, características comuns dos vírus envelopados. Apresentam uma densidade flutuante de 1,18 g/mL em gradiente de sucrose. Consiste de mais de 50% de proteína, 20 a 30% de lipídio e 2 a 7% de carboidrato (GONZALEZ-SCARANO et al., 1996).

1.4 Reservatórios

Os roedores da ordem *Rodentia*, famílias *Muridae* e *Cricetidae* são os hospedeiros e reservatórios naturais dos hantavírus. Os estudos de fósseis comprovam a presença de roedores murídeos nos últimos 20 milhões de anos na América do Norte e três milhões e meio de anos na América do Sul (OPS, 1999; MILAZZO et al, 2006). Porém, as ferramentas de diagnóstico desenvolvidas ao longo dos últimos anos resultaram em descoberta de hantavírus em reservatórios inesperados, como musaranhos (*Soricidae*). Evidências sugerem a ocorrência de hantavírus em comunidades de pequenos mamíferos além dos roedores murídeos, tido como seus principais anfitriões (DEARING et al, 2010).

Os roedores *sigmodontineos* são encontrados em vários ambientes nas Américas. Eles se abrigam em buracos ou fendas no solo, árvores caídas, árvores ocas ou ninhos na superfície do solo, herbáceos, arbustos ou árvores. Apesar de serem, principalmente, de hábitos noturnos, algumas espécies podem ser diurnas e, em geral, são ativas durante todo o ano. As fêmeas geram muitas ninhadas e a reprodução ocorre durante todo o ano nas regiões quentes do continente. A maioria das espécies vive cerca de dois anos; no entanto, o potencial reprodutivo de algumas espécies, que criam em média quatro filhotes por ninhada, resulta no aumento

numérico de indivíduos na população, sobretudo quando existe fartura de alimentos na natureza (PEREIRA, 2006).

Uma queda do número de indivíduos da população ocorre quando o suplemento de alimento é exaurido. Essa flutuação tem uma periodicidade anual de acordo com as estações climáticas, frutificação da vegetação nativa e tipos de culturas agrícolas que servem de abrigo e fornecem alimentação para roedores, como capim braquiária (*Brachiaria decumbens*), capim colônia (*Panicum maximum*), capim elefante (*Pennisetum purpureum*), capim gordura (*Melinis minutiflora*), cana de açúcar (*Saccharum officinarum*), milho (*Zea mays*), arroz (*Oryza sativa*), amendoim (*Arachis hypogaea*), mandioca (*Manihot esculenta*), batata doce (*Ipomoea batatas*), trigo (*Triticum vulgare*), soja (*Glycine max*) e sorgo (*Sorghum vulgare*) (PEREIRA et al, 1999).

Dentro da família *Muridae*, apenas roedores das subfamílias *Murinae* e *Arvicolinae*, e a subfamília *Sigmodontinae* da família *Cricetidae* foram identificados como reservatórios de hantavírus. Em relação à distribuição geográfica, os murineos são endêmicos na Eurásia, com exceção das espécies *R. norvegicus*, *R. rattus* e *Mus musculus* que foram introduzidas no Novo Mundo pelos colonizadores europeus. Os roedores da subfamília *Arvicolinae* apresentam ampla distribuição no hemisfério norte, ocorrendo na Eurásia até a América do Norte, enquanto os sigmodontíneos só ocorrem no continente americano. Os roedores da subfamília *Sigmodontinae*, hospedeiros dos hantavírus que causam a SPH, são associados a ambientes silvestres e rurais, embora alguns tenham predileção por um habitat particular (NOWAK, 1991).

A espécie de roedor-hospedeiro geralmente é a mais abundante dentro de um habitat ecológico distinto, o que é essencial para a estratégia de sobrevivência do hantavírus (PLYUSNIN, 2002). Conseqüentemente, a ocorrência de um determinado hantavírus em áreas com altas densidades de roedores aumenta a probabilidade de encontros interespecíficos, podendo ocorrer a infecção de uma espécie secundária. Por outro lado, em baixas densidades de roedores diminui a probabilidade de encontros interespecíficos, resultando em poucas oportunidades de uma espécie de roedor não reservatório demonstrar evidências de infecção secundária (ROSA, 2008).

A infecção por hantavírus em seu roedor reservatório resulta em infecção crônica, aparentemente assintomática. Apesar da presença de anticorpos neutralizantes, o vírus persiste, sendo liberado na urina, fezes e saliva dos roedores;

porém, ainda é desconhecida a duração e o período máximo de infectividade das partículas virais no meio ambiente (PETERS, 1998; PEREIRA, 2006). Os vírus podem ser isolados, principalmente, a partir de fragmentos de pulmão, baço e rins, colhidos dos roedores reservatórios.

Estudos com captura de roedores silvestres no Estado de São Paulo mostraram que *Akodon sp* (rato da mata), *Oligoryzomys sp* (ratinho do arroz) e principalmente *Necromys lasiurus* (rato do rabo peludo) têm sido encontrados apresentando anticorpos séricos para hantavírus e, provavelmente, seriam os reservatórios destes agentes causadores de SPCVH.

A figura 2 apresenta a distribuição dos hantavírus causadores de SPCVH nas Américas e seus respectivos reservatórios. Estudo recente desenvolvido por Figueiredo et al. (2010) demonstrou que o roedor *Calomys tener* também é reservatório do vírus ARAV na região de Ribeirão Preto, assim como *Necromys lasiurus* e *Akodon (sp)* descritos anteriormente por outros autores. A infecção de *Calomys tener* por ARAV pode estar relacionada à coexistência de nichos ecológicos diferentes, onde a provável convivência com *Necromys lasiurus*, seu reservatório principal, contribuiu para esta ocorrência (FIGUEIREDO et al, 2010).



Figura 2: Distribuição geográfica dos hantavírus causadores de SPCVH e seus reservatórios naturais. Fonte: www.cdc.gov/hanta.

Para Rosa (2008) os hantavírus Anajatuba (ANAJV), CASV e LNV estão associados aos casos de SPCVH nos ecossistemas amazônico, pré-amazônico e cerrado das regiões norte e parte do centroeste e nordeste do Brasil, tendo respectivamente como reservatórios os roedores *Oligoryzomys aff. Furnesi*, *Oligoryzomys aff. moojeni* e *Calomys aff. callosus*.

1.5 Transmissão

A transmissão de hantavírus para humanos está relacionada principalmente à inalação de aerossóis de excretas de roedores contaminados. Vários estudos realizados com roedores mostraram níveis elevados de anticorpos contra hantavírus no rato de rabo peludo (*Necromys lasiurus*), no rato da mata (*Akodon sp*) e no ratinho do arroz (*Oligoryzomys sp*). Estes três roedores silvestres são reservatórios potenciais de hantavírus causadores de SPCVH no Brasil.

Os hantavírus são mantidos em natureza pela infecção crônica de roedores. Nestes, a infecção é assintomática e aparentemente não é letal. Apesar da presença de anticorpos neutralizantes no soro desses animais, o vírus pode ser isolado principalmente de fragmentos de pulmões e rins, sendo concentrados e eliminados durante longo período e em grande quantidade na saliva, urina e fezes. Os hantavírus são transmitidos aos humanos pelo contato com excretas ou por aerossóis em locais onde roedores infectados eliminaram suas excretas contendo o vírus (NICHOL, 1999).

Outras formas naturais de transmissão à espécie humana foram também descritas para certos hantavírus, como a transmissão por mordedura de roedores infectados, bem como pela ingestão de alimentos contaminados por fezes e urina ou pelo contato direto do tecido mucoso com material contendo partículas virais (PEREIRA, 2006).

Transmissão interpessoal de hantavírus foi descrita em surto argentino na região de Bariloche, em 1996, causada pelo vírus Andes. Neste surto, evidências mostram que médicos e servidores do hospital se infectaram pelo contato direto ou inalação de aerossóis e fômites contaminados de pacientes com SPCVH. Transmissão interpessoal de hantavírus foi também suspeitada em surto pelo mesmo vírus no Chile e, no Brasil pode ter ocorrido em cinco membros de uma mesma

família da zona rural do estado de Santa Catarina (CAMPOS, 2002; FERRÉS et al, 2007). Foram relatados dois casos de transmissão vertical, resultando em aborto e morte fetal em casos de Febre Hemorrágica com Síndrome Renal (FHSR), associado ao vírus *Hanta* na Coreia (LEE, 1988).

A figura 3 ilustra uma situação comum, na qual seres humanos podem se contaminar com hantavírus:

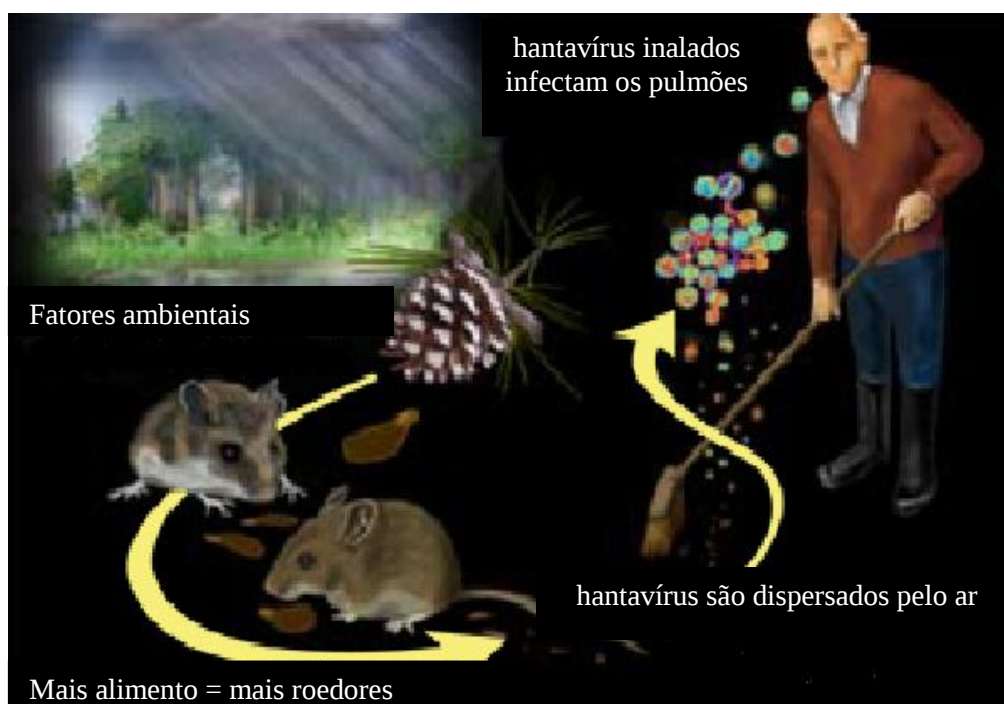


Figura 3: Transmissão de hantavírus

Traduzido de http://www.nsf.gov/news/newsletter/jul_06/index.jsp

1.6 Diagnóstico Laboratorial

O diagnóstico da hantavirose no Brasil consiste na detecção de IgM e IgG anti-nucleoproteína do hantavírus nos soros de pacientes suspeitos, pelo teste imunoenzimático (*Enzyme-Linked Immunosorbent Assay* - ELISA) ou pela técnica de IFI (Imunofluorescência indireta) em células de rim de macaco verde africano (VERO E-6) infectadas. A proteína N dos hantavírus é altamente imunogênica e é utilizada como antígeno nos métodos sorológicos. A IFI e o ELISA oferecem excelentes resultados; porém, o teste imunoenzimático é mais sensível e específico, para a

detecção de anticorpos das classes IgM e IgG, sendo o teste de diagnóstico de primeira escolha para sorologia da hantavirose (ZÖLLER et al., 1993; PADULA et al, 2000; SCHMIDT et al, 2005, FIGUEIREDO et al, 2009).

Os anticorpos da classe IgM aparecem na fase prodrômica da doença e podem ser detectados no organismo por um período de dois meses após o início dos sintomas. Em alguns casos que na primeira amostra não for possível definir o diagnóstico sorológico, deve ser coletado nova amostra com intervalo de tempo de duas a três semanas após a coleta da primeira. A detecção de anticorpos IgM na primeira amostra garante a positividade para a doença. A positividade também pode ser dada quando na segunda amostra ocorrer soroconversão, com diferença de títulos igual ou maior do que quatro vezes os títulos obtidos de anticorpos da classe IgG na primeira amostra (FERREIRA, 2003, FIGUEIREDO et al, 2002).

Em casos fatais que não for possível a coleta de sangue para a sorologia, a reação de imunohistoquímica utilizando anticorpos monoclonais e policlonais pode confirmar a presença do antígeno viral em tecidos, e fragmentos de órgãos de pessoas que foram a óbito com forte suspeita de hantavirose (ZAKI et al.,1995).

O isolamento de hantavirus em fragmentos de vísceras de humanos e roedores, utilizando-se culturas de células VERO E-6, linhagem celular humana de carcinoma de pulmão (A 549) e cultura primária de pulmão de rato, também é uma alternativa para o diagnóstico. Porém como se trata de agentes que oferecem alto risco biológico, este procedimento só pode ser realizado em laboratório com nível de biossegurança 3 (NB3) (OPS, 1999).

A técnica de transcrição reversa seguida de reação em cadeia mediada pela polimerase (*Reverse Transcriptase Polymerase Chain Reaction*, RT-PCR), é uma alternativa para o diagnóstico da hantavirose, e tem se mostrado eficiente para a detecção de RNA viral, em soro e coágulo sanguíneo, colhidos na fase aguda, durante os primeiros dias de manifestação da doença. A escolha dos *primers* para os hantavírus do Novo Mundo, além da Nested-PCR usada para promover maior eficiência na sensibilidade da técnica tem influência no bom desempenho da técnica (PETERS e KHAN, 2002). Embora esta técnica não seja o método padrão para diagnóstico clínico-laboratorial, pode contribuir para detecção da hantavirose em fase aguda, além de possibilitar a caracterização genética dos hantavírus (MORELI, et al, 2004).

2. Objetivos

2.1 Geral

Realizar levantamento da situação da hantavirose na área de abrangência do Escritório Regional de Saúde de Colíder - ERSCOL.

2.1.1 Específico

Investigar a frequência da infecção por hantavírus na região de Abrangência do ERSCOL, e determinar a presença de anticorpos anti hantavírus em uma população de Marcelândia-MT.

3. Material e Métodos

A determinação dos aspectos epidemiológico e clínico-laboratorial dos pacientes que foram acometidos por hantavirose no período de 2007 a 2009, nos municípios de abrangência do ERSCOL, permite um melhor conhecimento sobre esta doença. Na perspectiva de somar conhecimentos relativos à região Norte de MT, os dados existentes foram organizados. Acredita-se que o resultado deste trabalho poderá ser um instrumento de transformação do comportamento dos profissionais da área, capaz de mudar o ponto de vista que se tem sobre a hantavirose na região, assim como de vir a ser um importante subsídio para a tomada de decisões e implantação de políticas adequadas para a saúde pública, no que se refere aos agravos emergentes na região. Desta forma, a relevância dessa pesquisa está na possibilidade de contribuir com a produção de conhecimentos e sistematização de dados sobre hantavirose. A pesquisa consistiu em elucidar os fatores patognomônicos e epidemiológicos da hantavirose, explicitando os aspectos do seu comportamento na região norte de Mato Grosso. O estudo aconteceu na área de abrangência do ERSCOL, localizada no extremo norte do estado a aproximadamente 650 km da capital Cuiabá, e é constituída pelos municípios de Colíder, Marcelândia, Nova Santa Helena, Nova Guarita, Itaúba e Nova Canaã do Norte. A figura 4 permite visualizar geograficamente as 16 regiões de saúde em que está dividido o Estado de Mato Grosso, sendo destaque neste trabalho a regional número 15 que corresponde ao ERSCOL. A posse dos resultados obtidos neste estudo pelos profissionais de saúde e população estudada pode levar a uma melhor abordagem clínica e epidemiológica. Dessa forma, poderá tornar o diagnóstico mais rápido e garantir a sobrevivência dos pacientes acometidos, bem como levar à implantação de maneiras de prevenção, uma vez que humanos e reservatórios co-habitam o mesmo espaço, e a prevenção é a maneira mais eficaz para evitar a infecção por hantavírus, os agentes etiológicos da hantavirose.

ESCRITÓRIOS REGIONAIS DE SAÚDE

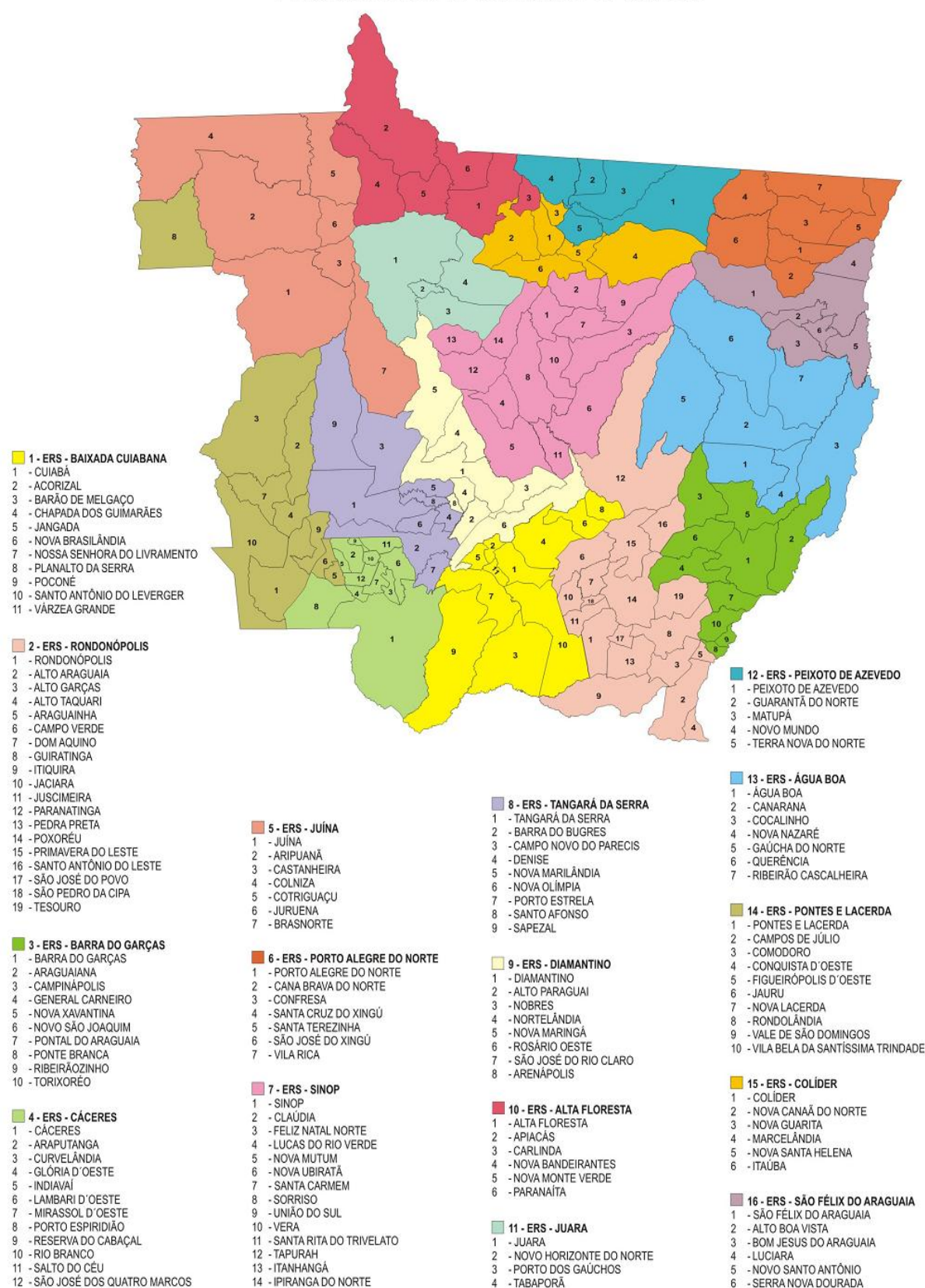


Figura 4: Mapa da área geográfica dos Escritórios Regionais de Saúde do Estado de Mato Grosso.

Fonte: SES/MT

3.1 Aspectos Éticos

Esta pesquisa foi registrada no Comitê Nacional de Ética do Ministério da Saúde (CONEP/MS), avaliada e aprovada pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade de Santo Amaro/SP (CEP/UNISA), conforme parecer nº 144/2009 (anexo 6), e atende os aspectos fundamentais das Resoluções 196/96, 251/97 e 297/99 sobre Diretrizes e Normas Regulamentadoras de Pesquisa envolvendo Seres Humanos. O trabalho incluiu o levantamento da frequência de casos de hantavirose na área de abrangência do ERSCOL, e a determinação dos níveis de anticorpos anti hantavírus na população do assentamento Tupã no município de Marcelândia-MT. Para isto, foi solicitada autorização por escrito aos representantes legais dos estabelecimentos de saúde para a coleta de dados de pacientes em ficha de investigação epidemiológica, prontuários e exames, conforme anexos 4 e 5. Para a determinação de anticorpos contra hantavírus na população do Assentamento Tupã do município de Marcelândia foi elaborado termo de consentimento livre e esclarecido aos participantes para a coleta de material biológico, conforme anexo 3.

3.1.1 Condições do Estudo

Desenvolveu-se um estudo epidemiológico, transversal do tipo *Survey*, no qual duas populações foram estudadas.

3.1.2 Local

O estudo aconteceu no extremo norte de Mato Grosso, na área de abrangência do ERSCOL, que compreende os municípios de Colíder, Nova Canaã do Norte, Nova Santa Helena, Itaúba, Nova Guarita e Marcelândia. Geograficamente, a área delimitada neste estudo faz parte do bioma amazônico e é influenciada diretamente pela BR-163, conhecida também como Cuiabá/Santarém, que interliga, assim, Mato Grosso ao porto de Santarém no estado do Pará.

3.1.3 População

Para entender a dinâmica da hantavirose na área de estudo, foram determinadas duas populações alvo. A primeira incluiu todos os pacientes com exames positivos para hantavirose e que foram atendidos nas unidades de saúde da área de abrangência do ERSCOL, no período de 2007 a 2009. Retrospectivamente, realizou-se levantamento de todos os dados pertinentes a cada paciente; para isto, foram elaboradas duas fichas para uso na coleta dos dados (anexos 1 e 2) nas quais foram anotadas as variáveis coletadas por meio da análise de prontuários médicos, fichas de notificação compulsória, ficha de investigação epidemiológica, exames laboratoriais e relatórios de investigação epidemiológica. A segunda população deste estudo compreendeu 10% das pessoas, aparentemente saudáveis, residentes em um assentamento rural denominado Tupã, localizado às margens da estrada Santa Rita, à aproximadamente 30 km ao norte do município de Marcelândia/MT. O objetivo de incluir, na presente pesquisa, esse segundo grupo foi o de investigar a presença de anticorpos anti-hantavírus no soro de indivíduos de uma comunidade onde havia a ocorrência de uma série de casos positivos registrados no período de 2007 a 2009 e, portanto, indivíduos expostos ao risco. Foi, então, realizado sorteio das propriedades a serem visitadas, para proceder à coleta de sangue após o sorteado assinar o Termo de Informação e Consentimento (Anexo 3). Para essa segunda população também foi aplicado um questionário fechado; dele foram coletados dados demográficos e epidemiológicos (anexo 8). Com o objetivo de equilibrar o número de amostras entre os gêneros, em cada propriedade sorteada, as amostras de sangue foram coletadas alternando-se uma, extraída de indivíduo do gênero masculino e, outra, do gênero feminino.

3.2 Determinação da frequência de hantavirose na área de abrangência

Foi realizado um levantamento dos casos positivos nos anos de 2007 a 2009. Estes dados foram averiguados em prontuários no Hospital Regional de Saúde de Colíder (HRCOL), no banco de dados do ERSCOL e nos serviços de vigilância

epidemiológica dos municípios de abrangência: Colíder, Nova Santa Helena, Nova Guarita, Itaúba, Nova Canaã do Norte e Marcelândia.

3.3 Determinação da presença de anticorpos anti hantavírus no soro de indivíduos de população exposta ao vírus

As amostras de sangue foram coletadas nos domicílios, com seringa (10 ml) e agulha descartáveis do tipo Plascalep Unijet, na veia braquial de 10% de indivíduos da população do assentamento rural Tupã, localizado no município de Marcelândia/MT. O sangue foi coletado em tubos vacutainer seco. Os participantes responderam um questionário fechado (Anexo 8), com dados pessoais como: idade, sexo, escolaridade, antecedentes mórbidos e profissionais, local de habitação e contato com roedores. As amostras foram processadas no Laboratório Municipal de Análises Clínicas de Marcelândia, e o soro acondicionado em tubo plástico estéril do tipo eppendorf de 2 ml, e armazenados a -20°C em freezer. Posteriormente, atendendo as normativas de biossegurança para transporte de material biológico os tubos eppendorf foram embalados, em caixa plástica térmica lavável, com gelo reutilizável (gelox). A caixa foi, então, encaminhada, por transporte aéreo, para o Centro de Pesquisa em Virologia da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, campus de Ribeirão Preto (CPV/FMRP/USP/SP), onde os ensaios ELISA e RT-PCR foram realizados.

3.3.1 Ensaio imunoenzimático (ELISA) para determinação de IgG anti-hantavírus

Inicialmente, a placa de ELISA foi sensibilizada da seguinte maneira: a parte superior (linhas A, B, C, D, da coluna 1 a 12) continham a proteína N recombinante do ARAV, expressa em *Escherichia Coli*, previamente diluída em solução tampão carbonato, pH 9,6. Na parte inferior (linhas E, F, G e H, da coluna 1 a 12), adicionou-se o antígeno controle negativo, contendo apenas um extrato de *E. coli* diluído na mesma solução tampão carbonato-bicarbonato (FIGUEIREDO et al., 2009). As concentrações do antígeno de hantavírus (proteína N recombinante de ARAV) e da

solução negativa para o antígeno foram de 2 µg/mL, em 50 µL/poço. A placa foi incubada em câmara úmida até o dia seguinte, quando foi lavada por 5 vezes com PBS pH = 7,4 acrescido de Tween a 0,05 % (PBST). Em seguida, os poços foram bloqueados com leite em pó desnatado (Molico, Nestlé Brasil) a 10% em PBS, no volume de 200 µL/poço. Após incubação por 2 horas a 37°C, foram colocados os soros humanos, na diluição 1/100, tendo sido usados como controles um soro de referência positivo e um negativo. O diluente utilizado foi o mesmo da solução de bloqueio. Os soros em teste foram adicionados à placa em duplicata, tanto para o antígeno de hantavírus (linhas A1 até A8; B1 até B8; C1 até C8 e D1 até D8), como para a solução negativa para o antígeno (linhas E1 até E8; F1 até F8; G1 até G8 e H1 até H8). Os controles positivos foram adicionados em diluições únicas nos poços das linhas, (D9 até D12) e (H9 e H10), nas diluições 1/100. Também, os controles negativos foram adicionados em quadruplicata em poços das linhas, (A9 até A12), (B9 até B12) e (C9 até C12), assim como nos poços inferiores, (E9 até E12, F9 até F12, G9 até G12), no volume de 50 µL/orifício. Em continuação, a placa foi novamente incubada por uma hora a 37° C em câmara úmida, lavada em seguida por seis vezes e posteriormente foram adicionados 50ul/poço da solução de anticorpos caprinos anti-IgG humano conjugados à peroxidase (SIGMA, USA) diluída a 1:2000. A placa foi incubada por uma hora a 37°C e, então, foi realizada a última lavagem por seis vezes com PBST. Finalmente, foram adicionados 100ul/poço de substrato enzimático (2,2-azino-di [3-ethybenthiazoline sulfonate]) – ABTS (KPL,USA) para a revelação da reação. A placa foi coberta com papel alumínio e incubada em câmara úmida por 20 minutos a 37°C. Após surgimento de cor, a reação foi bloqueada com 50µL de solução de HCl 1 M. A leitura da placa foi realizada em aparelho de espectrofotometria com filtro de 405 nm (Titertek Multiskan, Flow, Finlândia).

Os valores de densidade óptica (DO) obtidos dos soros positivos foram subtraídos dos valores da DO obtidos com os mesmos soros em reação com a solução negativa para o antígeno, resultando no que foi denominado DO líquida. Para a determinação do ponto de corte (cut off), que indica a positividade dos soros, a média das DO líquidas dos soros controle-negativo foi acrescida de 3 desvios-padrão (SOUSA et al., 2008). Foram considerados soros positivos aqueles cujas DO líquidas foram maiores que o valor do ponto de corte.

3.4 Reação em cadeia da polimerase com transcrição reversa – RT-PCR

O soro de participantes anti- IgG positivos para hantavírus foram testados por RT-PCR (MORELI et al., 2004), utilizando, nestes testes, controles sabidamente negativos humanos e fluídos de cultivo celular infectados com o hantavírus Rio Mamoré como controles-positivo.

3.4.1 Extração de RNA

Para a extração do RNA, a 300 µL de cada amostra de paciente foram adicionados 1000 µL da solução reagente de Trizol LS (Gibco, EUA). Após agitação em *vortex* durante 40 segundos, foram adicionados 200 µL de solução de clorofórmio-álcool isoamílico, na proporção 24:1. A mistura foi homogeneizada em *vortex* por 40 segundos, colocada em gelo por 15 minutos e, em seguida, centrifugada por 20 minutos, a 14000 rpm e 4 °C. O sobrenadante (fase aquosa transparente) foi coletado e a ele foi adicionado volume igual de isopropanol absoluto (Merck, Alemanha); a mistura foi homogeneizada, permanecendo por 16 -18h à -70 °C para precipitação do RNA. No dia seguinte, os tubos foram centrifugados a 14000 rpm, 20 min e 4 °C, e o sedimento foi lavado com 500µL de etanol a 70 %. Estes materiais foram liofilizados por centrifugação a vácuo. Ao final, os sedimentos com RNA foram suspensos em 11µL de água sem RNase (Gibco, EUA).

3.4.2. RT- PCR para amplificação parcial dos genes N e Gn de Hantavírus

Para a RT-PCR foi preparada uma mistura de reação com 20 µL contendo 5 µL do extrato de RNA, 1 µL de 2,5 mM dos deoxinucleotídeos trifosfatos (DNTPs), 0,3 µM do *primer* complementar SAHN-C e Gn-C (tabela 2) e 4µL da solução tampão 5 vezes concentrada, contendo 10 mM de Tris pH 8.9, 1.5 mM MgCl₂, 80 mM KCl. A mistura foi aquecida a 95 °C, por 3 minutos, para desnaturação das fitas de RNA. Posteriormente, transferiu-se a mistura para cuba com gelo, por 2 minutos e depois foram adicionadas 10 U do inibidor de RNase (Pharmacia,EUA) e 10 U da

transcriptase reversa MMLV (Pharmacia, EUA), sendo a mistura, novamente, incubada por 2h a 37°C. O cDNA obtido com a RT foi utilizado nas reações de PCR. Para tanto, foi preparada nova mistura de reação com 50 µL contendo 0,3 µM dos pares de *primers* N e Gn, 2,5 mM dos DNTPs, 3 µL do DNAC obtido com a RT e 5 µL da solução tampão 10 vezes concentrada contendo 10 mM Tris pH 8.9, 1.5 mM MgCl₂, 80 mM KCl. Submeteu-se a mistura a 94°C por 120 segundos, após adicionar 1U da Taq DNA polimerase (Pharmacia, EUA) e colocar 2 gotas de óleo mineral. Em seguida, foram realizados 35 ciclos no termociclador (Iwaki, Japão), nas temperaturas de 95 °C, por 30 segundos, 54 °C por 45 segundos, e 72°C por 180 segundos. Ao final, fez-se uma extensão da fita de DNA a 72 °C, por 5 minutos. Cinco µL do produto da RT-PCR foram visualizados à luz UV após eletroforese em gel de agarose a 1,8% corado em solução de *Gel Red* (Invitrogen). *Amplicons* de 264 pares de bases (pb) para N e 324 pb para Gn foram detectados por comparação com marcador escada de 100 pb (Pharmacia, EUA).

Tabela 2: *Primers* de região dos genes de N e Gn utilizados em RT-PCR para diagnóstico e estudo filogenético de Hantavirus brasileiros (MORELI, 2004).

<i>Primer</i>	Seqüência nucleotídica	Local de anelamento
N-C ^a	CAA AAC CAG TTG ATC AAC AGG G	Bases 213 a 236 de S
N-S ^b	GAT GAA TCA TCC TTG AAC CTT AT	Bases 454 a 477 de S
Gn-C	GGG CAG TAA GTG CTG AAA C	Bases 1301 a 1320 de M
Gn-S	ACA TTT AGC AGT TTG CCA TGG G	Bases 1602 a 1625 de M

(a) C: complementar à seqüência de RNA; (b): Similar ao RNA (*sense*).

3.5 Análise estatística

Para análise dos resultados foram aplicados os seguintes testes estatísticos:

1 – Teste de Mann-Whitney (SIEGEL, 2006), com o objetivo de comparar os gêneros em relação às idades dos pacientes.

2 – Teste do Quiquadrado para tabelas de contingência (SIEGEL, 2006) ou teste exato de FISCHER (SIEGEL, 2006) com a finalidade de estudar as associações entre as presenças das variáveis qualitativas consideradas.

3 – Teste G de COCHRAN (SIEGEL, 2006) para comparar as frequências de alterações dos parâmetros hematológicos observadas nas análises. O mesmo teste foi aplicado, ainda, com o objetivo de comparar as frequências dos sinais e sintomas apresentados pelos pacientes.

Em todos os testes foi fixado o nível de significância em 0,05 ou 5%.

4 RESULTADOS

O presente trabalho trata da investigação da freqüência da infecção por hantavírus na área de abrangência do Escritório Regional de Saúde de Colíder – ERSCOL, no período de 2007 a 2009, pela análise dos dados dos pacientes que foram atendidos em estabelecimentos de saúde da área de abrangência do ERSCOL e foram diagnosticados com hantavirose. Também, foi realizada a pesquisa da presença de anticorpos anti hantavírus em indivíduos de uma população do assentamento rural de Tupã, localizado no município de Marcelândia-MT.

4.1 Resultados da análise dos dados de pacientes com Hantavirose

Conforme coleta realizada no banco de dados do ERSCOL, Hospital Regional de Saúde de Colíder (HRCOL) e nos Serviços de Vigilância Epidemiológica dos municípios de abrangência do ERSCOL, 37 casos de hantavirose foram confirmados no período correspondente a 2007 a 2009, conforme mostra a tabela 3.

Tabela 3 – Distribuição dos casos de hantavirose, por ano e localidade, que evoluíram para cura ou para óbito.

Município/Estado	Ano											
	2007				2008				2009			
	Masculino		Feminino		Masculino		Feminino		Masculino		Feminino	
	Cura	Óbito	Cura	Óbito	Cura	Óbito	Cura	Óbito	Cura	Óbito	Cura	Óbito
Nova Santa Helena/MT	-	1	-	-	-	2	1	-	-	-	-	-
Marcelândia/MT	1	1	3	1	-	-	-	-	5	1	-	-
Nova Guarita/MT	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-
Colíder/MT	1	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1
Itaúba/MT	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-
Terra Nova do Norte/MT	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	1	-
Peixoto de Azevedo/MT	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-
Matupá/MT	2	1	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-
Guarantã do Norte/MT	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-
Novo Progresso/PA	-	-	-	-	1	2	1	-	-	-	-	-
Castelo dos Sonhos/PA	-	-	-	-	1	-	-	-	2	1	-	-
Sub Total	4	4	3	1	2	7	2	0	8	3	2	1
Total	12				11				14			

Do total de 37 casos, 21 procediam de municípios da área de abrangência do ERSCOL (Marcelândia, Nova Santa Helena, Nova Guarita, Itaúba e Colíder) e 16 de outros municípios, sendo 8 da Regional de Saúde de Peixoto de Azevedo (Terra Nova do Norte, Matupá, Peixoto de Azevedo e Guarantã do Norte) e 8 oriundos do Estado do Pará (Novo Progresso e Castelo de Sonhos. Na análise estatística, devido ao tamanho da amostra estudada, não foi possível rejeitar a hipótese de igualdade entre as porcentagens de mortalidade de mulheres 2/9 (22,2%) e homens 8/16 (50,0%). A tabela 4 mostra a frequência de óbitos e de curas de homens mulheres com hantavirose

Tabela 4 : Frequência dos casos de hantavirose com evolução para cura ou para óbito. Comparação entre gêneros.

Gênero	Evolução		Total	% Óbitos
	Cura	Óbito		
Feminino	7	2	9	22,2
Masculino	14	14	28	50,0
Total	21	16	37	43,2

Teste exato de Fisher (p = 0,1406)

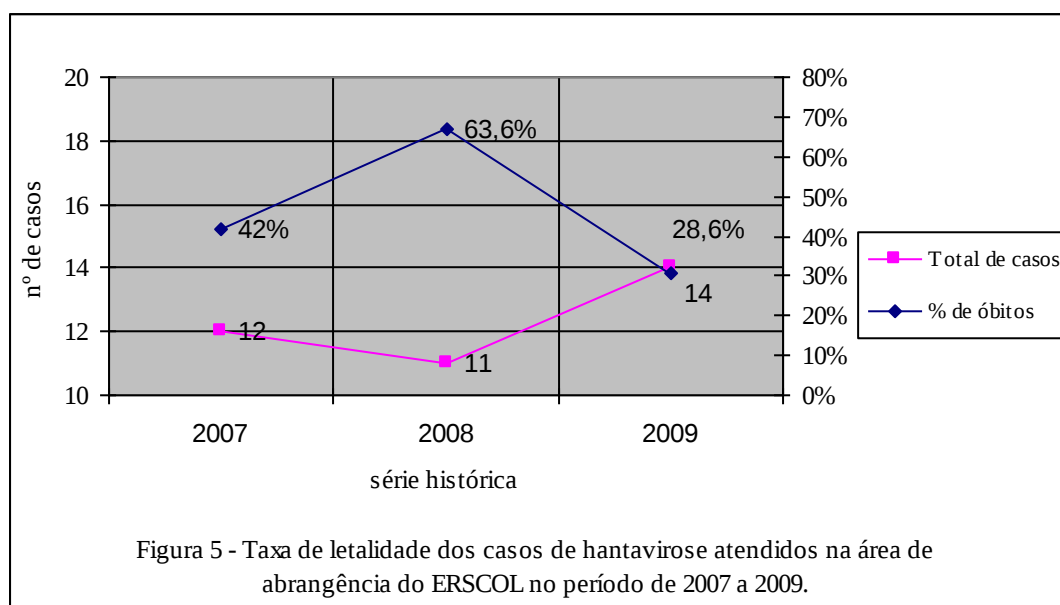
Neste estudo, grupos de pacientes, formados segundo sua faixa etária, considerando-se grupos de 10 em 10 anos, foram analisados quanto à frequência da infecção por hantavírus. Foi aplicado o Teste de Mann-Whitney para determinar a média de idade dos pacientes e constatou-se média de 34,2 anos independente do gênero, sendo de 35,8 anos para homens e de 32,7 anos para mulheres. A tabela 5 mostra as frequências relativas ao número total de casos e as frequências relativas ao número de óbitos, de acordo com as respectivas faixas etárias dos pacientes. A análise estatística (teste do quiquadrado) não mostrou diferença significativa entre os grupos etários, quando comparados em relação às porcentagens de óbitos. Pode ser notado, que não há uma faixa etária definida para a ocorrência da infecção por hantavírus.

Tabela 5: Frequência dos casos de hantavirose, distribuídos segundo a faixa etária dos pacientes

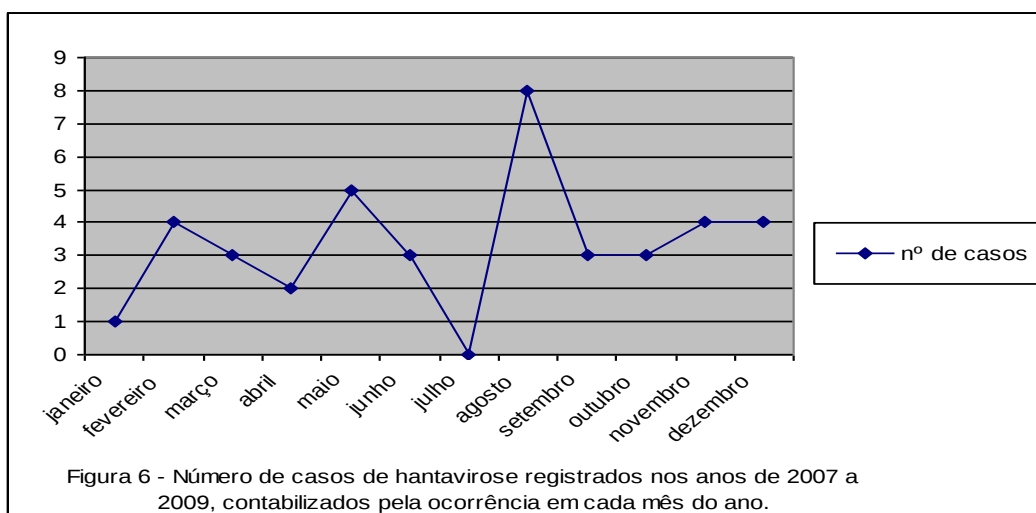
Faixa etária	Frequência de casos positivos		Frequência de óbitos	
	n	%	n	%
0 a 10	2	5,4	0	0,0
11 a 20	5	13,5	3	18,7
21 a 30	7	18,9	0	0,0
31 a 40	9	24,4	5	31,3
41 a 50	8	21,6	5	31,3
51 a 60	5	13,5	3	18,7
≥ 61	1	2,7	0	0,0
Total	37	100,0	16	100,0

$\chi^2 = 10,11$ ($p = 0,1202$)

A taxa de letalidade dos casos atendidos nas unidades de saúde da área de abrangência do ERSCOL ficou em 43,2% (16/37) no período de 2007 a 2009. Porém, teve uma queda significativa, no ano de 2009. A figura 5 retrata as taxas de letalidade registrada em cada ano analisado.



Dos 37 pacientes atendidos nos estabelecimento de saúde da área de abrangência do ERSCOL no período de 2007 a 2009, só não foram registrados casos no mês de julho. No mês de agosto foi registrado o maior número de casos 21,6% (8/37). A figura 6 mostra o número de casos positivos de hantavirose registrado nos anos de 2007 a 2009, contabilizados pela ocorrência em cada mês do ano.



Neste estudo procurou-se também entender o comportamento desta patologia e, para isto, elencaram-se os sinais e sintomas apresentados pelos pacientes e os procedimentos adotados no tratamento. Três tipos de condutas foram adotados para o tratamento dos pacientes, conforme a gravidade do quadro que apresentavam na admissão hospitalar. A tabela 6 mostra a relação entre a conduta adotada no tratamento e a evolução clínica dos 37 pacientes. Pode ser notado que 24 pacientes foram entubados e tratados em UTI, sendo que, destes, 11 evoluíram para óbito. Outros 4 pacientes sobreviventes, também foram encaminhados para tratamento intensivo mas não necessitaram de entubação; porém, dos 9 pacientes que foram tratados em ambulatório comum, 4 receberam alta mas 5 foram à óbito. Os resultados não mostraram diferença significativa entre a conduta adotada para tratamento e evolução para cura.

Tabela 6 – Relação entre a conduta adotada no tratamento dos pacientes com hantavirose e a evolução para cura.

Conduta	Evolução		Total	% cura
	Cura	Óbito		
UTI/Entubação	13	11	24	54,0
Cuidados de UTI	4	0	4	100,0
Ambulatório	4	5	9	44,4
Total	21	16	37	56,7

$X^2 = 3,67$ ($p = 0,1596$)

O período mediano de procura por serviço de saúde pelos pacientes com hantavirose foi de 4,5 dias. Na tabela 7 encontra-se a relação entre o tempo (dias) da busca por ajuda médica (antes ou até o 4,5 dias, e após este período) e a evolução dos pacientes para a cura ou para óbito. Observa-se que a porcentagem de curas do grupo $\leq 4,5$ dias foi significativamente maior (73,3%) do que a observada entre os pacientes que procuraram serviços de saúde depois de 4,5 dias (24,7%).

Tabela 7: Relação entre a mediana de busca por ajuda médica e porcentagem de cura dos pacientes

Procura	Evolução		Total	% Cura
	Cura	Óbito		
$\leq 4,5$ dias	11	4	15	73,3
$> 4,5$ dias	4	11	15	24,7
Total	15	15	30	100,0

$X^2=6,53$ ($=0,0285$)

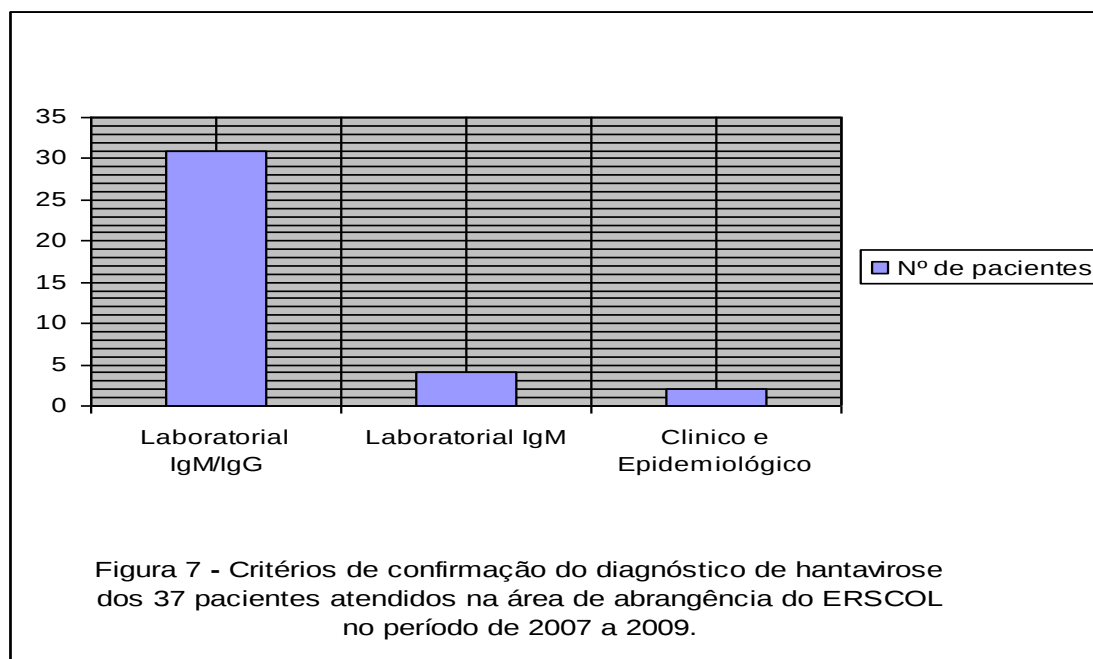
O teste G de Cochran mostrou diferença significativa ($G_{calculado} = 128,09$, $p = 0,0000$) entre as frequências dos sinais e sintomas apresentados pelos pacientes deste estudo. A tabela 8 mostra os sinais e sintomas mais frequentes que os pacientes apresentavam antes de serem admitidos nos serviços de saúde, ou no momento da admissão. Os sinais e sintomas relatados refletem o estado do paciente antes da internação hospitalar.

Tabela 8: Frequência de sinais e sintomas observados nos pacientes com hantavirose, antes ou no momento da admissão nos serviços de saúde

Ordem	Sinais e sintomas	%
1º	Febre	93,3
2º	Dispnéia	73,3
3º	Cefaléia e Mialgia	66,7
4º	Hipotensão	63,3
5º	Náusea/Vômito e Tosse seca	60,0
6º	Astenia	50,0
7º	Dor abdominal	43,3
8º	Tontura/vertigem e Dor lombar	40,0
9º	Dor torácica e Insuficiência respiratória	33,3
10º	Diarréia	23,3
11º	Cianose	20,0
12º	Sudorese e Taquicardia	10,0

$G_{calculado} = 128,09$ ($p = 0,0000$)

A figura 7 ilustra os critérios de confirmação do diagnóstico dos casos de hantavirose abordados neste trabalho. Os soros humanos provenientes dos casos suspeitos de hantavirose são encaminhados, para os exames laboratoriais, pelas Secretarias Municipais de Saúde para o MT-Laboratório, referência do estado, sediado em Cuiabá; de lá as amostras são encaminhadas para o Instituto Evandro Chagas (IEC), do estado do Pará.



Na análise da documentação disponível constatou-se que 35 pacientes tiveram resultados laboratoriais expedidos pelo IEC/PA, sendo 31 com determinação de anticorpos anti hantavírus das classes IgM e IgG e 4 com determinação apenas de IgM anti hantavírus. Os 2 pacientes incluídos pelo critério clínico-epidemiológico, foram a óbito sem suspeita clínica para hantavirose. A inclusão destes casos só foi possível por investigação minuciosa abordando os achados clínicos e epidemiológicos destes pacientes, posterior ao óbito.

Na observação dos exames complementares, conseguiu-se dados de 30 pacientes que realizaram Raio-X de tórax logo após admissão em Hospitais da rede pública de saúde, situada dentro da área de abrangência do ERSCOL. Dos 30 pacientes com dados disponíveis 26 (86,6%) apresentaram alterações significantes. Destes, 23 (76,6%) apresentaram infiltrado bilateral difuso e 3 (10%) infiltrado

intersticial. Apenas em 4 pacientes (13,3%) não foi detectado nenhuma alteração pulmonar.

Quanto aos exames laboratoriais, foi analisado apenas o perfil hematológico e bioquímico dos pacientes com exames disponíveis. Os exames de 32 pacientes foram analisados tendo-se constatado que as alterações hematológicas mais freqüentes foram trombocitopenia e distúrbio de coagulação, presentes em 93,8% dos pacientes com hantavirose. Hemoconcentração com hematócrito acima de 45% foi verificada em 78,1% dos casos, neutrofilia em 75%, desvio à esquerda em 68,8% e leucocitose em 62,5% dos pacientes (tabela 10).

O teste G de COCHRAN mostrou diferença significativa ($p = 0,0012$) entre as ocorrências de vários parâmetros hematológicos alterados nos pacientes estudados. As porcentagens das alterações hematológicas encontram-se, por ordem decrescente de ocorrência, na tabela 9.

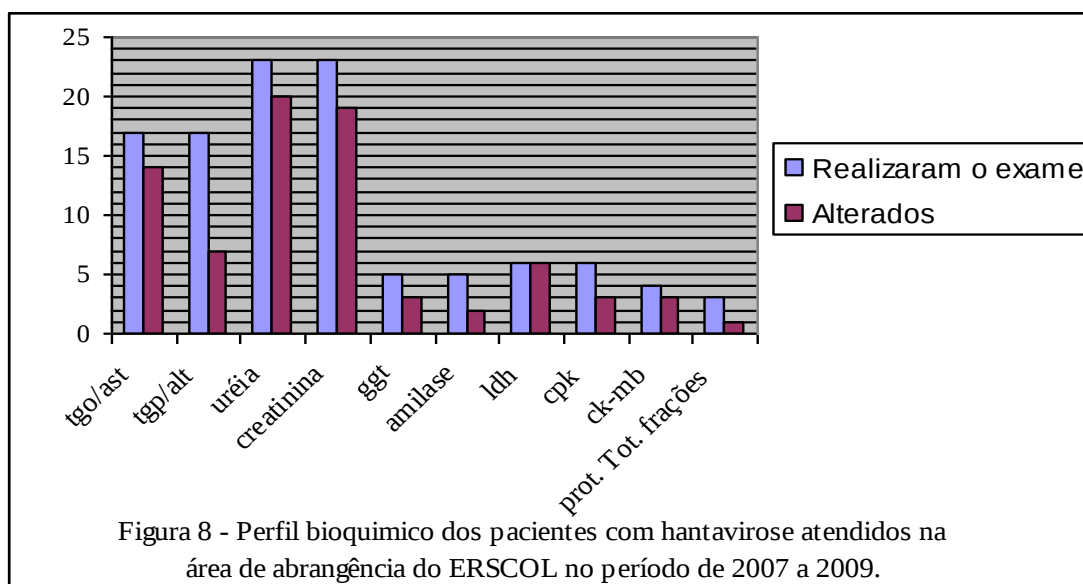
Tabela 9 – Parâmetros hematológicos alterados em pacientes com hantavirose

Ordem	Alteração hematológica	(%)
1º	trombocitopenia e distúrbio de coagulação	93,8
2º	hemoconcentração	78,1
3º	neutrofilia	75,0
4º	desvio à esquerda	68,8
5º	leucocitose	62,5

Gcalculado ($p = 0,0012$)

O perfil bioquímico dos pacientes com hantavirose é apresentado na figura 8, na qual nota-se quais os exames foram mais solicitados. Os resultados apontam para uma relativa preocupação com a função renal dos pacientes, a qual foi monitorada em 23 (62,1%) pacientes pelas dosagens de uréia e creatinina cujos resultados mostraram alteração, respectivamente, em 86,9% (20/23) e 82,6% (19/23) dos pacientes que realizaram esses exames. As transaminases AST/TGO (aspartato-aminotransferase) e ALT/TGP (alanino-aminotransferase) foram realizadas em 17 pacientes e constatou-se elevação nos teores de AST em 82,3% (14/17) e alteração de ALT em apenas 41,2% (7/17). Apesar de observar na documentação disponível que poucos pacientes realizaram os exames LDH (Desidrogenase láctica), CPK

(creatina fosfoquinase) e creatina quinase - MB (CK-MB), estes mostraram ser importantes marcadores nos resultados dos pacientes em que foram dosadas.



Procurou-se, neste trabalho, verificar a relação entre a hidratação endovenosa e a evolução clínica dos pacientes. Foi possível analisar dados de 21 pacientes e notou um prognóstico negativo para aqueles que receberam acima de 2000 ml de infusão hídrica. Dos casos em que foi possível analisar o volume de hidratação nas primeiras 24 horas, observou-se que 33,3% (4/12) dos pacientes que receberam infusão acima de 2000 ml evoluíram para cura e 68,7% (8/12) foram a óbito. Por outro lado, a evolução para óbito foi menor naqueles que receberam volume hídrico abaixo ou igual a 2000 ml 77,8% (7/9) foram curados e 22,2 (2/9) evoluíram para óbito (tabela 10).

Tabela 10: Associação entre hidratação e cura em pacientes com hantavirose

Hidratação ml/dia	Evolução		Total	% de cura
	Cura	Óbito		
Até 2000	7	2	9	77,8
Acima de 2000	4	8	12	33,3
Total	11	10	21	52,4

Teste exato de Fisher calculado ($p=0,0563$)

4.1.1 Resultados das análises laboratoriais e dos dados coletados de pessoas residentes no Assentamento Tupã do município de Marcelândia/MT

O inquérito sorológico realizado com 54 amostras, (10%) da população do Assentamento Tupã localizado no município de Marcelândia, revelou a frequência de 13% (7/54) de soropositividade para anticorpos IgG anti hantavírus. O método de análise foi o ensaio imunoenzimático ELISA, que utiliza como antígeno a proteína N recombinante do vírus ARAV (FIGUEIREDO et al, 2009). A tabela 11 ilustra o resultado do inquérito e a distribuição de casos de acordo com o gênero dos participantes.

Tabela 11 - Resultados do inquérito sorológico realizado para a investigação da presença de anticorpos anti hantavírus no soro dos participantes residentes no Assentamento Tupã em Marcelândia/MT,

Gênero	n=54			
	IgG (-)	IgG (+)	Total	% IgG (+)
Masculino	28	5	33	15,1
Feminino	19	2	21	9,5
Total	47	7	54	13,0

Teste exato de Fisher ($p=0,4369$)

A análise estatística não mostrou diferença significativa entre homens e mulheres das porcentagens de positividade para anticorpos IgG anti hantavírus.

A amostragem de participantes dessa investigação constituiu-se de pessoas que desempenham suas funções na área rural, e residem, em média, há 6,5 anos no Assentamento Tupã. Na tabela 12 observa-se que a população estudada é formada predominantemente por agricultores com ensino fundamental incompleto, e que praticam agricultura de subsistência.

Tabela 12 - Ocupação e escolaridade dos participantes do inquérito sorológico realizado em Marcelândia/MT

Escolaridade	n=54	%	Ocupação	n=54	%
Ensino Superior	1	1,8	Madeireira	2	3,7
Ensino Médio	9	16,7	Domestica	4	7,4
Ensino Fundamental incompleto	36	66,7	Agricultura	48	88,9
Sem escolaridade	8	14,8			
Total	54	100,0		54	100,0

Foi possível, também, conhecer a origem dos participantes. A predominância são colonos da região sul (46,3%), principalmente, do estado do Paraná 17/54 (31,5%). A tabela 13 mostra a relação entre o número de pessoas de cada região ou estado do Brasil e a frequência de positividade para anticorpos IgG anti hantavírus.

Tendo-se os resultados da relação entre a origem dos participantes do estudo e a frequência de amostras positivas para anticorpos IgG anti hantavírus, foram analisados, em comparação, a porcentagem de amostras positivas nos indivíduos originários da região Sul e os das demais regiões (tabela 14). Constatou-se que a porcentagem de positivos nos originários da região Sul foi significativamente maior que a das demais regiões.

Tabela 13 - Composição da população de estudo e frequência relativa dos casos positivos

Origem	nº de pessoas	%	Positivo para IgG	Fr (%)
Paraná	17	31,6	3	17,6
Rio Grande do Sul	5	9,3	2	40,0
Santa Catarina	3	5,5	1	33,3
Região Sul	25	46,3	6	24,0
Mato Grosso	7	13,0	-	-
Mato Grosso do Sul	3	5,5	-	-
Goiás	2	3,7	-	-
Região Centroeste	12	22,2	-	-
Minas Gerais	6	11,1	-	-
São Paulo	4	7,4	-	-
Região Sudeste	10	18,5	-	-
Maranhão	3	5,5	-	-
Bahia	2	3,7	-	-
Região Nordeste	5	9,3	-	-
Pará	2	3,7	1	50,0
Região Norte	2	3,7	1	50,0
Total	54	100,0	7	13,0

No questionário aplicado, todos os participantes afirmaram possuir informações gerais sobre hantavirose tais como: reservatório natural, formas de contaminação, gravidade da doença e medidas de prevenção. Tiveram contato direto com roedores e suas excretas 59,3% dos participantes, enquanto que 40,7% relataram não lembrar ou não tiveram contato com roedores e ou suas excretas.

Tabela 14: Número de soros positivos e negativos no ensaio ELISA para a detecção de anticorpos IgG anti hantavírus

Origem	IgG anti hantavírus		Total	% Positivos
	Positivo	Negativo		
Região sul	6	19	25	24,0
Demais regiões	1	28	29	3,45
Total	7	47	54	13,0

Teste exato de Fisher (p= 0,03171)

Entre os participantes, 46,3% relataram que armazenam os cereais para consumo próprio, para a alimentação dos animais e os oriundos de colheita, exclusivamente, nos anexos peridomiciliares, 20,4% armazenam na residência os cereais de consumo próprio, e os demais nos anexos, e 33,3% armazenam todos somente na residência (tabela 15).

Tabela 15 – Conhecimento dos participantes sobre informações sobre a hantavirose e as condições adequadas para a prevenção da doença (n=54)

Informações e condições de prevenção	nº pessoas	%
Reservatório natural do hantavírus	54	100,0
Como se infecta com o vírus	54	100,0
Medidas de Prevenção	54	100,0
Gravidade da doença	54	100,0
Teve contato direto com roedores (ratos) ou excretas	32	59,3
Não teve contato direto com roedores ou suas excretas	22	40,7
Armazena cereais na residência	18	33,3
Armazena cereais na residência e anexos	11	20,4
Armazena cereais somente nos anexos	25	46,3

Foi analisada, ainda, a relação entre a forma de armazenamento de cereais de cada participante e a presença de anticorpos IgG anti hantavírus. A análise estatística mostrou que não é significativa essa relação. A tabela 16 apresenta esses resultados.

Tabela 16: Relação a entre forma de armazenar os cereais e a presença de anticorpos IgG anti hantavírus no soro dos participantes

Armazenamento	IgG anti hantavírus		Total	% Positivos
	Positivo	Negativo		
Residência	4	14	18	22,2
Residência e anexos	1	10	11	9,1
Anexos	2	23	25	8,0
Total	7	47	54	13,0

$$\chi^2 = 2.060 \text{ (p=0,3570)}$$

A relação entre o contato prévio com roedores e presença de anticorpos IgG anti hantavírus no soro dos participantes foi também investigada. Os resultados não mostraram diferença significativa na análise estatística (tabela 17).

Tabela 17: Relação entre o contato com roedores e presença de anticorpos IgG anti hantavírus no soro dos participantes

Contato	IgG anti hantavírus		Total	% Positivos
	Positivo	Negativo		
Sim	6	26	32	18,75
Não	1	21	22	4,55
Total	7	47	54	13,0

Teste exato de Fisher (p =0, 1315)

No trabalho de coleta de sangue para pesquisa de anticorpos anti hantavírus no soro dos participantes, foram anotados os tipos de ambientes que caracterizavam a cobertura vegetal predominante do entorno das suas residências. Foram observados sete ambientes diferentes no entorno das residências, sendo 38,9% (21/54) deles com vegetação do tipo gramínea e 27,8% (15/54) com a do tipo capoeira. A tabela 18 mostra os tipos de ambientes e sua relação com a presença de anticorpos IgG anti hantavírus no soro dos participantes. A análise estatística dos resultados não mostrou diferença significativa (tabela 19).

Tabela 18 – Relação entre o ambiente do entorno das residências e presença de anticorpos IgG no soro dos participantes do inquérito

Cobertura vegetal	Nº de ambientes	%	IgG positivo	Fr (%)	Armazena cereais		
					Residência	Anexo/residência	Anexo
Gramínea	21	38,9	3	42,8	1	1	1
Capoeira	15	27,8	1	14,3	1		
Mata ciliar	5	9,3	2	28,6	2		
Mandiocal	5	9,3					
Abacaxizal	4	7,4					
Floresta primária	3	5,5					
Frutíferas permanente	1	1,8	1	14,3			1
Total	54	100,0	7	100,0	4	1	2

Tabela 19: Relação entre ambiente de entorno das residências e IgG positivo

Entorno	IgG		Total	% Positivo
	Positivo	Negativo		
Gramínea	3	18	21	12,3
Capoeira	1	14	15	6,3
Outros	3	15	18	16,7
Total	7	47	54	13,0

$$X^2 = 0,778 \quad (p = 0,6761)$$

A infecção por hantavirus por meio de água contaminada é citada por vários autores. Neste sentido foi investigada a forma de abastecimento e tratamento de água que os moradores do Assentamento Tupã têm acesso, respeitando-se a amostragem do inquérito sorológico. Na tabela 20 observa-se que 45 dos 54 participantes utilizam água subterrânea, tendo o poço como fonte principal de abastecimento de água. A água do rio da região ainda é a fonte de abastecimento de 9 dos participantes, sendo essa água consumida *in natura*, ou tratada ou filtrada (tabela 20).

Na tabela 21 relaciona-se a forma do consumo de água, de poço ou do rio, e a presença de anticorpos IgG anti hantavírus; a análise estatística desses resultados não mostrou diferença significativa.

Tabela 20 - Condições de abastecimento e tratamento de água no Assentamento Tupã do município de Marcelândia/MT relacionado com a presença de anticorpos IgG anti hantavírus.

Fonte de água e tratamento	Quantidade	%	IgG positivo	Fr (%)
Poço e filtra	3	5,5		
Poço, filtra e trata	22	40,8	2	28,6
Poço e trata	15	27,9	2	28,6
Poço in natura	5	9,3	2	28,6
Rio filtra	3	5,5		
Rio, filtra e trata	3	5,5		
Rio e trata	2	3,7	1	14,2
Rio in natura	1	1,8		
Total	54	100,0	7	100,0

Tabela 21: Relação entre a origem da água consumida pelos participantes do inquérito sorológico e a presença de anticorpos IgG anti-hantavírus no seu soro.

Abastecimento	IgG anti hantavirus		total	% de positivos
	positivo	negativo		
Água de poço	6	39	45	13,3
Água de Rio	1	8	9	11,1
Total	7	47	54	13,0

Teste exato de Fisher (p = 0, 6701)

Também se procurou investigar se os participantes do inquérito sorológico apresentavam sinais e sintomas sugestivos de hantavirose no ato da coleta do sangue, ou nos 60 dias anteriores (tabela 22).

Tabela 22 - Sinais e sintomas dos participantes do inquérito sorológico nos 60 dias anteriores à coleta de sangue para a pesquisa de anticorpos IgG anti hantavírus.

Sinais e Sintomas	Quant.	%	IgG positivo	Fr (%)
Tosse seca, febre, cefaléia, mialgia, astenia	6	11,1	2	28,6
Tosse seca, diarreia, náusea/vômito	3	3,7	1	14,3
cefaléia, tosse seca e vômito	2	1,8	1	14,3
Não apresentou sinais e sintomas	44	81,7	3	42,8
Total	54	100,0	7	100,0

Foram observadas três combinações de sinais e sintomas, inespecíficos, que também surgem na fase prodrômica da hantavirose. A combinação de tosse seca, febre, cefaléia, mialgia e astenia foi relatada por 6 (11,1%) participantes. A

manifestação simultânea de tosse seca, diarreia, náusea/vômito foi lembrada por 2 (3,7%) e um deles (1,8%) relatou cefaléia, tosse seca e vômito. Quarenta e quatro (81,7%) participantes não apresentaram nenhum dos sintomas nos 60 dias anteriores à coleta.

Os dados referentes às doenças pré-existentes nos participantes do inquérito sorológico foram ainda investigados. Constatou-se que 24% (13/54) dos participantes confirmaram doenças pré-existentes, sendo hipertensão arterial e diabetes os mais representativos; porém, nenhuma relação entre a ocorrência de doenças antes do inquérito e a presença de anticorpos anti hantavírus foi encontrada. Na tabela 23 estão representadas as doenças relatadas pelos participantes.

Tabela 23 – Relação das doenças presentes nos participantes antes do inquérito sorológico.

Doença	Nº de pessoas	%
Pressão Arterial	8	14,8
Pressão Arterial e Cardíaco	1	1,8
Pressão arterial e Diabetes (DM2)	1	1,8
Diabetes (DM2)	1	1,8
Gastrite	1	1,8
Leishmaniose (LTA)	1	1,8
Não relatou nenhum agravo	41	76,2
Total	54	100,0

Por fim, utilizou-se de teste de biologia molecular, RT-PCR, para investigar a presença de fragmentos de RNA de hantavírus no soro dos participantes que haviam apresentado anticorpos IgG anti hantavírus no ensaio imunoenzimático (ELISA). Os testes de todos os participantes resultaram negativos (Figura 9).

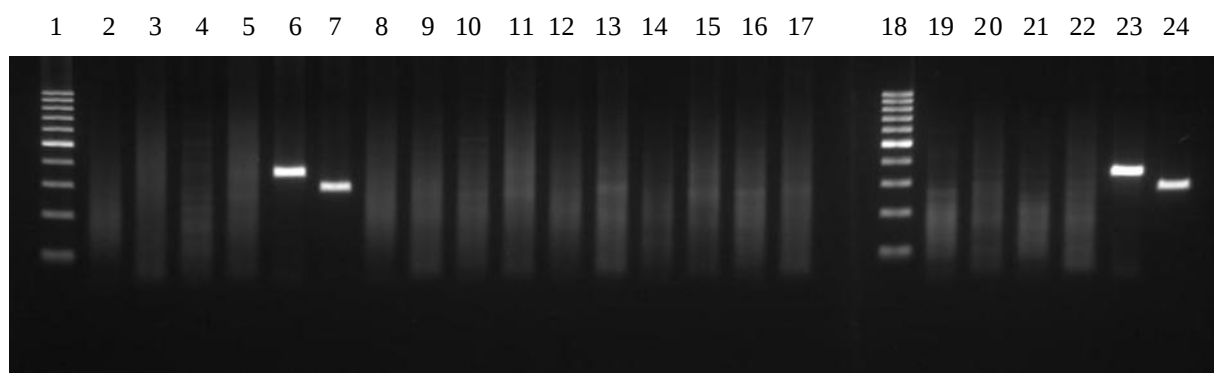


Figura 9 – Eletroforese em gel de agarose dos produtos de RT-PCR de RNA extraído do soro dos 7 participantes cujos soros apresentaram anticorpos IgG anti *hantavírus* (ELISA). 1. Marcador 100 pares de base; 2. Controle neg. Gn, 3. Controle neg. S; 4. Paciente CPV Gn; 5. Paciente CPV S; 6. Controle

Positivo. Gn; **7.** Controle Positivo. S; **8.** Participante 8 Gn; **9.** Participante 8 S; **10.** Participante 16 Gn; **11.** Participante 16 S; **12.** Participante 23 Gn; **13.** Participante 23 S; **14.** Participante 27 Gn; **15.** Participante 27 S; **16.** Participante 41 Gn; **17.** Participante 41 S; **18.** Marcador 100 pares de base; **19.** Paciente 53 Gn; **20.** Participante 53 S; **21.** Participante 54 Gn; **22.** 54 S; **23.** Controle Positivo Gn; **24.** Controle Positivo S.

5. DISCUSSÃO

5.1 Análises dos dados dos pacientes com hantavirose, no período de 2007 a 2009, na área de abrangência do Escritório Regional de Colíder, Mato Grosso.

A primeira parte do presente trabalho refere-se à análise de dados sobre a epidemiologia da hantavirose na área de abrangência do Escritório Regional de Colíder – ERSCOL, no período de 2007 a 2009. Descobriu-se nessa análise que o Hospital Regional de Saúde de Colíder, pela localização estratégica na região, é referência para este agravo, não só para os municípios da área de abrangência do ERSCOL, mas também para outros municípios do estado, inclusive do estado do Pará. Os dados levantados compreendem 37 casos confirmados de hantavirose que foram atendidos em duas unidades hospitalares, situadas dentro da jurisdição do ERSCOL. Destes 37 pacientes, 35 possuem resultados de exames (ELISA), realizados no Instituto Evandro Chagas, situado em Belém do estado do Pará, que confirmam a positividade para hantavirose. Dois casos foram notificados e incluídos neste trabalho por critério clínico-epidemiológico. Foram 56,8% casos oriundos de municípios da área de abrangência do ERSCOL e 43,2% em outros municípios; destes, 21,6% da Regional de Saúde de Peixoto de Azevedo e 21,6% oriundos do Estado do Pará (Novo Progresso e Castelo de Sonhos). Pode-se afirmar que 78,4% dos casos foram de municípios da região norte do Estado do Mato Grosso.

Observou-se que o maior número de casos de hantavirose foi maior no gênero masculino, representando 75,7% dos casos relatados contra 24,3% de casos positivos em pessoas do sexo feminino.

Nossos resultados foram semelhantes aos encontrados por Elkhoury (2007), que revelou a ocorrência dessa infecção como três vezes mais frequente no gênero masculino do que no feminino. Parece haver uma concordância de que a infecção no Brasil tem sido mais frequente nos homens, o que reforça a hipótese de maior exposição ao risco. Um estudo conduzido por Campus et al (2009) sobre os aspectos clínicos da Síndrome Pulmonar e Cardiovascular por hantavírus (SPCVH) em pacientes da região Sudeste mostrou que a maioria dos acometidos foram homens em idade produtiva. Figueiredo (2010) determinou a positividade de hantavirose em

21,2%, com a predominância no sexo masculino, 81,8%, em estudo realizado no estado de São Paulo, com 52 amostras de soros de suspeitos de SCPVH.

No presente estudo, maior número de casos e óbitos nos resultados entre os homens, porém a análise estatística não demonstrou significância. Com o tamanho da amostra estudada não foi possível rejeitar ($p=0,1406$) a hipótese de igualdade entre as porcentagens de óbitos de mulheres 22,2% e homens 50,0%. Diferente dos resultados descritos por Lavocat et al. (2007), o número de óbitos encontrados nesta pesquisa foi maior entre os homens e a letalidade também.

Todos os pacientes deste estudo realizavam atividades ligadas ao meio rural diária ou freqüentemente. Os pacientes eram sítiantes, funcionários de fazendas, pecuaristas e trabalhadores de madeireiras, a maioria com residência em local de contaminação potencial. Nossos resultados, apesar da amostragem pequena, concordam com os apresentados por Elkhoury (2007), na série histórica de 1993 a 2006 sobre hantavirose no Brasil, quando demonstrou predominância do agravo na área rural. Porém, Lavocat et al (2007) chama atenção para a mudança no perfil dos pacientes em 2007, quando registrou predominância de casos positivos de hantavirose em pessoas residentes na área urbana no Brasil. Para Campos (2002), o acesso ao meio rural por moradores na cidade deve ser levado em consideração, pois há um grande contingente de pessoas que realizam suas atividades no meio rural, apesar de residirem na área urbana; também, há ocorrência de infecções em regiões peri-urbanas devido à expansão da urbanização em áreas que ainda apresentam características rurais.

Na série histórica pesquisada, os casos de hantavirose registraram letalidade de 43,2%, acima da média nacional para o mesmo período, em que a letalidade foi de 39% (MS, 2010). Considerando-se a letalidade em cada um dos três anos investigados, o registro foi de 42% em 2007, 63,7% em 2008 e 28,6% em 2009. A queda significativa na porcentagem de óbitos em 2009 pode estar associada ao nível de informações e conhecimento adquiridos pelos profissionais de saúde nos dois anos anteriores que marcaram a presença do agravo na região.

Os resultados sugerem que não há idade específica para a infecção por hantavírus. Neste estudo foi verificada esta doença em crianças e idosos, porém predomina entre os adultos jovens com média de 34,2 anos. Os achados deste estudo em relação à idade dos pacientes ficaram próximos dos 32,2 anos

encontrados por Elkhoury (2007) na série histórica do período de 1993 a 2006 no Brasil.

Dos 37 pacientes com hantavirose, 34 desenvolveram SPCVH e, portanto, considerando-se a evolução para esta síndrome, a porcentagem de letalidade aumentou para 47%. Uma observação relevante foi a que os três pacientes que não evoluíram para a SPCVH, foram justamente conviventes de pessoas que foram a óbito por hantavirose, e incluídos neste estudo devido à investigação epidemiológica.

Conforme Rosa (2008) descreveu, não se deve descartar a possibilidade de ocorrência de hantavírus mais brandos que não estejam relacionados à SPCVH. Apenas um dos 16 pacientes que evoluíram para óbito era portador de doença pré-existente, desta forma não foi possível relacionar, neste estudo, doenças existentes como fator de facilitação para a infecção com hantavírus e a instalação de um quadro de SPCVH. Também não se constatou a existência de doenças infecto-contagiosas, e nem crônico-degenerativas, nos 21 pacientes que sobreviveram a hantavirose; no geral, todos os infectados por hantavírus eram pessoas previamente hígidas. O estudo sugere que a maior frequência de casos entre pessoas de 21 a 50 anos, está ligada ao grau de exposição em locais propícios à presença de hantavírus. Deve-se considerar também que os indivíduos desta faixa etária são sem dúvida alguma os agentes produtivos ativos nas propriedades rurais.

No presente estudo, pode-se observar que 5,4% dos casos relatados foram de crianças abaixo de 10 anos de idade; estes dois casos estão diretamente ligados ao ambiente domiciliar e peridomiciar. Conforme Santos (2009), ambos entraram em contato direto com roedores nos dias anteriores aos sinais e sintomas. Dado importante é que as duas crianças pertenciam a mesma família da qual outros membros também foram contaminados, inclusive com evolução a óbito.

Frequência de 13,5% dos casos foi registrada para adolescentes e jovens com idade variando de 14 a 20 anos; esta faixa etária representou 18,7% dos casos fatais. Deve-se notar que dois destes pacientes eram da mesma família e desempenhavam a mesma função no local provável de infecção. Quatro destes pacientes (10,8%) são classificados como sendo de idade pediátrica (0 a 17 anos) e, assim, a frequência de infecção por hantavírus nessa idade ficou bem próxima às frequências relatadas por Ferres et al. (2010) nos Estados Unidos (8%) e no Chile (15%) para essa idade.

A atividade rural oferece, realmente, risco eminente de contaminação por hantavírus, mas o que mais corrobora para este agravo são as condições das estruturas das residências aliadas aos seus anexos, considerando-se que neste espaço há uma dinâmica que potencializa o contato direto com roedores e suas excretas (PEREIRA, 2006). No ambiente peridomicilar estão construídos os paióis, granjas, pocilgas, currais e barracões para guarda de implementos agrícolas. No entanto, todos são locais promissores para a proliferação de roedores, tanto pelo fato da própria estrutura em si fornecer abrigo desejável a estes animais, como também por estarem ali armazenados os cereais ou, no caso de galinheiros, currais e pocilgas, por apresentar resíduos de alimentos atraentes, como milho e rações diversas.

O anexo 10 retrata um pouco a realidade dos ambientes peridomiciliares das propriedades rurais, onde se registrou casos de hantavirose. Estas observações confirmam a afirmação de Pereira (2006) que as construções do peridomicílio são o fator que mais tem contribuído para a ocorrência de infecção por hantavírus. Ademais, sem obedecer a critérios, não estabelecendo uma determinada distância da mata e da pastagem das lavouras, os habitantes permitem a entrada de roedores, sejam atraídos por alimentos armazenados ou acidentalmente. Neste estudo, pode-se constatar ainda que a própria atividade de manutenção e limpeza dos anexos peridomiciliares oferece a fonte e risco permanente de transmissão do vírus.

A vida diária que acontece no ambiente do peridomicílio nas propriedades rurais sugere as contaminações que ocorrem em crianças, adolescentes e mães de família. Na organização da família rural, além das atividades domésticas, é atribuída a estas pessoas a vida com os pequenos animais domésticos. As atividades agrícolas, domésticas ou de lazer, que estejam direta ou indiretamente associadas ao encontro com roedores ou suas excretas, constituem os principais fatores de risco para as infecções por hantavírus. Aliada a esse fator, as alterações na vegetação natural, onde o homem introduz plantas de interesse comercial, acabam fornecendo aos roedores existentes na natureza uma nova fonte de alimentação, o que propicia o rápido aumento da densidade populacional de roedores silvestres nas áreas ocupadas pelo homem.

Estudo realizado por Santos (2009), afirma que os primeiros casos de hantavirose registrados na área de abrangência do ERSCOL, a infecção aconteceu provavelmente dentro das próprias moradias ou nos anexos peridomiciliar.

Não se pode afirmar neste trabalho que há sazonalidade definida para a ocorrência de contaminação com hantavírus na região. Dos 37 pacientes atendidos nos estabelecimentos de saúde da área de abrangência do ERSCOL no período de 2007 a 2009, só não houve registro de casos no mês de julho. Em agosto foi registrado o maior número de casos 21,6%. Um estudo retrospectivo realizado por Elkhoury (2007), em que aborda todos os casos registrados no Brasil no período de 1993 a 2006, o autor demonstrou que no geral a maioria dos casos de hantavirose acontecia no período de agosto a novembro. No presente trabalho, a ocorrência de casos de hantavirose foi observada ao longo de todo o ano, mas foi no período de agosto a dezembro em que houve o registro do maior número de casos, (56,8%). Existe relato de diferentes sazonalidades nas regiões transmissoras de hantavírus. No sudeste, Campos et al (2002) verificaram que a maioria dos casos de hantavirose na região de Ribeirão Preto/SP se deu no período de abril a junho. Limongi et al (2007) estudaram a região de Uberlândia/MG e determinaram que 65% dos casos de hantavirose aconteciam entre maio e junho. Na região Sul, Raboni et al (2005) constataram que é entre setembro a março que a maioria dos casos aconteciam no Paraná. Caldas (2003) observou em estudo epidemiológico que no Rio Grande do Sul a maioria dos casos de hantavirose havia acontecido entre outubro e dezembro.

Neste estudo se procurou entender o comportamento da hantavirose e, para isto, elencaram-se os sinais e sintomas apresentados pelos pacientes ao procurar ajuda médica e os consequentes procedimentos adotados no tratamento. Os dados observados foram semelhantes aos dados de estudos realizados em outras regiões. Constatou-se que 100% dos pacientes (37) foram hospitalizados. Destes, apenas nove não receberam cuidados intensivos tendo atendimento em ambulatório. Ressalta-se que quatro destes eram conviventes de pessoas que foram a óbito por hantavirose; só fizeram parte da estatística da hantavirose no Estado devido à investigação epidemiológica e busca ativa. Mesmo esses pacientes apresentaram manifestação de sinais e sintomas e necessitaram de acompanhamento médico. No geral, o tempo médio entre o início dos sintomas e a procura por serviços de saúde

foi de aproximadamente 4,5 dias, o que representa uma demora significativa considerando a gravidade da doença.

A relação entre a conduta adotada no tratamento e cura não mostrou diferença significativa; entretanto, pode sugerir que os pacientes que receberam cuidados em UTI apresentaram melhores prognóstico de cura. Dos 24 pacientes que foram tratados em UTI, 13 necessitaram de entubação e evoluíram para cura e 4 não necessitaram de ser entubados e se curaram. Porém nove pacientes receberam cuidados em ambulatório e, destes, apenas 4 evoluíram para cura. Há evidências claras de que, pelo menos em dois casos entre os que receberam tratamento em ambulatório e evoluíram para óbito e que foram incluídos como caso de hantavirose por critério clínico e epidemiológico, os profissionais de atendimento não suspeitaram de hantavirose, e a confusão diagnóstica com outros agravos pode ter corroborado para este desfecho. Dois outros pacientes não foram encaminhados a tempo para estabelecimento de saúde que dispunha de serviços intensivos requeridos pelo agravo. No início dos sinais e sintomas, o diagnóstico de hantavirose não é fácil de ser conseguido, podendo ser confundido com outras entidades patológicas próprias das localidades em que a hantavirose acontece (PETERS, 1998; FERREIRA, 2003).

O estudo aponta que a mortalidade foi maior entre aqueles pacientes que demoraram em procurar os serviços de saúde. Foi possível levantar dados relativos aos primeiros sinais e sintomas e a busca pelo serviço de saúde de apenas 30 pacientes. Alguns pacientes procuraram o serviço de saúde com quadro característico de SPCVH, conseqüentemente evoluindo para óbito.

O período mediano de procura por serviço de saúde pelos pacientes com hantavirose, neste estudo foi de 4,5 dias. A porcentagem de curas do grupo $\leq 4,5$ dias foi significativamente maior do que a observada entre os pacientes que procuraram serviços de saúde posterior a 4,5 dias. Esse resultado ficou próximo do encontrado por Lavocat e colaboradores (2007), em um trabalho descrevendo todos os casos de hantavirose notificados no Brasil no ano de 2007, que resultou em quatro dias a média do início dos sintomas e o primeiro atendimento.

Os sinais e sintomas que os pacientes apresentavam antes ou até o momento de serem admitidos nos serviços de saúde foram relatados por outros autores que abordaram os aspectos clínico e epidemiológico da hantavirose. Os achados clínicos

deste estudo ficaram próximos daqueles encontrados por Limongi et al. (2007), em pesquisa realizada com 23 pacientes com SCPVH no Triângulo Mineiro e Alto Paraíba, no Estado de Minas Gerais no período de 1998 a 2005.

Os sinais e sintomas relatados neste estudo refletem o estado do paciente antes da internação hospitalar. Pelos sinais elencados pode-se perceber que nem todos os pacientes buscaram ajuda médica na fase prodrômica que é caracterizada por sinais inespecíficos conforme descrito por Ferreira (2003) e Pincelli et al (2003). Nos casos levantados na presente pesquisa verificou-se que febre (93,3%), dispnéia (73,3%), cefaléia (66,7%), mialgia (66,7%), hipotensão (63,3%), náusea/vômito (60%) e tosse seca (60%), têm sido os sinais e sintomas predominantes entre os pacientes. Também foram muito freqüentes astenia (50%), dor abdominal (43,3%), tontura/vertigem (40%), dores na região lombar (40%), dor torácica (33,3%), insuficiência respiratória aguda (33,3%). Ainda foram observados, em menor freqüência, mas em igual importância, sintomas como diarreia (23,3%), cianose (20%), sudorese (10%) e taquicardia (10%). Esses resultados estão bem próximos dos encontrados por Campos et al (2009) em trabalho com pacientes infectados com hantavírus na região Sudeste. A presença de tosse seca e dispnéia é sinal importante para Figueiredo et al (2000) que advertem que, apesar de não estar presente na fase prodrômica, em geral, são estes sinais os responsáveis em levar os pacientes a procura de serviço de saúde. Ademais, dispnéia e tosse seca somada a outros sinais e sintomas menos freqüentes como insuficiência respiratória aguda, hipotensão e cianose, retratam muito bem que parte significativa dos pacientes deste estudo deu entrada nos serviços de saúde na fase cardiopulmonar, o que contribui para a alta letalidade. Conforme descrito por Jeor (2004) e Ferreira (2003), na fase cardiopulmonar ocorre a maioria dos óbitos por SCPVH. A insuficiência respiratória aguda e o choque cardiocirculatório são as características principais nesta fase que pode durar até 10 dias.

Os soros humanos provenientes dos casos suspeitos de hantavirose são encaminhados pelas Secretarias Municipais de Saúde para o MT-Laboratório, referência do estado sediado na capital Cuiabá, e de lá são encaminhadas para o Instituto Evandro Chagas (IEC), do estado do Pará. Estes soros são submetidos ao teste imunoenzimático ELISA visando a detecção de anticorpos das classes IgM e IgG anti hantavírus. Os resultados têm demorado, em média, 30 dias para retornarem

ao estado de Mato Grosso, para, então, serem encaminhados às respectivas Secretarias Municipais de Saúde do município de residência do paciente. Neste sentido, o exame específico que confirma positividade ou não para hantavirose tem cunho mais epidemiológico do que diagnóstico dos pacientes acometidos, considerando a surpreendente progressão deste agravo de uma fase prodrômica para uma de edema pulmonar e cardiovascular que pode ser irreversível.

Diante deste contexto, a identificação precoce dos casos de hantavirose através dos sinais e sintomas aliados aos exames complementares pode melhorar as possibilidades de sobrevivência dos pacientes, onde os profissionais de saúde desempenham um papel importante nessa identificação. Por essa razão, devem ser realizados programas educativos para a orientação desses profissionais para o melhor conhecimento dessa doença, uma vez que o diagnóstico laboratorial específico ainda é demorado nesta área em que o presente estudo aconteceu.

Na observação dos exames complementares, conseguiu-se dados de 30 pacientes que realizaram Raios-X de tórax, logo após admissão em Hospitais da rede pública de saúde situada dentro da área de abrangência do ERSCOL. Dos 30 pacientes com dados disponíveis, 26 apresentaram alterações significantes. Destes, 23 tinham presença de infiltrado bilateral difuso e 3 apresentaram infiltrado intersticial. Apenas em 4 não foi detectado nenhum tipo de alteração pulmonar. Estes achados corroboram com o que o estudo aponta que parte significativa dos pacientes acometidos por hantavirose procuraram tardiamente os serviços de saúde, já com algum comprometimento pulmonar. No entanto o exame de Raios-X de tórax, neste trabalho, demonstrou ser relevante para fortalecer a hipótese diagnóstica deste agravo.

O teste G de COCHRAN mostrou diferença significativa ($p = 0,0000$) entre as ocorrências de alterações em parâmetros hematológicos em 32 pacientes que possuíam dados completos. Constatou-se que trombocitopenia e distúrbio de coagulação (TAP/TTPA) estiveram presentes em 93,8% no momento da admissão, seguida por hemoconcentração (78,1%), neutrofilia (75%), desvio a esquerda (68,8%) e leucocitose (62,5%). Estes achados aproximaram-se dos encontrados por Campos (2000), Ferreira (2003), Limongi et al (2007) e Campos et al (2009). Porém não foi observada neste estudo, em nenhum hemograma, a presença de imunoblastos, observados como linfócitos atípicos na corrente periférica, como foi observado nos trabalhos desenvolvidos pelos autores acima citados.

Para Ferreira (2003), a hemoconcentração resulta da exsudação de fluidos intravasculares para o parênquima pulmonar, podendo em alguns casos atingir acima de 60%. Trombocitopenia é sem dúvida um achado importante em pacientes com hantavirose e é indicio de transição entre fase prodromica e cardiopulmonar, (FIGUEIREDO et al, 2000). A adesão dos hantavírus a receptores de membranas tipo as integrinas B3, parece ser a causa do declínio do número de plaquetas na circulação sangüínea (ZAKI et al, 1995; PETERS, 1998 e FERREIRA, 2003).

Neste trabalho apenas dois pacientes não apresentaram queda representativa no número de plaquetas. No entanto, hematócrito elevado, leucocitose, neutrofilia e desvio à esquerda, que tem manifestado na maioria dos casos, são achados que podem ajudar na hipótese diagnóstica da doença. Principalmente se na admissão nos serviços de saúde for abordado o histórico ecoepidemiológico do paciente.

O hemograma completo tem se mostrado um exame essencial, pois, mesmo sendo inespecífico, possibilita a leitura de vários parâmetros, é de rápida execução, de fácil acesso, e realizado em qualquer laboratório. Koster et al (2001) sugere que a presença de quatro das cinco alterações no hemograma (trombocitopenia, mielócitos, hemoconcentração, ausência de granulação tóxica significativa em neutrófilos, e mais de 10% de linfócitos com características morfológicas de imunoblastos) após detecção de alteração pulmonar por Raios-X de tórax pode orientar o tratamento precoce da SPCVH.

Quanto ao perfil bioquímico, pode-se perceber que não houve uma preocupação em acompanhar os marcadores que estão envolvidos em infecção por hantavírus, principalmente naqueles pacientes que desenvolvem SPCVH. Os exames mais solicitados para os pacientes com hantavirose foram: Creatinina, uréia, AST/TGO (aspartato-aminotransferase), ALT/TGP (alanino-aminotransferase) e em menos freqüência LDH (disidrogenase láctica), CPK (creatina fosfoquinase) e creatina quinase - MB (CK-MB). Houve relativa preocupação com a função renal dos pacientes com hantavirose, que foi monitorada em 23 pacientes. Uréia revelou-se alterada em 86,9% e creatinina em 82,6% nestes pacientes. A elevação de uréia e creatinina podem estar diretamente relacionadas à hipovolemia e má perfusão renal (PETERS, 1998 e FERREIRA, 2003). A dosagem das transaminases AST/TGO (aspartato-aminotransferase) e ALT/TGP (alanino-aminotransferase) foi realizada em 17 pacientes e constatou-se elevação nos teores de AST em 14 e alteração de ALT em apenas 7. Os achados para estas enzimas neste estudo, diferem dos achados de Campos et al

(2009) no qual a segunda enzima foi mais freqüente em relação a primeira. Assim como em Campos et al (2009) LDH (desidrogenase láctica) e CPK (creatina fosfoquinase) mostraram-se elevadas nos pacientes em que foram dosadas. Porém o estudo chama atenção para a enzima cardíaca creatina quinase - MB (CK-MB) que esteve alterada em 75% dos pacientes que realizaram este exame. Campos et al (2009) sugere que as enzimas CPK e CK-MB sejam dosadas para avaliar complicações na musculatura esquelética e cardíaca, em pacientes com SPCVH.

O estudo aponta uma deficiência em relação aos pedidos de exames laboratoriais que se mostraram importantes em pacientes com SPCVH. Os resultados da dosagem de creatinina e de uréia demonstraram comprometimento renal nos pacientes; no entanto, solicitação para essas análises foi feita apenas para 23 dos 37 pacientes. As transaminases, principalmente AST, também se revelaram um importante marcador em pacientes com SPCVH; infelizmente porém, essa análise foi feita em menos da metade dos 37 pacientes estudados. Também as dosagens de LDH, GGT, CPK e CK-MB, que são marcadores importantes nos casos de SPCVH, foram solicitadas para poucos pacientes.

Neste estudo, pacientes que receberam hidratação acima de 2000 ml/dia parecem ter prognóstico negativo, enquanto que os que receberam menor volume de hidratação parecem ter prognóstico de cura. Porém, na análise estatística, a relação entre o volume de hidratação e o prognóstico não atingiu o nível de significância ($p=0,0563$). Campo et al (2009); num estudo com uma série de casos de SPCH na região de Ribeirão Preto, verificaram que 64% dos pacientes que receberam infusão hídrica acima de 2000 ml foram a óbito e 78% dos que receberam abaixo de 2000 ml sobreviveram. No entanto, Limongi et al (2007) estudou uma série de 23 casos de hantavirose no Triângulo Mineiro e, como na presente pesquisa, mostrou não ter encontrado significância estatística entre hidratação endovenosa e evolução para óbito.

Como ainda não existe vacina e nem drogas antivirais para o tratamento de hantavirose, as medidas de manutenção do estado geral dos doentes ainda consiste na melhor forma terapêutica. A avaliação clínica é primordial para intervenção no sentido de disponibilizar o mais rápido possível para pacientes suspeito de SPCVH cuidados de terapia intensiva. Portanto, os dados sobre hantavirose na área de abrangência do ERSCOL apontam a necessidade de intensificar as ações de vigilância em saúde, no sentido de desenvolver um programa de informação junto à

população local, sobre a prevenção deste agravo. Também é importante que se dê orientação sobre a importância de procurar ajuda médica diante dos sinais e sintomas sugestivos de hantavirose. Ao mesmo tempo, nota-se a necessidade de capacitar as equipes de saúde, principalmente da atenção básica que é a porta de entrada para serviços mais complexos de saúde, para ser mais eficiente na suspeita precoce de hantavirose, encaminhando o paciente, o mais rápido possível, para unidades hospitalares que tenham condição de disponibilizar os cuidados que este agravo exige. E nas unidades com suporte de terapia intensiva, os profissionais devem reavaliar a conduta no tratamento de pacientes com SPCVH, tendo mais cautela em relação ao volume de hidratação, principalmente nas primeiras 24 horas.

5.1.1 Inquérito sorológico realizado no Assentamento Tupã do município de Marcelândia/MT

O inquérito sorológico realizado em 54 amostras de sangue (10%) de indivíduos da população do Assentamento Rural Tupã foi constituído de 61,1% masculinos e 38,9% femininos. No total das amostras, detectou-se por método ELISA utilizando a proteína N recombinante do ARAV, como antígeno (FIGUEIREDO et al, 2009) uma frequência de 13% de positividade para IgG anti hantavírus. Destes 7 casos positivos 5 foram do gênero masculino e 2 feminino.

Quando se discute a distribuição de positividade entre os gêneros observa-se uma frequência de 15,1% em homens e 9,5% em mulheres. A análise não mostrou diferença significativa ($p=0,4369$), entre as porcentagens de positividade para IgG anti hantavírus entre os gêneros. Inquérito sorológico realizado no município de Jardinópolis/SP também mostrou uma leve predominância de anticorpos anti hantavírus em homens (CAMPOS, 2002).

Recentemente, Mendes et al. (2010), determinaram soroprevalência de anticorpo anti hantavírus em 4,7% em uma população do Estado do Maranhão, o que sugere que mesmo sem apresentar casos graves de hantavirose naquela região, este agravo vem acontecendo de forma mais branda e subclínica e maioria das vezes o diagnóstico não acontece.

A amostragem da presente pesquisa foi constituída por pessoas que desempenham suas funções na área rural e residem em média 6,5 anos no Assentamento Tupã. A maioria 89% foram agricultores com ensino fundamental incompleto, oriundos da região Sul do Brasil. A porcentagem de pessoas sem escolarização também é significativa nesta população 14,8%. Enfim todos independente da ocupação e escolaridade estão inseridos no meio rural. Porém ressalta-se que maioria esteve em outras frentes de expansão agrícola do Estado de Mato Grosso na tentativa de obtenção de propriedade de terra.

Comparando-se a região Sul com as demais regiões de origem dos participantes, em relação à presença de anticorpos anti hantavírus, constatou-se que a porcentagem de positivos nos originários da região Sul foi significativamente maior das demais regiões ($p= 0,03171$). Este fato pode até sugerir infecção pregressa por hantavírus, inclusive em outras regiões de circulação do vírus como é o caso dos originários dos Estados da região sul do País. Segundo Ferreira (2003), os anticorpos da classe IgG permanecem no organismo durante toda a vida do indivíduo infectado, e são usados para a detecção de infecções passadas, sintomáticas ou assintomáticas; desta forma, a hipótese de infecção pregressa não deve ser descartada. Porém, deve ser ressaltado que há forte circulação de hantavírus patogênicos na localidade onde ocorreu o estudo, lembrando que foram 12 casos confirmados de hantavirose no município de Marcelândia no período de 2007 a 2009, sendo que a maioria ocorreu no Assentamento Tupã, o que também leva a crer que a frequência de 13% de presença de anticorpos anti hantavírus, determinada neste trabalho, pode ser infecção autóctone, com manifestações mais brandas e até assintomáticas da doença.

No questionário aplicado todos os participantes afirmaram possuir informações gerais sobre hantavirose, como reservatório natural, formas de contaminação, gravidade da doença e medidas de prevenção. Isto se deve a uma série de ações desencadeadas pela SES/MT em parceria com o ERSCOL e a Secretaria Municipal de Saúde de Marcelândia a partir dos primeiros casos confirmados. Quando questionados se tiveram contato direto com roedores e suas excretas, 59,3% dos participantes afirmaram que sim, enquanto que 40,7% relataram não lembrar ou que não tiveram contato com roedores e ou suas excretas. Os resultados desta análise não mostrou diferença estatística significativa ($p=0,1315$).

Para Campos (2002), o estudo que realizou na Região de Ribeirão Preto/SP sugere que o motivo de não haver diferença estatística na infecção por hantavírus entre as pessoas que tiveram contato com roedores e as que não relataram contato é que ambas estão expostas ao mesmo risco de infecção pelo vírus.

Quanto ao armazenamento de cereais, tanto os de consumo próprio como também os direcionados para tratamento de animais domésticos, e também aqueles oriundos de colheita, 46,3% dos participantes relataram que armazenam cereais exclusivamente nos anexos peridomiciliares; 20,4% armazenam cereais de consumo da família na residência e os demais nos anexos, e 33,3% armazenam somente na residência. A relação entre a forma de armazenamento de cereais praticada pelos participantes do inquérito e a positividade de IgG anti hantavírus não atingiu o nível de significância ($p=0,3570$) na análise estatística. Mas os números sugerem que armazenar cereais na residência pode favorecer a infecção por hantavírus, considerando que 42,8% dos participantes com resultado positivo para IgG anti hantavírus na sorologia tinham este hábito.

Foram descritos sete ambientes diferentes no entorno das residências dos participantes, e “gramínea” foi o predominante. Trata-se da gramínea *Brachiaria brizantha*, utilizada como pastagens na região. E como descrito por Pereira (2006), suas sementes estão incluídas entre os alimentos preferidos por roedores. Detalhe importante é que 42,8% dos participantes com IgG anti hantavírus positivo residia em ambientes com esta característica.

O ambiente denominado de capoeira predominou no entorno de 27,8% das residências, e é constituído de uma vegetação em regeneração natural. Foi detectado um soro positivo com IgG anti hantavírus de um participante residente neste tipo de ambiente e que armazenava cereais exclusivamente na residência.

Cinco residências de participantes tinham no entorno cobertura vegetal conhecida como “mata ciliar”, que tem como característica margear corpos d’água. Dos cinco participantes residentes neste ambiente dois apresentavam IgG contra hantavírus. Ressalta-se que ambos armazenavam cereais exclusivamente no interior de suas residências. Um dos participantes com anticorpos IgG anti hantavírus detectado neste estudo tinha como entorno de sua residência plantas frutíferas permanentes e o mesmo armazenava todos os cereais que utiliza no anexo peridomiciliar. Porém, na análise estatística, da relação de IgG anti hantavírus

positivo com o tipo de ambiente no entorno das residências dos participantes, os resultados não mostraram diferença significativa ($p = 0,6761$).

Constatou-se também que dos sete participantes com IgG anti hantavírus positivo seis relataram a presença de roedores silvestres em suas residências e anexos, bem como de ter tido no Assentamento contato direto com roedores e suas excretas.

Possibilidade de infecção por hantavírus por meio de água contaminada é citada por vários autores (CHILDS, et al., 1995; MILLS, et al., 1997). Neste sentido procurou-se conhecer a forma de abastecimento e o tratamento da água que os moradores do Assentamento Tupã tem acesso, fundamentando-se nesta amostragem. A fonte principal de abastecimento é o poço (água subterrânea). O rio ainda é a fonte de abastecimento de água para o consumo de 16,7% dos participantes. Investigou-se a forma que esta água é consumida e para isso classificou-se em categorias considerando a fonte, o tratamento e filtragem. Na análise estatística da relação de IgG anti hantavírus positivo e a água de consumo de poço e de rio, os resultados não mostraram diferença significantes ($p = 0,6701$).

Doenças pré-existentes foram relatadas em 24% dos participantes, sendo a hipertensão arterial e diabetes os mais representativos; porém, não houve nenhuma relação entre os que relataram doenças pré-existentes com o resultado da sorologia para hantavirose.

A RT-PCR (Reverse Transcriptase Polymerase Chain Reaction), não detectou presença de RNA do hantavírus nos soros dos 7 participantes cujo resultado foi positivo para IgG anti hantavírus. A técnica de RT-PCR pode e deve ser usada como alternativa no diagnóstico da hantavirose (MORELI et al, 2004), porém um inconveniente é que as amostras de humanos devem ser coletadas em fase inicial da doença, de preferência até o décimo dia de sintomatologia período em que a viremia é alta. Nesta amostragem os resultados da RT-PCR, demonstraram que no ato da coleta, nenhum dos participantes apresentou infecção recente ou em fase aguda por hantavírus.

Porém, com os resultados desta pesquisa, perspectivas para novos estudos sobre hantavírus e hantavirose ficaram evidentes, como a realização de ampla pesquisa de anticorpos anti hantavírus no soro de habitantes do estado de Mato Grosso, para a determinação da soroprevalência de hantavirus na população. Bem como a realização de um projeto de pesquisa, em parceria com Centros de pesquisas

e Universidades, compreendendo a captura de pequenos mamíferos e verificação da ocorrência de infecções crônicas por hantavírus nestes animais, e a determinação genômica dos possíveis subtipos de hantavirus circulantes no extremo norte de Mato Grosso.

6. CONCLUSÕES

- O levantamento da situação da hantavirose na área de abrangência do ERSCOL, no período de 2007 a 2009, mostrou a ocorrência do agravo em 37 pessoas, atendidas nas unidades de saúde dessa área.
- A predominância dos casos de hantavirose ocorreu em pessoas com idade produtiva no meio rural com média de 34,2 anos.
- Não há sazonalidade definida para a hantavirose na região estudada.
- Vários sinais e sintomas (febre, cefaléia, dispnéia, mialgias, náuseas/vômitos, hipotensão e tosse seca, assim como trombocitopenia, distúrbio de coagulação, hemoconcentração, neutrofilia, leucocitose e desvio a esquerda) são importante indicação para a suspeita de hantavirose.
- Há intensa circulação de hantavírus na região do Assentamento Tupã do município de Marcelândia/MT. A população do Assentamento está exposta ao risco de se infectar com hantavírus.
- Formas brandas da hantavirose podem estar acontecendo na região de Marcelândia sem que sejam diagnosticadas e notificadas.
- Há urgente necessidade de se intensificar as ações de vigilância que visem educar os cidadãos para a prevenção deste agravo.

REFERÊNCIAS

- ANTONIADIS, A.; LeDUC, J.W.; DANIEL-ALEXIOU, S. Clinical and epidemiological aspects of hemorrhagic fever with renal syndrome (HFRS) in Greece. **Eur. J. Epidemiol.**, Roma, v.3,n.3, p.295-301, 1987.
- AVSIC-ZUPANC, T.S.Y; XIAO, R; STOJANOVIC,A; GLICIC, G; GROEN, V.D; LEDUC, J.W. Characterization of Dobrava Vírus: a hantavirus from Slovenia, Yugoslávia. **Journal of General Virology**. 76:2801-2808, 1992.
- BADRA, S.J. **Estudo sorológico retrospectivo sobre a hantavirose no município de Cássia dos Coqueiros, SP**. 2010, 47f. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo. Ribeirão Preto, 2010.
- BENJAMINI, E; COICO, R; SUNSHIME, G. **IMUNOLOGIA**. Guanabara Koogan, Rio de Janeiro. 2002.
- BOSTIK, P, WINTER, J; KSIZE, T.G, ROLLIN, P.E, WILLINGER, F; ZAKI, S.R; PETERS, C.J; ANSARI, A.A. Sin Nombre Virus (SNV) Ig Isotype antibody response during acute and convalescent phases of Hantavirus Pulmonary Syndrome. **Emerging Infectious Diseases**, 6: 184 -187, 2000.
- CALDAS, E.P. **Infecções por Hantavirus no Rio Grande do Sul**. 2002. 63f. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias) – UFRGS, Porto Alegre, 2003.
- CAMPOS, G.M. **Estudo clínico-epidemiológico sobre a hantavirose na região de Ribeirão Preto, SP**. 2002. 71f. Dissertação (Mestrado em Clínica Médica) – Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo. Ribeirão Preto, 2002.
- CAMPOS, G.M; BORGES, A. A; BADRA, S.J; FIGUEIREDO, G. G; SOUZA, R.L.M; MORELI; M.L. Síndrome pulmonar e cardiovascular por hantavírus: aspectos clínicos de uma doença emergente no sudeste brasileiro. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.**, Uberaba, v. 42, n. 3, 2009.
- CHILDS, J.E.; KREBS, J.W.; KSIAZEK, T.G.; MAUPEN, G.O.; GAGE, K.L.; ROLLIN, P.E.; et al. A house hold-based, case-control study of environmental factors associated with hantavirus pulmonary syndrome in the south-western United States. **Am J Trop Med**. 52:393-397, 1995.
- CENTER FOR DISEASE CONTROL ANDE PREVENTION. **Outbreak of acult illness – south western United States, 1993**. MMWR vol 42:421-424, 1993.
- CLEMENT, J.P. **Hantavirus. Antiviral Research**. 57: 121-127, 2003.
- DEARING, M.D; DIZNEY, L. **Ecology of hantavirus in a changing world**. Ann.N.Y.Acad.Sci.1195: 99–112, 2010.

DZAGUROVA, T.K; BORIS, K; TKACHENKO, E.A; SLYUSAREVA, G.P; MOZOROV, V.G; BRITA, A; KRUGE, D.H. **Molecular diagnostics of hemorrhagic fever with renal syndrome during a Dobrava virus outbreak in the European part of Rússia.** American Society for Microbiology. 47: 4029-4036, 2009.

ELKHOURY, M.R. **Estudo da Síndrome Cardiopulmonar por Hantavírus: epidemiologia e fatores prognósticos para óbitos notificados no Brasil.** 2007. 61f. Dissertação (mestrado em Saúde Coletiva) - Instituto de Saúde Coletiva da Universidade Federal da Bahia. Brasília-DF, 2007.

ELLIOTT, L. H.; KSIAZEK, T. G.; ROLLIN, P. E.; SPIROPOULOU, C. F.; MORZUNOV, S.; MONROE, M.; GOLDSMITH, C. S.; HUMPHREY, C. D.; ZAKI, S. R.; KREBS, J. W.; MAUPIN, G.; GAGE, K.; CHILDS, J.E. ; NICHOL, S. T.; PETERS, C. J. Isolation of the causative agent of Hantavirus Pulmonary Syndrome. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 51, N. 1, p. 102-108, 1994.

FAUQUET, C. M.; MAYO, M. A.; MANILOFF, J.; DESSELBERGER, U.; BALL, L. A. 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.

FERREIRA, M. S. Hantavíroses. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 36, n. 1, p. 81-96, 2003.

FERRÉS, M.; VIAL, P.; MARCO, C.; YANEZ, L.; GODOY, P.; CASTILLO, C.; HJELLE, B.; DELGADO, I.; LEE, S. J.; MERTZ, G. J. Andes Virus Household Contacts Study Group. Prospective evaluation of household contacts of persons with hantavirus cardiopulmonary syndrome in Chile. **Journal of Infectious Diseases**, v.195, n. 11, p. 1563-1571, 2007.

FERRÉS, M.; CASTILLO, C.; DELGADO, I.; SOTOMAYOR, V.; OLEA, A.; VIAL, P. Hantavírose: caracterización clínica-epidemiológica de pacientes pediátricos en Chile. **Rev. Chil Infect.**, Santiago, vol.27, n.1, p 52-59, 2010.

FIGUEIREDO, G.G. et al . Diagnosis of hantavirus infection in humans and rodents in Ribeirão Preto, State of São Paulo, Brazil. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.**, Uberaba, v. 43, n.4, 2010.

FIGUEIREDO, L. T. M.; MORELLI, M. L.; ALMEIDA, V. S.; FELIX, P. R.; BRUNO, J. C.; FERREIRA, I. B.; MANCANO, F. D. Hantavirus Pulmonary Syndrome (hps) in Guariba, SP, Brazil: Report of 2 cases. **Rev. Inst. Med. trop. S. Paulo**, São Paulo, v. 41, n. 2, 1999.

FIGUEIREDO, L. T. M.; CAMPOS, G. M.; RODRIGUES, F. B. Síndrome pulmonar e cardiovascular por Hantavirus: aspectos epidemiológicos, clínicos, do diagnóstico laboratorial e do tratamento. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.**, Uberaba, v. 34, n. 1, 2001.

FIGUEIREDO, L.T.M; FORSTER, A.C; FULHORST, C; RODRIGUES, E.M.S; KOSTER, F; CAMPOS, G.M. Contribuição ao diagnóstico, ao tratamento, à

epidemiologia e ao controle da síndrome pulmonar e cardiovascular por hantavírus. **Informe Epidemiol SUS**, v 9: p 167-178. 2000,

FIGUEIREDO, L. T. M.; MORELI, M. L.; BORGES, A. A.; FIGUEIREDO, G. G.; BADRA, S. J.; BISORDI, I.; SUZUKI, A.; CAPRIA, S.; PADULA, P. Evaluation of a solid-phase enzyme immunoassay based on Araraquara Hantavirus recombinant nucleoprotein. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 81, p. 273-276, 2009.

FIGUEIREDO, L.T.M; MORELI, M.L.; CAMPOS, G.M.; SOUSA, R.L. Hantaviruses in São Paulo State, Brazil. **Emerg Infect Dis**, v. 9, p. 891-892, 2003.

FRENCH, G.; FOULKE, R.; BRAND, O.; EDDY, G. Korean hemorrhagic fever: propagation of the etiologic agent in a cell line of human origin. **Science**, Washington, v.211, p. 1046-1048, 1981.

GAJDUSEK, D. Viral haemorrhagic fever. **J. Pediatr.**, St Louis, v.60, p.841-857, 1962.

GALENO, H; MORA, J; VILLAGRA, E; FERNANDEZ, J; HERNANDEZ, J; MERTZ, G; RAMIREZ, J. First human isolate of Hantavirus (Andes vírus) in the Américas. **Emerging Infectious Diseases**, v 8, p. 657-661, 2002.

GONZALEZ-SCARANO, F., NATHANSON, N. Bunyaviridae. In: **Virology**. FIELDS, B. N.; KNIPE, D. M.; HONLEYL, P. M. (eds.). Philadelphia, Lippincott-Raven Publishers, p. 1473-1504, 1996.

GAVRILOVSKAYA, I.N; PERESLENI, T; GEIMONEN, E; MACKOW, E.R. Pathogenic hantaviruses selectively inhibit $\beta 3$ integrin directed endothelial cell migration. **Arch Virol** 147:1913-1931, 2002.

IVERSSON, L. B.; TRAVASSOS DA ROSA, A. P. A.; ROSA, M. D. B.; LOMAR, A. V.; SASAKI, M. G. M.; LEDUC, J. W. Infecção humana por hantavírus nas regiões Sul e Sudeste do Brasil. **Revista da Associação Médica Brasileira**, v. 40, n. 2, p. 85-92, 1994.

IVERSSON, L. B - Doença Humana por Hantavirus: In: VERONESI, R. & Focaccia, R., Eds. **Tratado de infectologia**, Atheneu, São Paulo, p. 219-228, 1996.

IVERSSON, L. B. Febre hemorrágica com síndrome renal: Uma ameaça para as Américas?. **Rev. Saúde Pública**. v.17 n.4, p 332-335, São Paulo, 1983.

JEOR, S.C. Three-week incubation period for hantavirus infection. **Pediatr Infect Dis J**, 23: 974-975, 2004.

KLEMPA B, CALVET FICHET-E, E LECOMPTE, B AUSTE, ANISKIN V, H MEISEL, ET AL. **Hantavirus in African Wood Mouse, Guinea**. **Emerg Infect Dis.**, v. 12 n. 5, p 838-840, 2006.

KONEMAN,E;WINN,W,J; ALLEN,S; PROCOP,G; WOODS,G. **Diagnóstico Microbiológico:Texto e Atlas Colorido**. Rio de Janeiro: 6ª ed. Guanabara, Koogan, 2008.

KOSTER, F; FOUCAR, K; HJELLE, B; SCOTT, A; CHONG, Y. Y; LARSON, R. Rapid presumptive diagnosis of hantavirus cardiopulmonary syndrome by peripheral blood smear review. **Am J Clin Pathol**, v 116 : 665-72, 2001.

KSIAZEK, T.G; PETERS, C.J; ROLLIN, P.E; ZAKI, P.E; NICHOL, S.T; SPIROPOULOU, C.F; MORZUNOV, S; FELDMANN, H; SANCHEZ, A; KHAN, A.S; MAHY, B.W.J; WACHSMUTH, K; BUTLER, J.C. Identification of a new north american hantavirus that causes acute pulmonary insufficiency. **Am J Trop Med Hyg**, 52:117-23, 1995.

LARRIERE, E. et al . Seroprevalencia de hantavirus en roedores y casos humanos en el sur de la Argentina. **Rev. bras. epidemiol.** São Paulo, v. 6, n. 1, p 68-75, 2003.

LAVOCAT. M.N.; ELKHOURY, A.N.S.M.; BRANT, J.L. et al. **Síndrome Cardiopulmonar por Hantavírus: Descrição dos Casos no Brasil em 2007**. Disponível na internet via http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/casos_obitos_hantaan_uf_ano_2010.pdf . Acesso em 04 de dezembro de 2010.

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

LEE, H. W. Global update on distribution of haemorrhagic fever with renal syndrome and hantaviruses. **Virus Information Exchange News**, v. 5, p. 82-84, 1988.

LEE, H.; LEE, P.; JOHNSON, K. **Isolation of the etiologic agent of Korean hemorrhagic fever**. J. Infect. Dis., Chicago, v.137, n.3, p.298-308, 1978.

LEDUC, J. W. Hantaan and related virus. In: **International Symposium on Tropical Arboviruses and Haemorrhagic Fevers**. Belem, Pará, 1991.

LIMONGI, Jean Ezequiel et al . Síndrome cardiopulmonar por hantavírus no Triângulo Mineiro e Alto Paranaíba, Minas Gerais, 1998-2005: aspectos clínico-epidemiológicos de 23 casos. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.**, Uberaba, v. 40, n. 3, p 295-299, 2007.

LOPEZ, N; PADULA, P; ROSSI, C; LÁZARO, M.E; FRANZE-FERNANDES, M.T. Geneti identification of a New Hantavirus causing Severe Pulmonary Syndrome in Argentina. **Virology**, v. 220: p 223-226, 1996.

LUNA, E. J. A. **A emergência das doenças emergentes e as doenças infecciosas emergentes e reemergentes no Brasil**. Rev. bras. epidemiol., São Paulo, v. 5, n. 3, p 229-243, 2002.

MENDES, W.S.; DA SILVA, A.A.M.; NEIVA, R.F.; COSTA, N.M.; DE ASSIS, M.S.; VIDIGAL, P.M.O. et al. Serologic survey of hantavirus infection, Brazilian Amazon. **Emerg Infect Dis.**, v. 16, n. 5, p 889-891, 2010.

MILAZZO, M. L.; CAJIMAT, M. N. B.; HANSON, J. D.; BRADLEY, R. D.; QUINTANA, M.; SHERMAN, C.; VELÁSQUEZ, R. T.; FULHORST, C. F. Catacamas Virus, a hantaviral species naturally associated with *oryzomys couesi* (coues' oryzomys) in Honduras. **American Journal Tropical Medicine and Hygiene**, v. 75, n. 5, p. 1003-1010, 2006.

MILLS, J.N.; KSIASEK, T.G.; ELLIS, B.A.; ROLLIN, P.E.; NICHOL, S.T.; YATES, T.L.; et al. Patterns of association with wild hosts 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.**, 56: 273-84, 1997.

MINISTÉRIO DA SAÚDE.
http://bvsm.saude.gov.br/bvs/periodicos/boletins_pesquisas_workshop.pdf. Acesso em 23 de agosto de 2010.

MINISTÉRIO DA SAÚDE.
http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/casos_obitos_hantaan_uf_ano_2010.pdf. Acesso em 08 de dezembro de 2010.

MORALES, A. E. T.; **Soro-epidemiologia da hantavirose em homens de Salvador – Bahia**. 2000, 146f. Tese (Doutorado) - Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas. Campinas, 2000.

MORELI, M. L.; SOUSA, R. L. M.; FIGUEIREDO, L. T. M. Detection of Brazilian hantavirus by reverse transcription polymerase chain reaction amplification of N gene in patients with hantavirus cardiopulmonary syndrome. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 99, n. 6, p 633-638, 2004.

MORI, M; ROTHMAN, A.L; KURANE, I; MONTROYA, J.M; NOLTE, K.B; NORMAN, J.E; WAITE, D.C; KOSTER, F.T; ENNIS, F.A. High levels of cytokine-producing cells in the lung tissues of patients with fatal hantavirus pulmonary syndrome. **J Infect Dis.**, 179: 295-302, 1999.

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

NICHOL, S. T.; SPIROPOULOU, C. E.; MORZUNOV, S.; ROLLIN, P. E.; KSIASEK, T. G.; FELDMANN, H.; SANCHEZ, A.; CHILDS, J.; ZAKI, S.; PETERS, C. J. Genetic identification of a hantavirus associated with an outbreak of acute respiratory illness. **Science**, v. 262, p. 914-917, 1993.

NOWAK, RM. **Walker's Mammals of the World**. 5th ed. Baltimore: Johns Hopkins Univ. Press; 1991.

NIKLAASSON, B; HORNFELDT, B; LUNDKVIST, A; BJOURSTEN, S; LEDUC, J.W. Temporal dynamics of Puumala vírus antibody prevalence in voles and nephropathia epidemica incidence in humans. **Am.J. Trop. Med.Hig.**, 53: 134-140, 1995.

ORGANIZAÇÃO PANAMERICANA DA SAÚDE (OPS). Hantavírus em las Américas: Guia para el diagnostico, el tratamiento, la prevencion y el control. **Cuaderno Técnico**. Woshington: OPS, n. 47. 66p., 1999.

PADULA, P; ROSSI, C.M; DELLA, V.M.O; MARTINEZ, P.V; COLAVECCHIA, S.B, EDELSTEIN, A; MIGUEL, S.D.L; RABINOVICH, R.D; SEGURA E.L. Development and evaluation of a solid-phase enzyme immunoassay based on Andes hantavirus recombinant nucleoprotein. **J. Medical Microbiol.**, Edinburgh, v.49, p.149-255, 2000.

PATZ, J. A.; EPSTEIN, P. R.; BURKE, T. A.; BALBUS, J. M. **Global climate change and emerging infectious diseases**. JAMA, 275:223:217, 1996.

PEREIRA, L.E.; SOUZA, L.T.M.; SOUZA, R.P.; BISORDI, I.; SUZUKI, A.; KATZ, G. Histórico da Vigilância Eco-epidemiológica do Hantavírus no Brasil. **Revista da CIP**, v 2, n 3, p 5-12,1999.

PEREIRA, L. E. **Estudo ecoepidemiológico de hantavírus em roedores das regiões da Mata Atlântica e Cerrado do Brasil**. 2006, 207f. Tese (Doutorado em Ciências) - Universidade de São Paulo. São Paulo, 2006.

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

PETERS, C. J.; KHAN, A. S. **Hantavirus pulmonary síndrome: the new American Hemorrhagic fever**. **Clinical Infectious Diseases**, v. 34, p. 1224-1231, 2002.

PINCELLI, M.P.; BARBAS, C.S.V.; CARVALHO, C.R.R.; SOUZA, L.T.M.; FIGUEIREDO, L.T.M. Síndrome pulmonar e cardiovascular por Hantavirus. **Jornal de Pneumologia**. V.29. n.5. p. 309-324, 2003.

PLYUSNIN, A. Genetics of hantaviruses: implications to taxonomy. **Arch. Virol.**, Viena, v.147, p.665-682, 2002.

RABONI, S.M. **Caracterização Molecular de Hantavirus: Estudos Filogenéticos e Geração de Insumos para o Diagnóstico de Hantavirose**. 2006, 87f. Tese (Doutorado em Biologia celular e molecular) - Universidade Federal do Paraná. Curitiba, 2006.

RAMOS, C. Los hantavirus causantes de la fiebre hemorrágica con síndrome renal y del síndrome pulmonar. **Salud. Publica de Mex.**, v. 50, n. 4, p 334-340, 2008.

RAMSDEN, C.; MELO, F. L.; FIGUEIREDO, L. T. M.; HOLMES, E. D.; ZANOTTO, P. M. A.;AND VGDN CONSORTIUM. **High Rates of Molecular Evolution in Hantaviruses**. Mol. Biol. Evol., v. 25, n.7, p 1488-1492, 2008.

ROSA, E.S.T. **Associação vírus-hospedeiro e epidemiologia molecular de hantavírus em distintos ecossistemas amazônicos: Maranhão e Pará – Mato Grosso**. 2008, 152f. Tese (Doutorado em Biologia Parasitária) - Instituto Oswaldo Cruz. Rio de Janeiro, 2008.

ROSA, E.S; MILLS, J.N; PADULA, P.J; ELKHOURY, M.R; KSIAZEK, T.G; MENDES, W.S; SANTOS, E.D; ARAUJO, G.C; MARTINEZ, V.P; ROSA, J.F; EDELSTEIN, A, VASCONCELOS, P.F. Newly recognized hantaviruses associated with hantavirus pulmonary syndrome in northern Brazil: partial genetic characterization of viruses and serologic implication of likely reservoirs. **Vector Borne Zoonotic Dis.** v. 5, n. 1, p 11-19, 2005.

SANTOS, I. O. **Casos de hantavirose atendidos no período de 2007 a 2009 na área de abrangência do Escritório Regional de Saúde de Colíder-MT.** 2009, 64 f. (Especialização em Análises Clínicas) – Universidade de Cuiabá, Campus Aeroporto. Sinop, MT, 2009.

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.) **Fields Virology**. 5 th. Ed. Philadelphia Lippincott, Williams & Wikins, v. 81, n. 24, p. 1741-1789, 2007.

SCHMIDT, J; MEISEL, H; HJELLE, B; KRUGER, D.H; ULRICH, R. Desenvolvimento e avaliação de testes sorológicos para detecção de infecções humanas causadas por hantavirus Sin Nombre vírus. **J. virol.**, 33:247-253, 2005.

SCHMIDT, R.A.C. A questão ambiental na promoção da saúde: Uma oportunidade de ação multiprofissional sobre doenças emergentes. **PHYSIS: Rev. Saúde Coletiva**, Rio de Janeiro, v. 17, n.2, p 373-392, 2007.

SIEGEL, S. E; CASTELLAN JR, N.J. **Estatística não paramétrica para ciências do comportamento.** Segunda edição – Artmed – Porto Alegre – 448p. 2006.

SIMMONS, J.H.; RILEY, L.K. Hantaviruses: an overview. **Comparative Medicine**, v. 52, n. 2, p 97-110, 2002.

SIMPSON, S. Q. Hantavirus pulmonary syndrome. **Heart & Lung**, v. 27, p. 51-57, 1998.

SOUSA, R. L. M.; MORELI, M. L.; BORGES, A. A.; CAMPOS, G. M.; LIVONESI, M. C.; FIGUEIREDO, L. T. M.; PINTO, A. A. **Natural host relationship and genetic diversity of rodent associated hantaviruses in Southeastern Brazil.** Intervirology 51:299-310, 2008.

SUZUKI, A; BISORDI, I; LEVIS, S; GARCIA, J; PEREIRA, L.E; SOUZA, R.P; SUGAHARA, T.K.N; PINI, N; ENRIA, D; SOUZA, L.T.M. Araraquara and Juquitiba hantavirus in southern and southeastern Brazil: genetic identification of their rodent reservoirs. **Emerg Infect Dis**; v. 10, n.12, p 2127-2134, 2004.

UJVARI, S. C. **A história e suas epidemias. A convivência do homem com os microrganismos.** Rio de Janeiro, Senac Rio; São Paulo, Senac São Paulo, v. 45, n. 4, 311p, 2003.

VASCONCELOS, M. I.; LIMA, V. P.; IVERSSON, L. B.; ROSA, M. D. B.; TRAVASSOS DA ROSA, A. P. A.; TRAVASSOS DA ROSA, E. S.; PEREIRA, L. E.; NASSAR, E.; KATZ, G.; MATIDA, L. H.; ZAPAROLI, M. A.; FERREIRA, J. J. B.; PETERS, C. J. **Hantavirus pulmonary syndrome the rural área of Juquitiba, São Paulo metropolitan área, Brazil.** Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo, v. 39, p. 237-238, 1997.

YATES, T.L.; MILLS, J.N.; PARMENTER, C.A. The ecology and evolutionary history of an emergent disease: hantavirus pulmonary syndrome. **Bioscience**, 52:989-998, 2002.

YOUNG, J.C; HANSEN, G.R; GRAVES, T.K; DEASY, M.P; HUMPHREYS, J.G; FRITZ, C.L. The incubation period of hantavirus pulmonary syndrome. **Am J Trop Med Hyg**, 62:714-7, 2000.

ZAKI, S.R.; GREER, P.W.; COFFIELD, L.M.; GOLDSMITH, C.S; NOLTE, K.B.; FOUCAR, K.; FEDDERSEN, R.M.; ZUMWALT, R.E.; MILLER, G.L.; KHAN, A.S. Hantavirus pulmonary syndrome: pathogenesis of an emerging infectious disease. **Am. J. Pathol.**, New York, v.146, n.3, p.552-579, 1995.

ZÖLLER, L; YANG, S; GOTT, P; BAUTZ, E.K.F; DARAI, G. A novel μ -capture enzyme-linked immunosorbent assay based on recombinant proteins for sensitive and specific diagnosis of hemorrhagic fever with renal syndrome. **J. Clin. Microbiol.**, Washington, v.31, n.5, p.1194 -1199, 1993.

PESQUISA HANTAVIROSE -- DADOS CLÍNICO-LABORATORIAIS

Pesquisador: Ioni Oliveira Santos - Análises. Clínicas/UNISA

Paciente: _____ Sexo: _____ Idade: _____ Pront. nº: _____

Local de Residência: _____ () Rural () Urbana

Data da internação: ____/____/____ Data da Alta: ____/____/____ Data do Óbito: ____/____/____

Dados laboratoriais e radiográficos observados nos pacientes com síndrome cardiopulmonar por hantavírus na Regional de Saúde de Colíder-MT – 2007 a 2009		
Exames Realizados		
Hemograma	Valor de Referência	Resultado do Exame
Hematócrito (%)		
Leucócitos (cels/mm ³)		
Bastonetes (%)		
Plaquetas (cels/mm ³)		
linfócitos atípicos (%)		
Função renal	Valor de Referência (mg/dl)	Resultado do Exame (mg/dl)
Ureia		
Creatinina		
Albumina Sérica	Valor de Referência (g/dl)	Resultado do Exame (g/dl)
Enzimas hepáticas	Valor de Referência (UI)	Resultado do Exame (UI)
AST		
ALT		
DHL		
GGT		
Gasometria	Valor de Referência (Sat. O²)	Resultado do Exame (Sat. O²)
Rx de Torác		
infiltrado intersticial bilateral		
infiltrado reticulonodular		
Sem alteração		

PESQUISA HANTAVIROSE – SINAIS E SINTOMAS

Pesquisador: Ioni Oliveira Santos - Análises Clínicas/UNISA

Paciente: _____ Sexo: _____ Idade: _____ Pront. nº: _____

Local de Residência: _____ () Rural () Urbana

Data da internação: ____/____/____ Data da Alta: ____/____/____ Data do Óbito: ____/____/____

Dados Ocupacionais: _____

Contato com Roedores: () ocupacional () lazer () peridoméstico

Sinais e sintomas observados nos pacientes com síndrome cardiopulmonar por hantavírus na Regional de Saúde de Colíder-MT – 2007 a 2009	
SINAIS/SINTOMAS	
Febre	
Dispnéia	
Mialgias	
Tosse	
Hipotensão	
Cefaléia	
Taquicardia	
Náuseas/vômitos	
Dor torácica	
Dor abdominal	
Calafrios	
Sudorese	
Oligúria	
Diarréia	
Hemorragia	
OUTROS	

**EPIDEMIOLOGIA DA HANTAVIROSE NA ÁREA DE ABRANGÊNCIA DO
ESCRITÓRIO REGIONAL DE SAÚDE DE COLÍDER, NO PERÍODO DE 2007 A
2009.**

TERMO DE INFORMAÇÃO E CONSENTIMENTO

Eu, **Ioni Oliveira Santos**, mestrando do Curso de Análises Clínicas da Universidade de Santo Amaro/SP, e com a colaboração da Secretaria de Estado de Saúde de Mato Grosso/SES/MT, Escritório Regional de Saúde de Colíder/MT além da Secretaria Municipal de Saúde de Marcelândia/MT, estou realizando uma pesquisa no assentamento Tupã do município de Marcelândia, para saber qual a prevalência da doença hantavirose nesta região. Esta doença, que é causada por vírus conhecidos como hantavirus e que são transmitidos por ratos silvestres, vem fazendo vítimas neste assentamento, inclusive com óbitos.

O único jeito de saber qual a representatividade desta doença em nossa população é a realização de um exame de sangue. Por isso estou passando nesta localidade para a realização de coleta de sangue em pessoas de 15 a 70 anos de idade, para ver se a infecção por hantavirus está por aqui. A coleta será de 10 ml de sangue, que serão divididos em dois tubos de 5 ml cada. Para coletar o sangue, preciso punccionar com agulha descartável esterilizada, a veia braquial na altura da articulação do antebraço. Este procedimento causa um pouquinho de dor no local da punção mas passa rápido e não oferece nenhum risco para sua saúde.

A participação será muito importante para minha pesquisa que elucidará às autoridades de Saúde Pública qual a importância da Hantavirose em nossa Região e quais ações se faz necessário tomar diante de sua prevalência. Porém a participação não é obrigatória.

Eu _____, participante ou responsável pelo
(a) menor depois de ouvir e entender as explicações, estou de acordo em participar da pesquisa e autorizo a coleta de sangue para realização de exames para a Doença Hantavirose.

Data: ____/____/____

Nome do Participante

Nome do Pai ou Responsável

REQUERIMENTO SOLICITANDO AUTORIZAÇÃO PARA COLETA DE DADOS NO HRCOL

De: Ioni Oliveira Santos – Mestrando em Análises Clínicas/UNISA-SP

Para: Jucineide de Oliveira – Diretora Geral do Hospital Regional de Colíder

Prezada Senhora Diretora Geral do HRCOL,

Eu, Ioni Oliveira Santos, RG 929.915 SSP-MT, CPF 604.419.681-04, PNS/SUS/SES/MT, matrícula funcional 408230100, licenciado para qualificação profissional, conforme Ato Administrativo nº 928/2009/SAD; Venho muito respeitosamente, solicitar de Vossa Senhoria na qualidade de Diretora Geral do Estabelecimento de Saúde supracitado, AUTORIZAÇÃO por escrito, para que eu possa realizar coleta de dados em prontuários de pacientes acometidos por Hantavirose, e que foram atendidos no Hospital Regional de Saúde de Colíder no período de 2007 a 2009.

Na oportunidade, informo que os dados serão confidenciais, e utilizados para fins científicos na elaboração de minha dissertação de mestrado que abordará sobre o tema: “EPIDEMIOLOGIA DA HANTAVIROSE NA ÁREA DE ABRANGÊNCIA DO ESCRITÓRIO REGIONAL DE SAÚDE DE COLÍDER, NO PERÍODO DE 2007 A 2009”.

Certo de poder contar com vosso pronto atendimento, aguardo deferimento.

São Paulo/SP, 06 de outubro de 2009.

Ioni Oliveira Santos

Mestrando/UNISA/SP



Governo do Estado de Mato Grosso

Secretaria de Estado de Saúde

HOSPITAL REGIONAL DE COLÍDER

MISSÃO DA SES:

“ Garantir o direito à saúde enquanto direito fundamental do ser humano, e promover as condições indispensáveis ao seu pleno exercício, através de ações individuais e coletivas de promoção, prevenção e recuperação da saúde no âmbito do Estado de MT”

AUTORIZAÇÃO PARA COLETA DE DADOS

NO HOSPITAL REGIONAL DE COLIDER

A **SECRETARIA DE ESTADO DE SAÚDE DE MATO GROSSO**, por intermédio do **HOSPITAL REGIONAL DE SAÚDE DE COLIDER**, CNPJ nº 04.441.389/0007-57, com sede na Rua Machado de Assis, s/nº Bairro Nossa Senhora da Guia, no Município de Colíder/MT, doravante denominada **HRCOL**, neste ato representado pela sua Diretora **JUCINEIDE OLIVEIRA SILVA**, brasileira, solteira, servidora pública estadual, portadora da cédula de identidade nº 0070370-2 SSP/MT e do CPF nº 174.788.711-00, residente e domiciliada à Rua Ipiranga, nº 845, Bairro Nossa Senhora da Guia, nesta cidade e município de Colíder, Estado de Mato Grosso, **autoriza** o Servidor Ioni Oliveira Santos, RG 929.915 SSP/MT, CPF: 604.419.681-04, PNS do SUS/SES/MT, matrícula funcional 408230100, licenciado para qualificação profissional, conforme Ato Administrativo nº 928/2009/SAD, a realizar coleta de dados em prontuários de pacientes acometidos por Hantavirose, e que foram atendidos no Hospital Regional de Colider no período de 2007 a 2009, para fim de pesquisa e elaboração da dissertação do mestrado que está fazendo cujo tema é: “Epidemiologia da Hantavirose na área de Abrangência do Escritório Regional de Saúde de Colíder, no Período de 2007 a 2009.”


Jucineide Oliveira Silva
Diretora Geral/HRCOL/SES
Jucineide Oliveira Silva
DIRETORA GERAL
HRCOL/SES

Rua Machado de Assis, s/nº - Bairro Nossa Senhora da Guia

Colíder/MT – CEP:78.500-000 - Fone: 0xx66.3541-6800; fax 3541-6803

Site: hrcol.com.Br / e-mail: hrcol@ses.mt.gov.br

Anexo 6

MINISTERIO DA SAUDE
Conselho Nacional de Saúde
Comissão Nacional de Ética em Pesquisa - CONEP



UNIVERSIDADE DE SANTO AMARO
Comitê de Ética em Pesquisas
Registro CONEP n.º 306
Aprovado em 16/05/2000

PARECER N.º 144/2009

REGISTRO CEP UNISA N.º 144/09

Projeto de Pesquisa: "Epidemiologia da Hantavirose na área de abrangência do Escritório Regional de Saúde de Colider - MT, no período de 2007 a 2009".

Pesquisadores Responsáveis: Orientador: Celidéia C. Vaz; pós-graduando: Ioni Oliveira Santos

Curso: Pós-graduação em Biomedicina

Prezado Pesquisador:

Ao se proceder à análise do processo em questão, cabe a seguinte consideração:

As informações apresentadas atendem aos aspectos fundamentais das Resoluções CNS 196/96, 251/97 e 292/99, sobre Diretrizes e Normas Regulamentadoras de Pesquisas Envolvendo Seres Humanos.

Diante do exposto, o Comitê de Ética em Pesquisa (**CEP-UNISA**), de acordo com as atribuições da Resolução 196/96, manifesta-se pela **APROVAÇÃO** do projeto "Epidemiologia da Hantavirose na área de abrangência do Escritório Regional de Saúde de Colider - MT, no período de 2007 a 2009".

São Paulo, 20 de maio de 2010.

Prof. Dr. Celso Ferreira Filho
Presidente do Comitê de Ética em Pesquisa
UNISA - Universidade de Santo Amaro

DATA: ____/____/____

[illegible]

*Resultado: **R** = reagente, **NR** = Não Reagente, **IN** = Inconclusivo

QUESTIONÁRIO DE COLETAS DE DADOS

1 - DADOS INDIVIDUAIS

NOME: _____ Naturalidade: _____

Sexo: _____ Idade: _____ Estado Civil: _____ Data da coleta: ____/____/____

Local de Residência: _____ Município: _____ UF: _____ Tempo: _____

Atividades Ocupacionais: _____

Local Anterior de residência: _____ Município: _____ UF: _____ Tempo: _____

Atividades Ocupacionais: _____

Escolaridade: () analfabeto () E. Fund. Incompleto () E. Fund. Completo () E. Médio Incompleto ()
E. Médio Completo () E. Superior Incompleto () E. Superior Completo

2 - ANTECEDENTES ECOEPIDEMIOLÓGICOS

Tem informações sobre hantavirose: _____

Contato direto com Roedores: () ocupacional () lazer () peridoméstico () outros

Observa a presença de roedores: () residência e nos anexos () residência () anexos

Morfologia dos roedores: _____

Armazena cereais: () residência e nos anexos () residência () anexos

Tipo de Moradia: () Alvenaria () madeira () Outros

Anexos peridomiciliar: () galpão () Pocilgas () galinheiros () Curral () outros

Ambiente do entorno: () Lavoura de _____ () pastagens de _____

() floresta Tipo _____ () capoeira

Abastecimento de Água: () tratada e filtrada () filtrada () tratada () natural

Fonte: () Poço comum () poço semi-artesiano () Rio () lagoa

Nos últimos 60 dias apresentou algum sintoma como:

() Febre () cefaléia () Mialgia generalizada () Dispnéia () Tosse Seca

() Dor torácica () astenia () Dor abdominal () Diarréia () Insuficiência Respiratória

() Hipotensão () Insuficiência Cardíaca () Náuseas/Vômitos () Insuficiência Renal

É portador (a) de alguma patologia em curso? _____ **Qual?** _____**Foi hospitalizado nos últimos 60 dias?** _____**Realizou algum exame laboratorial nos últimos 60 dias?** _____**Faz uso de algum medicamento?** _____ **Qual?** _____

Anexo 9

O Local da Pesquisa

O estudo aconteceu no extremo norte de Mato Grosso, na área de abrangência do ERSCOL que compreende os municípios de Colíder, Nova Canaã do Norte, Nova Santa Helena, Itaúba, Nova Guarita e Marcelândia. Geograficamente, a área delimitada neste estudo faz parte do bioma amazônico e é influenciada diretamente pela BR-163, conhecida também como Cuiabá/Santarém, que interliga, assim, Mato Grosso ao porto de Santarém no estado do Pará.

A região foi colonizada na década de 1970 com influência direta do governo militar, com o Plano de Integração Nacional (PIN), que na época tinha como lema “integrar para não entregar”, e que incentivou a implantação de grandes projetos agropecuários, concedendo enormes áreas de terras para empresários das regiões Sul e Sudeste, outorgando-lhes o dever de colonizar a região. Desde então se desencadeou um fluxo migratório em direção à Amazônia, de pessoas do sul e sudeste do Brasil, principalmente dos estados do Paraná e Rio Grande do Sul.

Movidos pela tensão agrária no sul e sudeste brasileiro pela mecanização da agricultura, grandes contingentes de famílias inteiras foram iludidos pelo sonho do “novo eldorado”, pregado intensivamente e enganosamente pelos colonizadores, que utilizavam os diversos meios disponíveis na época como jornais, faixas em ônibus, panfletos e propagandas em rádios locais para convencer das facilidades, oportunidades e riquezas que os projetos de colonização da Amazônia ofereciam.

Muitos projetos não deram certos, pois, o desconhecimento total das adversidades do bioma amazônico exauriu o sonho de muitos de apossar-se da terra e afortunar-se com a riqueza exuberante e aparentemente fácil, exposta pelo solo, rios e biodiversidade abundante. Povoados inteiros foram dizimados por doenças como malária, febre amarela, leishmaniose e outras. Acidentes com animais peçonhentos eram freqüentes e sem os serviços de saúde, os colonos tinham que contar com a sorte. Muitos perderam a vida na tentativa de derrubada da floresta ombrófila, típica da região com suas árvores enormes que ao irem ao chão levavam outras dezenas ao entorno entrelaçadas pelo dossel característico da vegetação local, o que quase sempre culminava em acidentes, em sua maioria fatal.

Mas como a labuta era constante e o retorno à origem cada vez mais difícil, o sonho do “eldorado” se resumiu para muitos em mera expectativa de sobrevivência e,

assim, travou-se nesta região uma verdadeira batalha na qual o tilintar do machado e o ruído do motor serra foram as melodias que predominaram durante anos. Por fim, a imponente floresta aos poucos foi cedendo espaço para os núcleos urbanos, a agricultura, a pastagens e ao gado, modificando drasticamente a paisagem.

Os núcleos urbanos aos poucos foram se estruturando e, na década de 1980 e início dos anos 90, grande parte se emancipou sendo elevado à categoria de município, como é o caso dos municípios tratados neste estudo.

Colíder é o município sede do ERSCOL, localiza-se a uma latitude 10°49'04" sul e a uma longitude 55°27'03" oeste, estando a uma altitude de 265 metros. Tem área geográfica de 3.038,24 km² e população estimada segundo o Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE, 2009) de 32.098 habitantes com densidade demográfica de 8,8 hab./km². A principal economia de Colíder é a pecuária intensiva, que divide espaço com culturas diversas nos minifúndios espalhados ao longo do município. O comércio e a indústria tem significativa participação na arrecadação de divisas.

Nova Canaã do Norte é o único município do ERSCOL que ainda não registrou casos de hantavirose. Está localizado a uma latitude 10°33'29" sul e a uma longitude 55°57'11" oeste e a uma altitude de 301 metros. Possui uma área de 5.993,81 km² e sua população foi estimada em 2009 em 13.237 habitantes, densidade demográfica de 1,8 hab./Km². Também, tem como fonte principal de economia a pecuária (IBGE, 2009).

Nova Santa Helena, localiza-se às margens da BR-163, a uma latitude 10°84'82" sul e a uma longitude 55°18'31" oeste, estando a uma altitude de 240 metros. Possui uma área 2.627,835 km², em 2009 tinha uma população de 3.473 habitantes com uma densidade demográfica de 1,3 hab/km². Sua economia principal é a pecuária.

Itaúba, que em tupi significa a árvore pedra, desenvolveu-se às margens da BR-163. Sua economia gira em torno do extrativismo vegetal e pecuária de corte. Seu território abrange 6.215,35 km² e localiza-se a uma latitude 11°03'42" sul e a uma longitude 55°16'35" oeste, estando a uma altitude de 240 metros. Sua população em 2009 era de 4.585 habitantes com densidade demográfica de 1,4 hab/km².

Nova Guarita tem sua economia baseada na pecuária de corte e agricultura de subsistência. Localiza-se a uma latitude 10°18'47" sul e a uma longitude 55°24'30" oeste, estando a uma altitude de 300 metros. Possui uma área de 1.091,71 km², sua

população em 2009 era de 4.907 habitantes com densidade demográfica de 5,1 hab./Km².

O município de Marcelândia tem sua economia baseada na pecuária, na agricultura e no extrativismo vegetal; localiza-se a uma latitude de 11°05'22" sul, longitude 54°27'02" oeste e altitude média de 290 metros. Sua população estimada é de 14.084, segundo dados do IBGE/2009, e possui uma área de 13.127,1 km², densidade demográfica de 1,5 hab./km².

Todos os municípios da área de abrangência do ERSCOL fazem parte da Bacia Amazônica e apresentam clima equatorial quente e úmido, com 3 meses de estiagem, de junho a agosto, e precipitação média anual de 2.500mm.

Anexo 10

Local Provável de Infecção (LPI) por hantavírus: Aspecto interno de um anexo peridomiciliar onde ocorreu caso de hantavirose.



Local Provável de Infecção (LPI) por hantavírus: Sacarias de rações para trato de animais domésticos armazenadas em anexo peridomiciliar.

Anexo 11

Investigação epidemiológica em local provável de infecção por hantavirus.



Palestras e orientações para a comunidade.



Capacitação para os profissionais de saúde.



Coleta de Sangue para o Inquérito Sorológico

Anexo 12

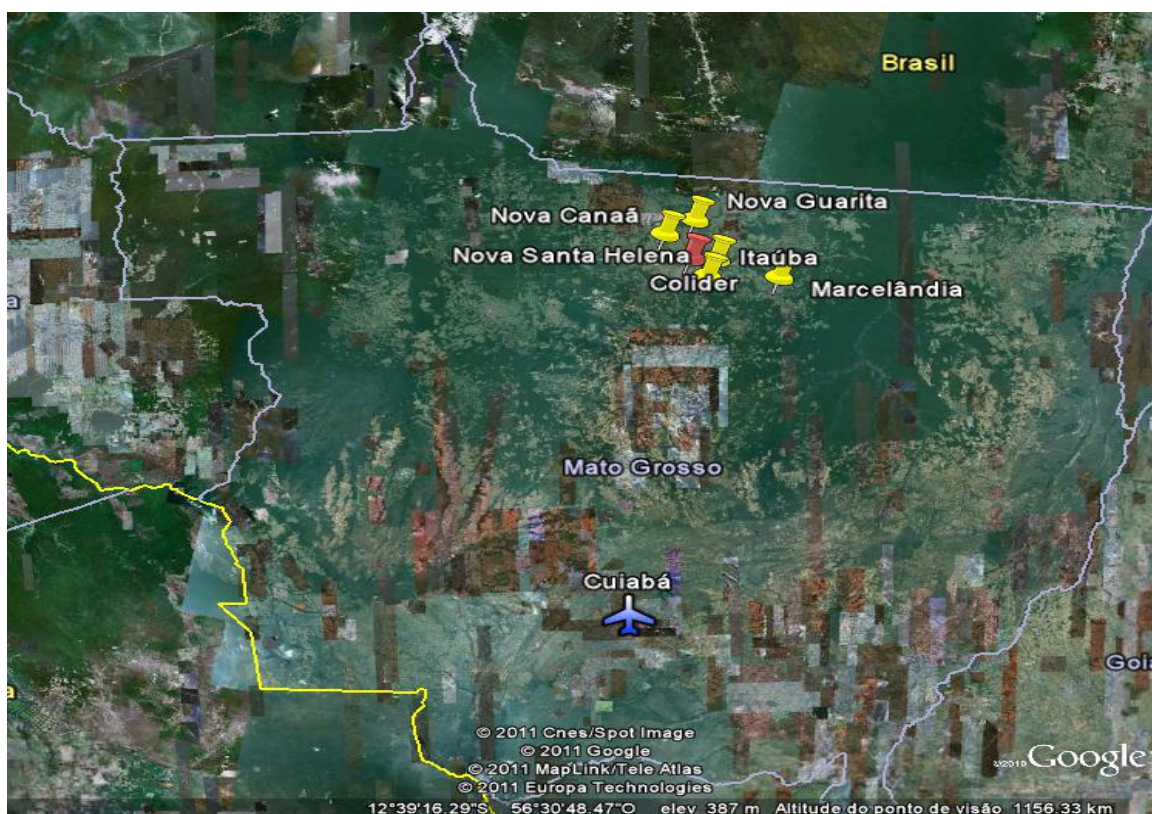


Foto de Satélite: Área de abrangência do ERSCOL (Municípios onde o estudo aconteceu)

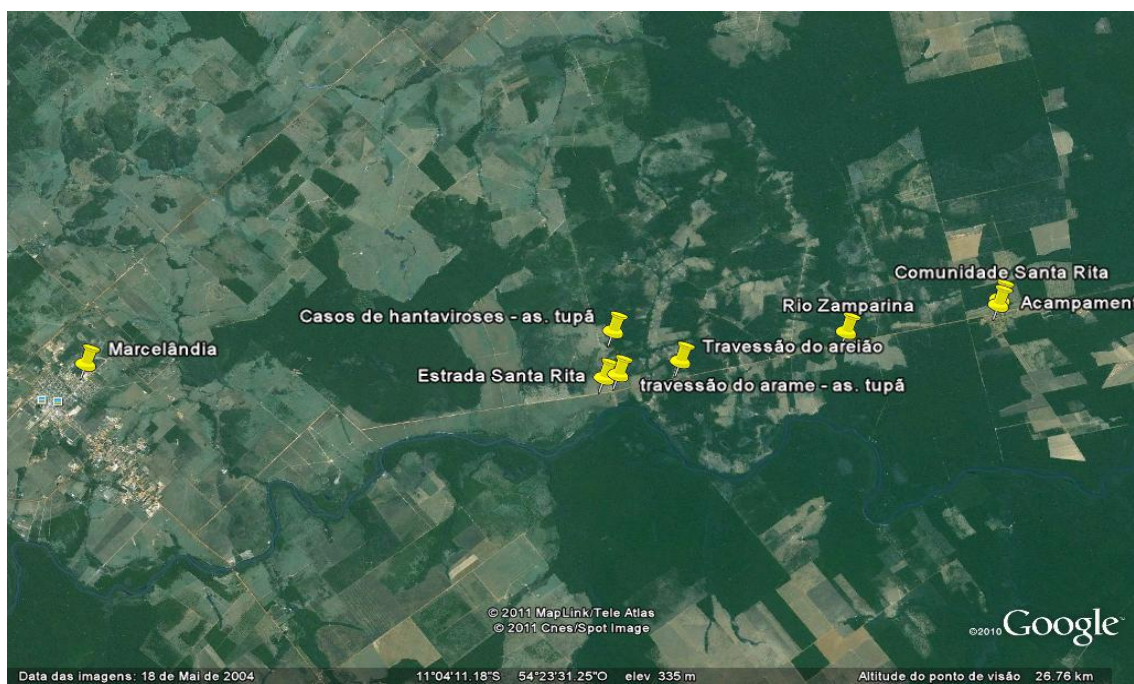
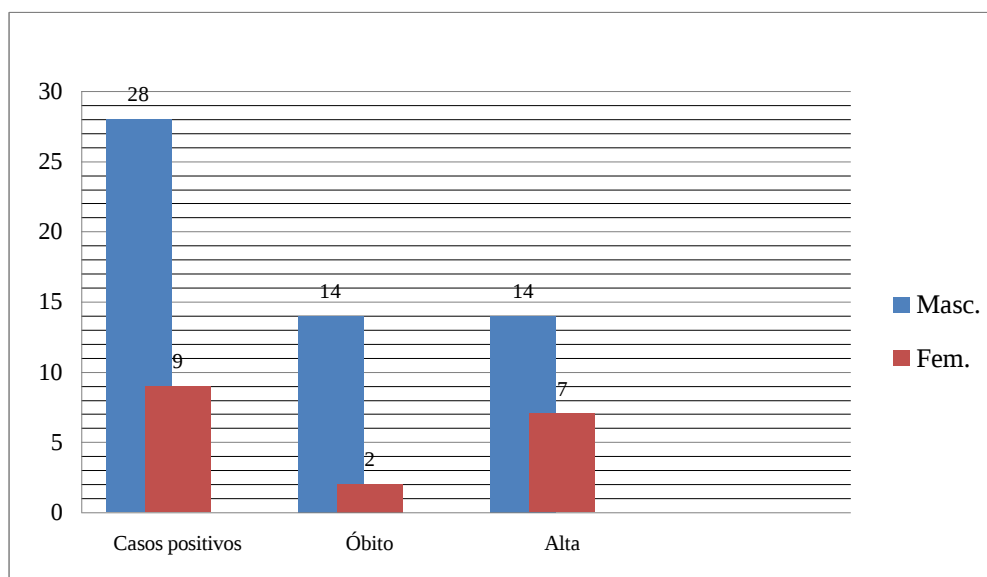


Foto de satélite: Município de Marcelândia (Núcleo urbano e o Assentamento Tupã)

Anexo 13



Relação dos 37 casos de hantavirose atendidos na área de abrangência do ERSCOL no período de 2007 a 2009.

Relação entre primeiros sintomas, busca por ajuda médica, cura e óbito em 30 pacientes com exames positivos para hantavirose e que foram atendidos na área de abrangência do ERSCOL no período de 2007/2009.

Procurou serviço de saúde	Nº de pacientes		Cura		Óbito	
	Freq. (30)	(%)	(FR %)		(FR %)	
2º dia de sintomas	2	6,7	2	100,0	0	0,0
3º dia de sintomas	8	26,7	6	75,0	2	25,0
4º dia de sintomas	5	16,7	3	60,0	2	40,0
5º dia de sintomas	9	30,0	3	33,3	6	66,7
6º dia de sintomas	3	10,0	1	33,3	2	66,7
7º dia de sintomas	1	3,3	0	0,0	1	100,0
10º dia de sintomas	1	3,3	0	0,0	1	100,0
14º dia de sintomas	1	3,3	0	0,0	1	100,0

Anexo 14

Perfil hematológico de 32 pacientes acometidos por hantavirus e atendidos em hospitais da rede de saúde pública da área de abrangência do ERSCOL, no período de 2007 a 2009.

Parâmetros hematológicos						
Paciente	plaquetopenia	hemoconcentração	leucocitose	neutrofilia	desvio à esquerda	distúrbio de coagulação
1	+	-	+	+	+	+
2	+	+	-	+	+	+
3	+	+	-	-	-	+
4	+	+	+	+	+	+
5	+	+	-	-	+	+
6	+	+	+	+	-	+
7	+	+	+	+	+	+
8	+	+	-	-	-	+
9	+	+	+	+	+	+
10	+	+	+	+	+	+
11	+	+	-	-	-	+
12	+	+	-	+	-	+
13	+	-	-	-	-	+
14	+	+	+	-	+	+
15	+	+	+	+	+	+
16	+	-	+	+	+	+
17	-	+	+	+	+	-
18	+	+	+	+	+	+
19	+	+	+	+	-	+
20	+	+	-	+	+	+
21	+	+	+	+	+	+
22	+	+	-	-	-	+
23	-	-	-	-	-	-
24	+	+	+	+	+	+
25	+	+	+	+	+	+
26	+	+	-	+	+	+
27	+	+	+	+	+	+
28	+	-	+	+	+	+
29	+	-	+	+	+	+
30	+	-	-	+	-	+
31	+	+	+	+	+	+
32	+	+	+	+	+	+
Total (+)	30	25	20	24	22	30
% (+)	93,8	78,1	62,5	75	68,8	93,8

Teste G de COCHRAN (p=0,0012)

Anexo 15

Ambiente do entorno das residências e relação com os casos de IgG positivos dos participantes do inquérito

Cobertura vegetal	Nº de ambientes	%	IgG positivo	Fr (%)	Armazena cereais		
					Residência	Anexo/residência	Anexo
Gramínea	21	38,9	3	42,8	1	1	1
Capoeira	15	27,8	1	14,3	1		
Mata ciliar	5	9,3	2	28,6	2		
Mandiocal	5	9,3					
Abacaxizal	4	7,4					
Floresta primária	3	5,5					
Frutíferas permanente	1	1,8	1	14,3			1
Total	54	100,0	7	100,0	4	1	2

Condições de abastecimento e tratamento de água no Assentamento Tupã do município de Marcelândia/MT.

Fonte de água e tratamento	Quantidade	%	IgG positivo	Fr (%)
Poço e filtra	3	5,5		
Poço, filtra e trata	22	40,8	2	28,6
Poço e trata	15	27,9	2	28,6
Poço in natura	5	9,3	2	28,6
Rio filtra	3	5,5		
Rio, filtra e trata	3	5,5		
Rio e trata	2	3,7	1	14,2
Rio in natura	1	1,8		
Total	54	100,0	7	100,0



Programa de Pós-graduação *Stricto Sensu* em Análises Clínicas – Mestrado
Ata Defesa de Dissertação

Aos **dezessete dias do mês de maio de dois mil e onze**, no Setor de Pós-graduação do Campus I da Universidade de Santo Amaro, sito à Rua Prof. Eneas de Siqueira Neto, 340 Jd. das Imbuías, São Paulo, Capital, conforme Regimento Geral e Regulamento de Pós-graduação da UNISA, teve início às 16hs. exame de defesa de dissertação intitulada **“EPIDEMIOLOGIA DA HANTAVIROSE NA ÁREA DE ABRANGÊNCIA DO ESCRITÓRIO REGIONAL DE SAÚDE DE COLÍDER – MT, NO PERÍODO DE 2007 A 2009”** do mestrando **IONI OLIVEIRA SANTOS**, regularmente matriculado no programa de Pós-graduação *Stricto Sensu* em Análises Clínicas, nível Mestrado, recomendado em 15 de março de dois mil e dois pela portaria CAPES nº 11/2002. Cumpridos os requisitos exigidos conforme registros constantes nos arquivos da Secretaria da Pós-graduação, segundo encaminhamento da Profa. Dra. Maria Regina A. Azevedo, Coordenadora do Programa. Os trabalhos foram instalados pela Profa. Dra. Celidéia A. Coppi Vaz Presidente da Banca Examinadora, que foi constituída pelos seguintes professores: Profa. Dra. Carolina G. P. Beyrodt de Amorim, Doutora em Microbiologia, Imunologia e Parasitologia - UNIFESP, Profa. Dra. Maria Lúcia Rácz, Doutora em Microbiologia - USP, e Profa. Dra. Celidéia A. Coppi Vaz Doutora em Imunologia pelo Instituto de Ciências Biomédicas da USP e orientadora do mestrando. A Banca Examinadora, tendo decidido aceitar a pesquisa, passou à arguição pública ao candidato. Encerrados os trabalhos de arguição, os examinadores deram o parecer final sobre a dissertação tendo sido atribuída ao candidato a seguinte avaliação:

Profa. Dra. Celidéia A. Coppi Vaz

Parecer: Aprovado assinatura: Celidéia A. Coppi Vaz

Profa. Dra. Carolina G. P. Beyrodt de Amorim

Parecer: Aprovado assinatura: Carolina G. P. Beyrodt de Amorim

Profa. Dra. Maria Lúcia Rácz

Parecer: Aprovado assinatura: Maria Lúcia Rácz