

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS – UFAL
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS – ICBS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE - PPGCS**

JOSÉ ALFREDO DOS SANTOS JÚNIOR

**PESQUISA DE ANTICORPOS ANTI-HANTAVÍRUS NA POPULAÇÃO DO
ESTADO DE ALAGOAS**

Maceió – AL

2012

JOSÉ ALFREDO DOS SANTOS JÚNIOR

**PESQUISA DE ANTICORPOS ANTI-HANTAVÍRUS NA POPULAÇÃO DO
ESTADO DE ALAGOAS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciências da Saúde da Universidade Federal de Alagoas, como requisito para a obtenção do grau de Mestre em Ciências da Saúde.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Alessandra Abel Borges

Maceió – AL

2012

Catálogo na fonte
Universidade Federal de Alagoas
Biblioteca Central
Divisão de Tratamento Técnico
Bibliotecária Responsável: Fabiana Camargo dos Santos

S237p Santos Júnior, José Alfredo dos.
Pesquisa de anticorpos anti-hantavírus na população do estado de Alagoas /
José Alfredo dos Santos Júnior. – 2012.
109 f. : il., tab.

Orientador: Alessandra Abel Borges.
Dissertação (Mestrado em Ciências da Saúde) - Universidade Federal de
Alagoas. Instituto de Ciências Biológicas e da Saúde. Maceió, 2012.

Bibliografia: f. 79-92.
Apêndices e anexos: f. 93-119.

1. Hantavírus - Alagoas. 2. Anticorpos anti-hantavírus. 3. Hantavirose -
Diagnóstico. I. Título.

CDU: 616.98:612.017



Universidade Federal de Alagoas
Instituto de Ciências Biológicas e da Saúde
Programa de Pós-graduação em Ciências da Saúde

Praça Afrânio Jorge, s/n. Prado
CEP 57.010-020. Maceió-AL
(82) 3223-5613; 3336-0757
e-mail: pgcs@propep.ufal.br

Defesa da Dissertação de Mestrado do aluno José Alfredo dos Santos Júnior, intitulada: "Pesquisa de anticorpos anti-hantavírus na população do Estado de Alagoas", orientado pela Prof.^a Dr.^a Alessandra Abel Borges, apresentada ao Programa de Pós Graduação em Ciências da Saúde, da Universidade Federal de Alagoas, em 22 de março de 2012.

Os membros da Banca Examinadora consideraram o candidato APROVADO.

Banca Examinadora:

Prof. Dr. Emílio de Oliveira Barreto – (ICBS/UFAL)

Prof.ª Dr.ª Juliana Helena Chávez - (UFU)

Prof.ª Dr.ª Denise Maria Wanderlei Silva – (ICBS/UFAL)

Trabalho realizado no Laboratório de Pesquisas em virologia e Imunologia (LAPEVI) do Instituto de Ciências Biológicas e da Saúde (ICBS) da Universidade Federal de Alagoas (UFAL), com a colaboração do Centro de Pesquisa em Virologia da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto (FMRP-USP), do Hospital Escola Dr. Hέλvio Auto (HEHA) e do Laboratório Central de Saúde Pública de Alagoas (LACEN-AL).

À minha família, exemplo de união e de vitória, pelo amor, carinho, apoio incondicional e eterna amizade.

Aos meus pais, Evaci e José Alfredo (em memória), pelo exemplo de amor e dedicação, por todos os esforços e por sempre acreditarem em meus sonhos.

Aos meus irmãos Tatiana e Wesley, que eu tanto amo, grandes torcedores e por estarem sempre dispostos a me ajudar.

DEDICO

AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar a DEUS meu maior amigo, pela sabedoria, por estar presente em todos os momentos da minha vida me iluminando e por sempre me abençoar e me guiar pelos melhores caminhos, não os mais fáceis, mas sempre os melhores.

À minha orientadora Professora Dr^a. Alessandra Abel Borges, exemplo de pesquisadora apaixonada e dedicada pelo que faz. Agradeço pelos ensinamentos, confiança, cobrança, oportunidade e experiência transmitidas durante todo o tempo de convivência. Muito obrigado por transmitir um pouco do seu conhecimento, o qual eu espero um dia alcançar.

Aos amigos e colegas de pesquisa: Rebeka, Flávio, Danilo, Fernanda, Jamerson, Juliana, Amanda, Marcelo, Jaqueline, Nedja e Patrícia. Um muito obrigado, especial, aos estagiários: Flávio, Fernanda e Rebeka, por conduzirem o laboratório durante a minha ausência para escrever a dissertação.

À professora Ana Raquel, por grande auxílio durante o inquérito, tanto com conselhos, como na organização e durante a realização da coleta. Como também a sua prima Celinha, por contribuir durante as coletas do piloto de inquérito sorológico.

À professora Dr^a Sylvana Ayres, por sanar algumas dúvidas sobre o ELISA.

Aos nossos colaboradores do Centro de Pesquisa em Virologia (CPV-USP) pelo auxílio técnico e de reagentes, principalmente ao professor Dr. Luiz Tadeu Moraes Figueiredo e ao meu amigo Gilberto Sabino.

Ao LACEN-AL pela parceria, principalmente ao Magliones Lima e a Emanuelle Pimentel pelo envio das amostras séricas para o LAPEVI.

Ao Hospital Escola Dr. Hέλvio Auto (HEHA) por abrir as portas para esta pesquisa e pelo apoio. As médicas do HEHA e nossas colaboradoras: Luciana Pacheco, Adriana Moura e Vania Pires.

À Usina Coruripe e todos os seus funcionários. Principalmente a enfermeira Fátima, a médica Lívia, ao administrador Monteiro e a todos os trabalhadores rurais por aceitarem participar da pesquisa.

Aos amigos de mestrado: Altair Rogério, Bruna Santos e Delma Holanda. Agradecimentos devido à amizade e por estarem presentes auxiliando nas coletas e entrevistas do piloto de inquérito sorológico.

Todos os laboratórios do ICBS por abrirem suas portas para usarmos seus equipamentos. Um agradecimento especial aos professores: Daniel Gitaí, Denise Wanderlei, Eurípedes Alves, Luiza Rabelo, Magna Suzana e Valeriano.

À secretária da pós-graduação Mel Pedrosa por sempre ajudar nos problemas burocráticos por sempre incentivar.

Todos os professores do PPGCS por passarem um pouco do seu conhecimento, sempre contribuindo com a aprendizagem.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pelo auxílio com a bolsa.

À Universidade Federal de Alagoas e ao PPGCS que possibilitaram a realização deste sonho.

Meu especial agradecimento a todas as pessoas que colaboraram como sujeitos da pesquisa.

Todos meus amigos de sala de aula e da vida, que me apoiaram e me ajudaram nessa caminhada.

“O Cristo não pediu muita coisa, não exigiu que as pessoas escalassem o Everest ou fizessem grandes sacrifícios. Ele só pediu que amássemos uns aos outros. Agradeço todas as dificuldades que enfrentei; se não fosse por elas, eu não teria saído do lugar. Mesmo as críticas nos auxiliam no crescimento. Porém, as facilidades nos impedem de caminhar.”

CHICO XAVIER

RESUMO

Hantavirus são vírus zoonóticos principalmente de roedores silvestres, pertencentes à família *Bunyaviridae*, os quais são transmitidos para seres humanos pela inalação de secreções ou excretas de roedores infectados ou pelo contato direto com os mesmos. Estes vírus podem causar graves doenças como a Febre Hemorrágica com Síndrome Renal (FHSR) e a Síndrome Pulmonar e Cardiovascular (SPCVH). No Brasil, já foram notificados mais de 1500 casos, desde 1993. Neste estudo, investigou-se a presença de anticorpos anti-hantavírus na população alagoana. Para isso, com finalidade diagnóstica, realizou-se uma busca ativa de casos agudos em hospitais de Alagoas e analisou-se amostras séricas encaminhadas pelo LACEN-AL, provenientes de pacientes suspeitos de outras enfermidades, como dengue e leptospirose. Também, foi investigada a presença de anticorpos de memória da classe IgG para hantavírus, em trabalhadores rurais de Coruripe/AL, em um estudo piloto para inquérito sorológico na Usina Coruripe. Para detecção dos anticorpos anti-hantavírus, amostras de soros foram submetidas a um teste imunoenzimático (ELISA) caseiro, utilizando-se como antígeno uma proteína N recombinante do hantavirus *Araraquara*. Foram estudadas 608 amostras séricas divididas nos seguintes grupos: 1- Pacientes internados, que se encaixavam nos critérios de suspeita clínica de hantavirose; 2- Pacientes com leptospirose; 3- Pacientes com suspeita clínica de dengue; 4- Estudo piloto para inquérito sorológico. Das 64 amostras séricas analisadas por sorologia procedentes de pacientes que se enquadravam como caso suspeito de SPCVH ou FHSR, nenhuma foi reagente para IgM anti-hantavirus, porém, uma (1,56%) foi reagente para IgG anti-hantavirus. Na pesquisa dos anticorpos em 124 pacientes com leptospirose confirmada pelo LACEN-AL foram encontrados três (2,42%) amostras reagentes para IgG anti-hantavirus e nenhuma reagente para IgM. Nos 170 pacientes com suspeita de dengue cuja pesquisa NS1 foi não reagente, não foram detectados nem IgG nem IgM anti-hantavírus. O estudo piloto do inquérito sorológico em Coruripe mostrou imunidade para hantavírus em 10 (4%) dos 250 trabalhadores estudados, dentre os quais, cinco alegaram nunca terem morado ou viajado para fora do Estado de Alagoas. Tomados em conjunto, nossos achados sugerem a circulação de hantavírus no estado e sua ocorrência silenciosa na região, causando infecções inaparentes, ou ainda, sintomáticas, mas que permanecem sem diagnóstico. Esse trabalho é pioneiro na busca por hantavirose no estado de Alagoas.

Palavras-chave: Hantavírus. Anticorpos. Estado de Alagoas. Diagnóstico.

ABSTRACT

The genus Hantavirus, family *Bunyaviridae*, includes rodent-borne viruses that are transmitted to humans by inhalation of rodent secretions and excreta, or through direct contact with an infected rodent. They are associated with hemorrhagic fever and renal syndrome (HFRS) and with Hantavirus cardiopulmonary syndrome (HCPS). In Brazil, more than 1,500 HCPS cases have been recorded, since 1993. In this study, it was investigated the presence of hantavirus antibodies in the population of Alagoas. For this, it was carried out an active surveillance for acute cases of hantavirus infection in hospitals of Alagoas State and also it was analyzed sera samples sent by LACEN-AL, from patients suspected of having other diseases, such as dengue and leptospirosis. In addition, it was investigated the presence of memory antibodies IgG to hantavirus in rural workers from Coruripe-AL, by performing a pilot study of serological survey in Usina Coruripe. Sera samples were tested by an enzyme immunoassay (ELISA) in house for detection of hantavirus antibodies, using a recombinant N protein of *Araraquara* hantavirus as antigen. Of the 64 samples analyzed by serology from patients who were classified as suspected of HCPS or HFRS, none was positive for IgM anti-hantavirus, however, one (1,56%) was reagent for IgG anti-hantavirus. In the survey for antibodies in 124 patients with leptospirosis confirmed by LACEN-AL it was found three (2,42%) samples that were reagent for IgG to hantavirus and none of them was reagent for IgM. In the 170 patients with clinical suspicion of dengue but non-reagent for NS1 the survey for both IgM and IgG to hantavirus was negative. The pilot study of serological survey in Coruripe showed immunity against hantavirus in 10 (4%) of 250 studied workers, among which five attested that had never lived or travelled out of state of Alagoas. Taken together, our findings suggest the circulation of hantavirus in the state and its silent occurrence in the region, causing inapparent infections, or even symptomatic, but that remain undiagnosed. This study is pioneer in the surveillance for hantavirus in the state of Alagoas.

Key-words: Hantavirus. Antibodies. State of Alagoas. Diagnosis.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Representação da estrutura dos membros da família <i>Bunyaviridae</i> em A e microscopia eletrônica dos vírions em B.	21
Figura 2 – Genoma dos membros do gênero <i>Hantavirus</i> .	22
Figura 3 – Modos de transmissão das Hantavirose	23
Figura 4 – Esquema do ciclo replicativo dos hantavírus	26
Figura 5 – Distribuição dos roedores reservatórios da hantavírus brasileiros e variantes virais de acordo com o bioma	27
Figura 6 – Curso clínico da SPCVH.	29
Figura 7 – Localização do município de Coruripe em Alagoas e sua distância de Maceió.	42
Figura 8 – Cadastro dos trabalhadores e coleta das informações pessoais.	43
Figura 9 – Esquema da técnica de ELISA para detectar anticorpos IgM ou IgG.	45
Figura 10 – Esquema de uma placa de ELISA após adição dos soros.	46
Figura 11 – Titulação da amostra do paciente 26H que reagiu até o título de 400.	51
Figura 12 – Titulação da segunda amostra da paciente 33H que reagiu no momento da triagem.	54
Figura 13 – Distribuição dos pacientes com leptospirose quanto ao sexo, cujas amostras séricas foram testadas para a presença de anticorpos anti-hantavírus.	56
Figura 14 – Total de pacientes analisados cuja pesquisa de NS1 foi não reagente, segundo o sexo, nos quais se pesquisou anticorpos anti-hantavírus.	59
Figura 15 – Resultados da pesquisa	61

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Casos confirmados de Hantavirose. Brasil, Grandes Regiões e Unidades Federadas. 1993 a 2011.	33
Tabela 2 – Total de pacientes do estudo dividido em grupos	48
Tabela 3 – Pacientes do município de Coruripe incluídos no estudo devido a um surto de uma doença respiratória grave, os quais tiveram amostras coletadas para o diagnóstico sorológico de hantavirose.	50
Tabela 4 – Pacientes incluídos no estudo que tiveram amostras coletadas no HEHA para o diagnóstico sorológico de hantavirose, os quais tiveram como diagnóstico final tuberculose.	52
Tabela 5 – Pacientes incluídos no estudo que tiveram amostras coletadas no HEHA para o diagnóstico sorológico de hantavirose, os quais tiveram como diagnóstico final leptospirose.	54
Tabela 6 – Pacientes incluídos no estudo que tiveram amostras coletadas no HEHA para o diagnóstico sorológico de hantavirose, os quais tiveram como diagnóstico final outras enfermidades.	55
Tabela 7 – Soroprevalência para anticorpos IgG anti-hantavirus, quanto ao sexo, nos pacientes com leptospirose confirmada pelo LACEN-AL.	57
Tabela 8 – Municípios de origem dos pacientes com suspeita de dengue, cuja pesquisa de NS1 não foi reagente.	58
Tabela 9 – Casos reagentes para anticorpos IgG anti-hantavirus, em trabalhadores da Usina Coruripe/AL, de acordo com o código de registro do participante, idade, título, presença de doença grave no passado com sintomas respiratórios e trabalho fora de Alagoas.	60

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	14
2 REVISÃO DA LITERATURA	16
2.1 Histórico	17
2.2 Classificação taxonômica, características morfológicas e organização genômica.	19
2.3 Transmissão	22
2.4 Replicação dos <i>Hantavirus</i>	24
2.5 Reservatórios	26
2.6 Manifestações clínicas	27
2.6.1 FHSR	28
2.6.1 SPCVH	29
2.7 Hantavirose no Brasil	31
3 JUSTIFICATIVA	34
4 OBJETIVOS	36
4.1 Objetivo Geral	37
4.2. Objetivos Específicos	37
5 METODOLOGIA	38
5.1 Aspectos éticos	39
5.2 População de estudo	39
5.3 Delineamento do estudo	39
5.4 Definições de casos suspeitos	40
5.5 Estudo piloto para evidência sorológica de infecção por hantavírus	41
5.5.1 Local do piloto do inquérito	41
5.5.2 Delineamento do piloto do inquérito sorológico	42
5.6 Técnica sorológica utilizada na pesquisa de anticorpos	43
5.6.1 ELISA qualitativo	44
5.6.2 ELISA semi-quantitativo	46

6 RESULTADOS	47
6.1 Investigação de reatividade cruzada em pacientes portadores de endemias regionais, como Doença de Chagas e leishmaniose visceral, e a proteína rN ARAV.	48
6.2 Grupo 1: Pacientes internados que se enquadravam nos critérios de casos suspeitos de hantavirose.	49
6.3 Grupo 2: Pacientes com doença aguda e diagnóstico laboratorial confirmado de leptospirose.	56
6.4 Grupo 3: Pacientes com suspeita clínica de dengue, cuja pesquisa de NS1 não foi reagente.	57
6.5 Grupo 4: Participantes do estudo piloto para Inquérito Sorológico para Hantavírus em Coruripe	59
6.6 Visão global dos resultados do estudo	60
7 DISCUSSÃO	62
7.1 Pacientes internados que se enquadravam nos critérios de casos suspeitos de hantavirose.	63
7.2 Investigação de reatividade cruzada em pacientes portadores de endemias regionais, como Doença de Chagas e leishmaniose visceral, e a proteína rN ARAV.	68
7.3 Pacientes com doença aguda e diagnóstico laboratorial confirmado de leptospirose.	69
7.4- Pacientes com suspeita clínica de dengue, cuja pesquisa de NS1 não foi reagente.	71
7.5- Participantes do estudo piloto para Inquérito Sorológico para Hantavírus em Coruripe.	73
8 CONCLUSÕES	76
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	78
APÊNDICE	93
ANEXOS	103

1 INTRODUÇÃO

As doenças emergentes apresentam-se como um grave problema de saúde pública tanto no Brasil, quanto no mundo, por isso, estão causando grandes preocupações às autoridades sanitárias mundiais. A maior parte dessas doenças, tanto as novas quanto as antigas, são doenças zoonóticas, sendo estas causadoras de mais da metade das enfermidades que acometem o homem (DASZAK *et al.*, 2001; CABELLO e CABELLO, 2008; KALLIO *et al.*, 2009). Enquadram-se nesse conceito as doenças cujo reservatório é, em geral, um animal silvestre (CABELLO e CABELLO, 2008; KALLIO *et al.*, 2009).

Atualmente alguns patógenos emergentes vêm preocupando estudiosos de doenças infecciosas, principalmente as viroses emergentes, já que vários surtos de patógenos virais emergentes e re-emergentes ocorreram nas últimas décadas (FIGUEIREDO, 2006; HJELLE e TORRES-PÉREZ, 2010). Fruto de alterações provocadas pelo homem sobre o meio ambiente (urbanização e atividades agrícolas), essas viroses estão enquadradas como um importante problema de Saúde Pública no Brasil, em alto grau nas zonas rurais e zonas urbanas (SCHMIDT, 2007; CABELLO e CABELLO, 2008).

Destacam-se entre as zoonoses virais, as febres hemorrágicas, devido ao caráter altamente letal. Dentre os vírus causadores de febre hemorrágica, os hantavírus vêm chamando muita atenção, devido a sua distribuição mundial e sua alta taxa de letalidade, onde sua transmissão está relacionada com o íntimo contato com roedores (FIGUEIREDO, 2006; MORENO *et al.*, 2007). Esta zoonose pode causar duas diferentes síndromes clínicas: a Febre Hemorrágica com Síndrome Renal (FHSR), na Ásia e Europa, e a Síndrome Pulmonar e Cardiovascular por Hantavírus (SPCVH), no continente Americano (FIGUEIREDO, 2006; MORENO *et al.*, 2007; CHANDY *et al.*, 2008).

A SPCVH assumiu espaço importante na saúde pública brasileira, tendo emergido nas duas últimas décadas como doença de alta gravidade e letalidade. O presente estudo propõe, pela primeira vez, buscar ativamente casos desta enfermidade no Estado de Alagoas.

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1- Histórico

Acredita-se que os hantavírus estão presentes no continente Asiático há muito tempo, pois, há mais de 900 anos, ainda no século X, uma doença com fenômenos hemorrágicos e febre foi descrita pelos Chineses, a qual se supõe tratar de hantavirose (LEE, 1989; JOHNSON, 2001; VAPALAHTI *et al.*, 2003).

Um surto de uma doença febril hemorrágica foi descrito, posteriormente, na Rússia em 1913 e 1932, entre as tropas japonesas na Manchúria em 1932 e na Suécia em 1934 (SCHMALJOHN e HJELLE, 1997).

Apesar desses casos, a doença causada por hantavírus começou a chamar a atenção do ocidente, somente, entre os anos de 1951-1953, durante a guerra da Coreia, quando aproximadamente 3.000 soldados norte-americanos foram acometidos, subitamente, por uma doença febril aguda com manifestações hemorrágicas e letalidade em torno de 10% a 15% (EARLE, 1954; LEDNICK, 2003; ZEIER *et al.*, 2005; BI *et al.*, 2008; JONSSON *et al.*, 2010). O agente etiológico desta enfermidade somente pôde ser isolado 25 anos após o descobrimento da doença, a partir do tecido pulmonar do seu roedor reservatório – *Apodemus agrarius*-, capturado na zona rural da Coreia do Sul, no vale (*taan*) as margens do rio Han. O agente causador da doença foi então denominado vírus *Hantaan* (HTNV), em alusão ao local de captura do seu reservatório, e este se tornou o protótipo do gênero *Hantavirus* (LEE e LEE, 1976, 1977, 1978; LEE *et al.*, 1979; LEE, 1989).

Após o isolamento deste novo agente etiológico, HTNV, foi proposto ao Comitê Internacional de Taxonomia Viral (ICTV) que esse vírus fosse incluído na família *Bunyaviridae* dos arbovírus (LEE, 1988; IVERSSON, 1996), devido às similaridades genéticas, entretanto, propondo-se a criação de um novo gênero para incluí-lo na família (LEDUC *et al.*, 1984). Isto foi proposto pelo seguinte: Schmaljohn e cols. (1983) ao analisarem molecularmente o HTNV encontraram um genoma tri-segmentado, e esse achado, aliado aos trabalhos publicados de McCormick e cols. (1982) e White e cols. (1982), sugeriu que o novo vírus fosse membro da família *Bunyaviridae*. Análises realizadas, posteriormente, por Schmaljohn e Dalrymple (1983) de seqüenciamento nucleotídico viral confirmaram que era necessária a criação de um novo gênero para uma correta classificação deste novo agente.

A hantavirose, no continente Europeu e Asiático, recebia várias denominações, como: nefrosenefrite hemorrágica (antiga URSS), febre hemorrágica epidêmica (Japão), febre hemorrágica epidêmica ou nefrite epidêmica (Europa

Ocidental e Japão), febre hemorrágica Coreana (Coreia), febre hemorrágica epidêmica ou febre do songo (China), nefrite dos campos e nefropatia epidêmica (Escandinávia) (LEE, 1988; SIMMONS e RILEY, 2002; BI *et al.*, 2008). Após a descoberta do vírus *Hantaan*, foi recomendado pela Organização Mundial de Saúde (OMS), que a doença fosse denominada Febre Hemorrágica com Síndrome Renal (FHSR), em substituição às várias denominações existentes para designar essas moléstias infecciosas agudas hemorrágicas com disfunção renal (LEE, 1988; AHN *et al.*, 2000).

Desde a década de 80 já existia o indício da presença dos hantavírus no continente Americano, devido à presença de anticorpos anti-hantavírus encontrados em roedores e, também, pelo próprio isolamento viral de roedores das Américas (LEDUC *et al.*, 1984, 1985,1986; LEE *et al.*, 1985). Porém, somente no ano de 1993 foi notificado e identificado o primeiro surto de hantavirose nas Américas, no sudoeste dos EUA, na região de Four Corners, na divisa dos Estados: Arizona, Utah, New Mexico e Colorado. Neste episódio, uma doença pulmonar grave vitimou índios Navajos da região (NICHOL *et al.*, 1993). A doença foi inicialmente confundida com influenza, por apresentar febre, cefaleia, mialgias, e calafrios, progredindo rapidamente com edema pulmonar, insuficiência respiratória com choque e morte após o início da doença em quase 50% dos acometidos (NICHOL *et al.*, 1993; KHAN, 1996). Após a realização de vários testes, os soros dos pacientes reagiram cruzadamente com antígenos hantavíricos do Velho Mundo (Eurásia), e levantou-se a primeira pista da provável causa da infecção (JONSSON *et al.*, 2010). Os avanços das técnicas de biologia molecular contribuíram para que esse novo agente fosse logo identificado nos tecidos dos pacientes e em roedores capturados nas redondezas, sendo o vírus denominado *Sin Nombre* e seu roedor reservatório foi identificado como sendo a espécie *Peromyscus maniculatus* (NICHOL *et al.*, 1993; SCHMALJOHN *et al.*, 1995; JONSSON *et al.*, 2010). Essa nova doença causada por hantavírus foi denominada, inicialmente, Síndrome Pulmonar por Hantavírus (SPH), entretanto, após o conhecimento do colapso cardiocirculatório que acompanha a pneumonia grave, a doença foi denominada, no Brasil, Síndrome Pulmonar e Cardiovascular por Hantavírus (SPCVH) (HALLIN *et al.*, 1996; FIGUEIREDO *et al.*, 2000).

O primeiro caso de hantavirose notificado na América do Sul, também, ocorreu em 1993, no Vale do Ribeira, na cidade de Juquitiba, São Paulo, numa área

de desmatamento florestal. Neste local, três irmãos apresentaram uma doença respiratória grave, dos quais, dois foram a óbito após um período de três a cinco dias, ambos com insuficiência respiratória aguda, e um deles com choque. A doença foi caracterizada por febre, dor de cabeça, mialgia, prostração, tosse, vertigem, náusea e/ou vômito. Dois tiveram o diagnóstico confirmado laboratorialmente e um terceiro, um dos dois que foi a óbito, teve diagnóstico clínico e epidemiológico. Análises genéticas do material biológico dos casos fatais demonstraram se tratar de um novo vírus, sendo este denominado de hantavírus *Juquitiba*, nome do local onde houve a doença (IVERSSON *et al.*, 1994; DA SILVA *et al.*, 1997; VASCONCELOS *et al.*, 1997).

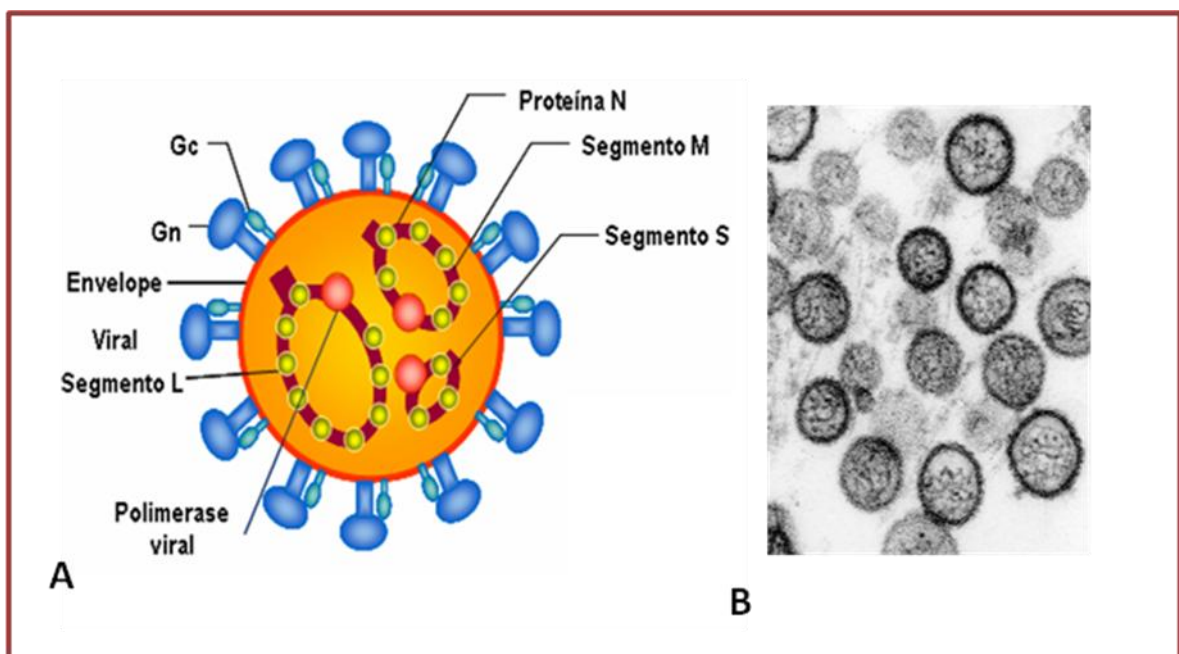
Após a descoberta dos vírus *Hantaan*, vários outros hantavírus puderam ser identificados, como também, seus roedores reservatório, bem como, uma melhor caracterização das formas clínicas da doença, FHSR na Eurásia (hantavírus do Velho Mundo) e SPCVH nas Américas (hantavírus do Novo Mundo). Todo esse avanço no conhecimento da hantavirose foi possível, devido à facilidade de diagnóstico e avanço da tecnologia – biologia molecular (JONSSON *et al.*, 2010). De acordo com o ICTV existem 23 diferentes espécies de hantavírus no mundo (ICTV, 2009), contudo, pesquisadores já demonstraram a existência de mais de 50 hantavírus no planeta, com mais de 20 espécies relacionadas com uma das duas formas de doença (JONSSON *et al.*, 2010).

2.2- Classificação taxonômica, características morfológicas e organização genômica.

A família *Bunyaviridae* possui mais de 300 diferentes vírus distribuídos em cinco gêneros: *Bunyavirus* (espécie tipo: *Bunyamwera*), *Phlebovirus* (febre dos flebótomos da Sicília), *Nairovirus* (vírus da febre hemorrágica do Congo e da Criméia), *Hantavirus* (*Hantaan*), e *Tospovirus* (vírus de vegetais). A maioria desses vírus é arboviroses, transmitidos por carrapatos, mosquitos ou flebótomos, com exceção dos *Hantavirus*, os quais são mantidos na natureza por roedores cronicamente infectados e transmitidos ao homem pelo contato direto ou indireto com esses roedores, sendo os únicos vírus da família que não são transmitidos por artrópodes (FIGUEIREDO, 1999; BORGES e FIGUEIREDO, 2007).

Os hantavírus são vírus envelopados, pleomórficos ou esféricos, com a forma esférica predominante na natureza, com diâmetro de 80 a 120nm. A partícula viral é constituída por um genoma de RNA de simples fita, polaridade negativa, tri-segmentado [RNAss(-)], sendo cada segmento denominados: grande (L), médio (M) e pequeno (S) (Figura 1).

Figura 1- Representação da estrutura dos membros da família *Bunyaviridae* em A e microscopia eletrônica dos vírions em B. **A** – Componentes do genoma viral (L, M, S) estão complexados com a proteína N e associados com a RdRp, envelope viral de dupla camada lipídica contendo as proteína Gn e Gc. Fonte: Adaptado de Travasso da Rosa, 2008. **B** – Microscopia eletrônica de transmissão do vírus *Sin Nombre*.

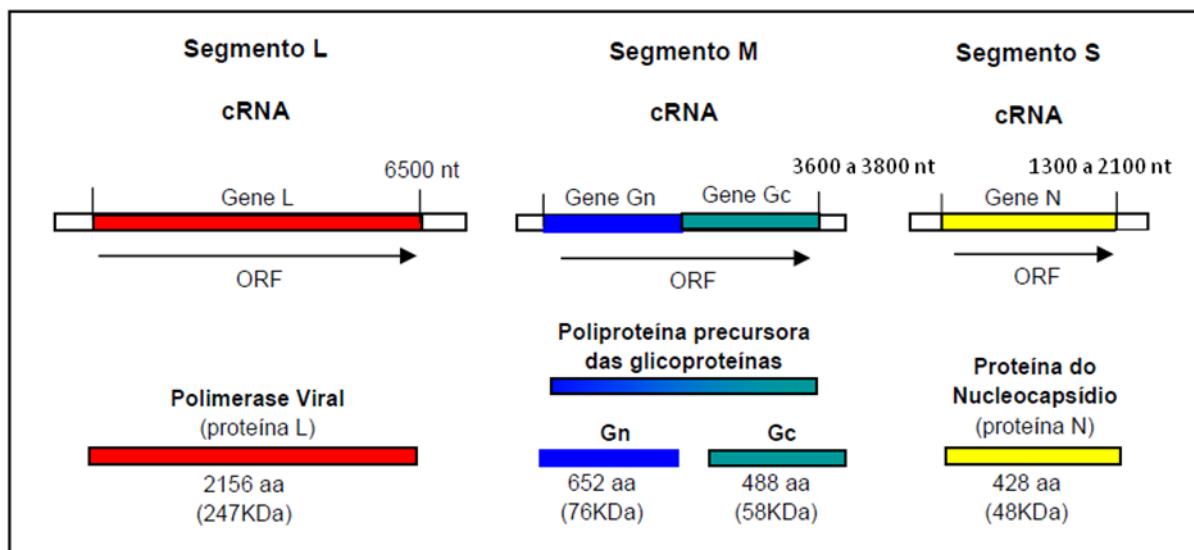


Fonte: **A** - Adaptado de Travasso da Rosa, 2008; **B** - Centers for Disease Control and Prevention (CDC).

O segmento L, com aproximadamente 6.500 nucleotídeos (nt), codifica a RNA polimerase dependente de RNA (RdRp ou proteína L), possui função de transcriptase/replicase viral (NICHOL *et al.*, 1993; PLYUSNIN, 2002; FERREIRA, 2003; JONSSON *et al.*, 2010). O segmento M, com 3.600 a 3.800 nt, codifica uma única poliproteína que posteriormente é clivada nas proteínas presentes no envelope viral, Gn (glicoproteína aminoterminal) e Gc (glicoproteína carboxiterminal), relacionadas com a ligação à célula hospedeira (NICHOL *et al.*, 1993; PLYUSNIN, 2002; JONSSON *et al.*, 2010). O segmento S, com 1.300 a 2.100 nt (Figura 2), codifica a proteína N, proteína do nucleocapsídeo viral, a qual se apresenta como a proteína mais abundante durante o processo de replicação viral, altamente

imunogênica e a mais conservada, e que leva a uma forte reatividade cruzada de grupo, sendo, por isso, um antígeno adequado para utilização de triagem para infecção por hantavírus (NICHOL *et al.*, 1993; PLYUSNIN, 2002; PLYUSNIN *et al.*, 1996; RABONI *et al.*, 2007; JONSSON *et al.*, 2010).

Figura 2- Genoma dos membros do gênero *Hantavirus*. A figura mostra o tamanho aproximando do genoma do vírus, bem como, o peso molecular e quantidade de aminoácidos constituintes das proteínas (L, Gn, Gc e N).



Fonte: Adaptado de Travasso da Rosa, 2008.

Outros gêneros dentro da família *Bunyaviridae* (*Bunyavirus* e *Phlebovirus*), possuem uma proteína não estrutural (NSs). Contudo, existe controvérsia quanto à presença dessa proteína nos hantavírus, pois, já foi demonstrado para uma espécie de hantavírus (*Tula*) que a mesma apresenta uma proteína não estrutural, e especula-se que possa ter função inibitória para o sistema imunológico (VIRTANEN *et al.*, 2010). Os segmentos apresentam-se de forma circular, devido à complementariedade das sequências nucleotídicas terminais (JOHNSON *et al.*, 1999).

Por serem envelopados os hantavírus podem ser facilmente inativados por detergentes, solventes orgânicos, pelo calor e solução de hipoclorito. Tomando como exemplo o vírus *Uukuniemi*, membro da família *Bunyaviridae*, pode-se inferir que esses vírus possuem, quanto à composição química, 2% de RNA, 58% de proteínas, 33% de lipídeos e 7% de carboidratos (FIGUEIREDO, 1999).

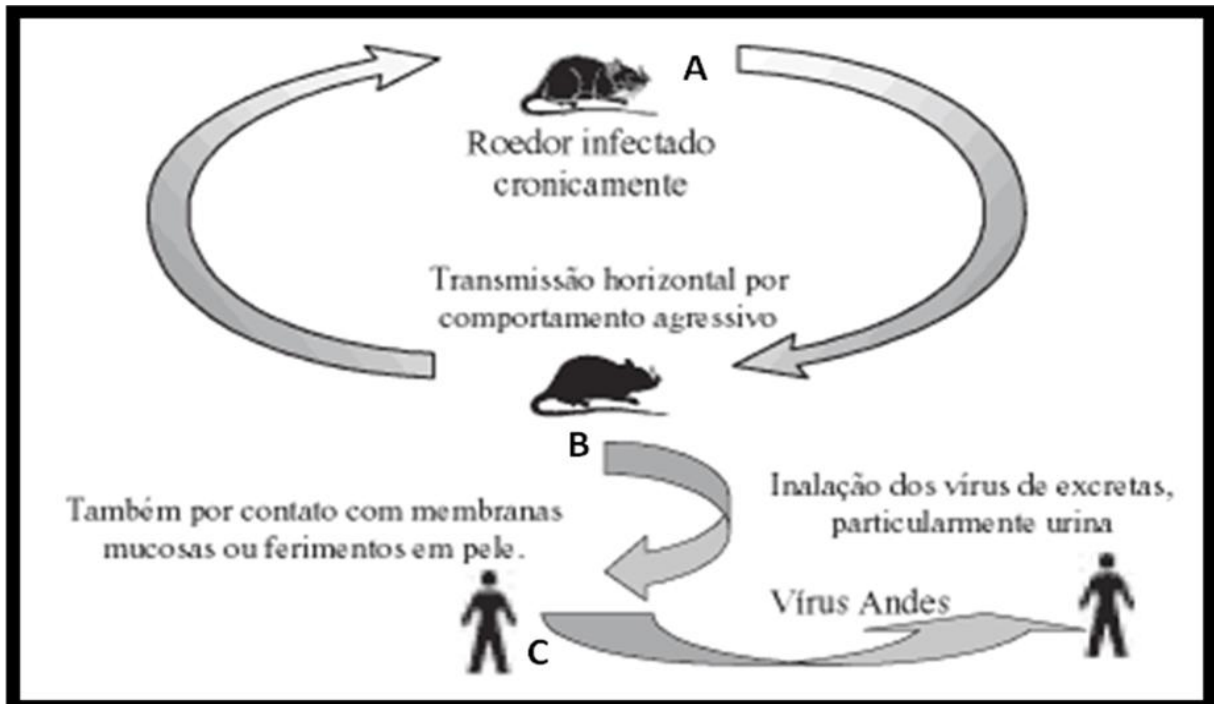
2.3- Transmissão

As hantaviroses são zoonoses, que tem como reservatórios roedores das subfamílias *Murinae*, *Arvicolinae*, *Sigmodontinae* e em uma espécie insetívora da ordem Soricomorpha e família Soricidae (*Suncus murinus*). Os hantavírus são mantidos na natureza pela presença de roedores cronicamente infectados. A transmissão horizontal, entre os roedores, pode ocorrer pelo comportamento agressivo, associado à alimentação, geralmente em períodos de escassez de alimentos. A transmissão entre os roedores também pode ser pela inalação de partículas virais aerossolizadas. Já foi evidenciada a transmissão horizontal entre animais de laboratórios pela presença de partículas virais no ar. Contudo, a transmissão vertical entre os roedores parece ser desprezível ou inexistente, tanto em condições de laboratório, quanto no meio selvagem (IVERSSON, 1996; MILLS *et al.*, 1997; LEDNICKY, 2003; SCHMALJOHN e NICHOL, 2007).

A transmissão para humanos ocorre, principalmente, devido à inalação de aerossóis de partículas virais presentes nas fezes, urina ou saliva de roedores infectados (Figura 3). Outras formas menos comuns de transmissão são: através da mordedura de roedores infectados; ingestão de água e alimentos contaminados por excretas de roedores infectados e pela inoculação na pele ou contato com as mucosas, com solução de continuidade, com locais contendo partículas virais (RUO *et al.*, 1994; CHILDS *et al.*, 1995; BI *et al.*, 2008).

A transmissão inter-humana é rara, sendo somente conhecidos os casos ocorridos na Argentina e no Chile. Em Bariloche, na Argentina, após contato com um indivíduo infectado na fase prodrômica com o vírus *Andes*, médicos e outros funcionários do hospital contraíram a doença, sendo que as infecções ocorreram por aerossóis ou contato com fômites contaminados. Após análise filogenética do material colhido desses casos, confirmou-se um novo modo de transmissão apresentado pelo vírus *Andes* (ENRIA *et al.*, 1996; WELLS *et al.*, 1997). Outro surto de transmissão inter-humana pelo vírus *Andes*, também foi diagnosticado no Chile (TORO *et al.*, 1998). Contudo, a hipótese de transmissão inter-humana foi também levantada no Brasil, após contágio de cinco pessoas de uma mesma família, no Estado de Santa Catarina (FUNASA, 2002).

Figura 3- Modos de transmissão das Hantaviroses. **A** – Representa a transmissão de roedor para roedor, principalmente pelo comportamento agressivo; **B**- Transmissão de roedores infectados para humanos, principalmente por aerossóis contendo partículas virais de urina, fezes ou saliva de roedores; **C**- Transmissão inter-humana, até o momento só documentada na Argentina e Chile, onde circula o vírus *Andes*.



Fonte: Adaptado de Pincelli *et al.*, 2003.

A transmissão vertical foi também verificada na espécie humana, na Coreia, onde duas mães transmitiram a infecção para seus fetos, levando ao aborto e morte fetal (LEE, 1989).

Em outras espécies de mamíferos, que não murinas, e em outros animais foram encontradas imunoglobulinas da classe IgG anti-hantavírus, como p. ex. gatos e cachorros (MALECKI *et al.*, 1998), raposas (ESCUTENAIRE e PASTORET, 2001), porcos (YANG *et al.*, 1998) e aves (SLONOVA *et al.*, 1992). Ainda, utilizando a PCR (Reação em Cadeia da Polimerase) foi possível identificar ácaros (ZHANG *et al.*, 2003), como também morcegos (WEISS *et al.*, 2012) portando o vírus. No entanto, ainda não se sabe se podem funcionar como reservatórios dos vírus ou se o achado trata-se de um *spillover* – hospedeiro secundariamente infectado pelo contato com o hospedeiro primário (TANG *et al.*, 1985; BI *et al.*, 2008).

2.4- Replicação dos *Hantavirus*

Os vírus da família *Bunyaviridae* iniciam a infecção pela ligação à membrana das células hospedeiras através da ligação das suas proteínas de superfície, Gn e Gc, às células de vertebrados e artrópodes, respectivamente (FIGUEIREDO, 1999).

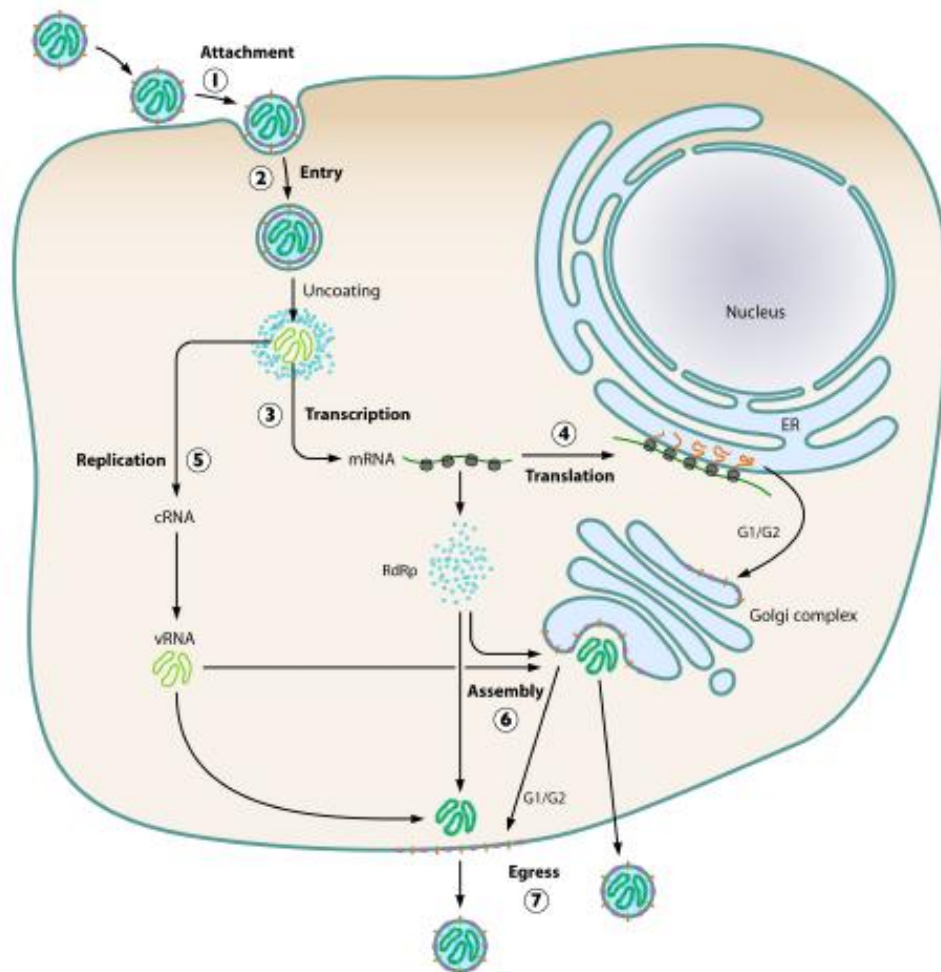
Os hantavirus infectam células endoteliais, epiteliais, macrófagos, células dendríticas foliculares, linfócitos, e plaquetas (JONSSON *et al.*, 2010). Estudos demonstram que a ligação dos vírus se dá, principalmente, pela ligação às integrinas $\beta 1$ e $\beta 3$, as quais são proteínas heterodiméricas, que compõem as *tigh-junctions*, que possuem a função de manutenção da integridade capilar e regulação da função plaquetária (MACKOW e GAVRILOVSKAYA, 2001). Os hantavirus não patogênicos utilizam $\beta 1$ integrinas como receptores celulares, já os patogênicos, causadores de FHSR e SPCVH, utilizam as $\beta 3$ integrinas (GAVRILOVSKAYA *et al.*, 1998, 1999; MACKOW e GAVRILOVSKAYA, 2001). A ligação às integrinas ocorre, principalmente, através da glicoproteína Gn, contudo, estudos demonstram que esses não são os únicos receptores envolvidos no processo de infecção (SONG *et al.*, 2005; MOU *et al.*, 2006).

Após a adesão, ocorre a penetração do vírus na célula e sua replicação ocorre, exclusivamente, no citoplasma da célula infectada (MURANYI *et al.*, 2005). O desnudamento viral é dependente de pH, que, após acidificação, ocorre alteração conformacional das glicoproteínas de superfície (Gn e Gc), levando à fusão do envelope viral com a membrana endossomal, com a posterior liberação dos nucleocapsídeos virais. Após a liberação do genoma viral protegido com a proteína N, inicia-se o processo de transcrição, na qual a RdRp é ativada e inicia-se o processo de transcrição primária do RNA tri-segmentado viral de polaridade negativa, transcrevendo-o em RNA de sentido positivo, que terá função de RNA mensageiro (SCHMALJOHN e NICHOL, 2007; JONSSON *et al.*, 2010).

O processo de tradução dos segmentos S e L ocorrem nos ribossomos livres no citoplasma, contudo, a tradução do segmento M ocorre em ribossomos associados à membrana do retículo endoplasmático rugoso (RER), onde ocorre a clivagem da poliproteína nas glicoproteínas Gn e Gc e sua glicosilação. Em seguida, as proteínas Gn e Gc são transportadas ao complexo de Golgi. Em um momento, não bem determinado ainda, a RdRp muda sua função de transcrição primária de RNAm para a replicação do genoma da progênie, quando ocorre a produção de um

cRNA a partir do vRNA. Para os hantavirus do Velho Mundo a montagem da partícula viral ocorre no complexo de Golgi, já nos vírus do Novo Mundo as glicoproteínas estão presentes na superfície da membrana plasmática da célula infectada, onde ocorre a montagem (RAVKOV *et al.*, 1997, 1998; RAVKOV e COMPANS, 2001). Finalmente as partículas são liberadas por exocitose -Figura 4- (SCHMALJOHN e HJELLE, 1997; HART e BENNETT, 1999; SCHMALJOHN e NICHOL, 2007; JONSSON *et al.*, 2010).

Figura 4- Esquema do ciclo replicativo dos hantavírus, onde ocorre: 1- ligação aos receptores celulares; 2- entrada do vírus com posterior desnudamento e liberação dos nucleocapsídeos virais; 3- Processo de transcrição, formação dos RNAs mensageiros virais; 4- Tradução dos transcritos nos ribossomos livres (S e L) ou no RER (M); 5- Replicação do genoma viral; 6- Montagem das partículas virais; 7- saída da célula por exocitose.



Fonte: Jonsson *et al.*, 2010.

2.5- Reservatórios

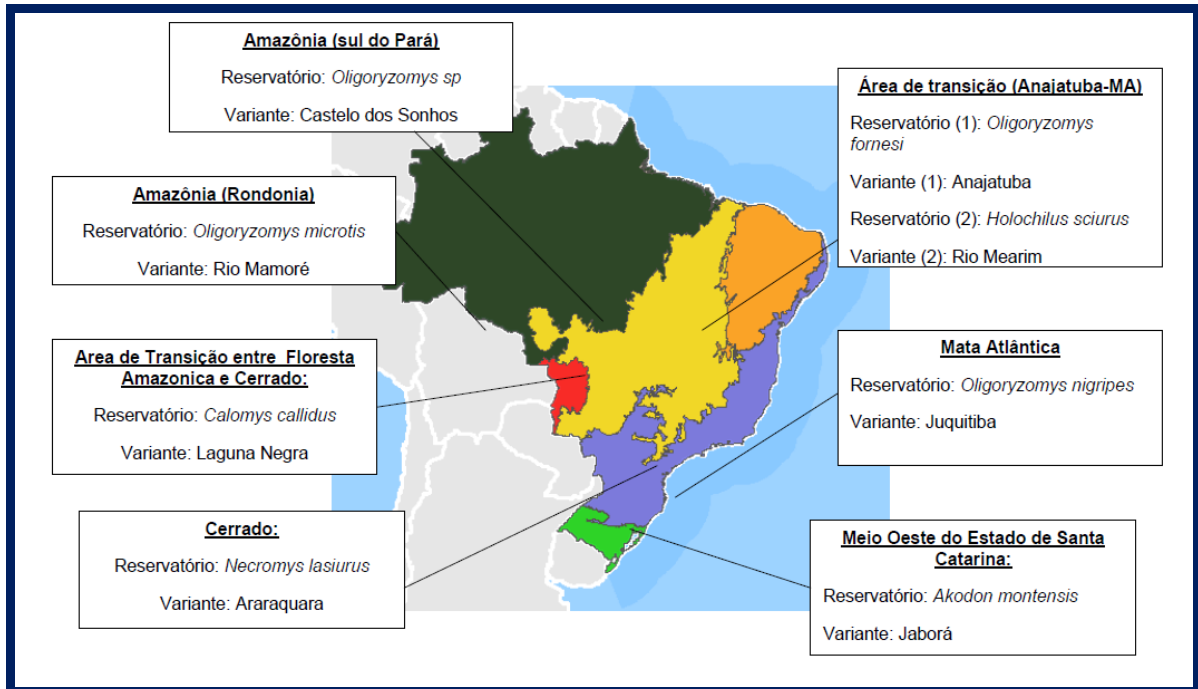
A infecção por hantavírus em roedores resulta em infecção persistente e pensava-se que todos os reservatórios apresentavam uma infecção assintomática. Contudo, estudos mais recentes indicam que pelo menos dois hantavírus, ambos no continente Americano, causam algum dano em seus roedores reservatório. Infiltrado imune em zona portal do fígado e edema alveolar dos septos pulmonares foram encontrados em *Peromyscus leucopus* infectados com o vírus *New York*. Achados parecidos também foram observados no *Peromyscus maniculatus* infectados com o *Sin Nombre* (LYUBSKY *et al.*, 1996; LYUBSKY *et al.*, 1999).

Porém, esses achados nessas espécies de reservatório não mimetizam a SPCVH em seres humanos, pois que são sinais bem mais brandos de infecção, e por isso esses roedores não podem ser utilizados como modelos para estudar a SPCVH. Há uma exceção: pesquisas indicam que o vírus *Andes* causa patologia semelhante à SPCVH em hamsters, podendo esses animais ser usados como modelo para estudo da doença (LYUBSKY *et al.*, 1996; LYUBSKY *et al.*, 1999; HOOPER *et al.*, 2001; LEDNICKY, 2003).

Várias espécies de roedores estão relacionadas com a transmissão da hantavirose no mundo. Os roedores das subfamílias *Murinae* e *Arvicolinae*, principalmente os gêneros *Apodemus* e *Clethionomys*, são os principais transmissores da FHSR na Europa e Ásia. Enquanto que os roedores da subfamília *Sigmodontinae* são responsáveis por transmitir a SPCVH nas Américas, sendo o principal reservatório nos Estados Unidos e Canadá o *Peromyscus maniculatus*, na Argentina e Chile o *Oligoryzomys longicaudatus* e no Paraguai o *Calomys laucha* (FERREIRA, 2003; SUZUKI *et al.*, 2004; TISCHLER *et al.*, 2005; FIGUEIREDO *et al.*, 2009; JONSSON *et al.*, 2010). Cada vírus está associado, primariamente, a uma espécie de roedor ou gênero (HJELLE *et al.*, 1995).

O Brasil por ser o maior país da América Latina, com um predomínio de clima tropical e uma elevada biodiversidade, possui aproximadamente 450 das 540 espécies de roedores da subfamília *Sigmodontinae* conhecidos (JONSSON *et al.*, 2010). No Brasil as duas espécies mais importantes são o *Necromys lasiurus*, o qual está amplamente distribuído em toda região de cerrado do Brasil, e o *Oligoryzomys nigripis* na região de mata atlântica (Figura 5) (TRAVASSO DA ROSA, 2008; JONSSON *et al.*, 2010). Ambas as espécies são encontradas em Alagoas (WEKSLER e BONVICINO, 2005; BONVICINO *et al.*, 2008).

Figura 5- Distribuição dos roedores reservatórios de hantavírus e variantes virais de acordo com os biomas brasileiros.



Fonte: Nunes,2010.

No Brasil também são encontradas outras espécies de roedores que portam outros hantavírus, p. ex. *Akodon montensis* (Virus Jaborá), *Calomys laucha* (Laguna Negra), *Holochilus sciureus* (Anajatuba), *Olygoryzomys fornesi* (Rio Mearim). Contudo, ainda podem existir outras espécies de roedores e de vírus ainda não conhecidos (FERREIRA, 2003; JONSSON *et al.*, 2010).

2.6- Manifestações clínicas

A infecção por hantavírus no homem pode evoluir silenciosamente ou apresentar-se de duas formas clínicas distintas. Os hantavírus do Velho Mundo são associados à doença denominada Febre Hemorrágica com Síndrome Renal (FHSR), enquanto que no Novo Mundo a doença é designada como Síndrome Pulmonar e Cardiovascular por Hantavírus - SPCVH- (VAPALAHTI *et al.*, 2003).

Apesar da dicotomia das formas clínicas de apresentação da hantavirose separadas por áreas geográficas (Velho e Novo Mundo) aceitas até o presente, pesquisas recentes realizadas na Europa têm sugerido uma quebra neste paradigma. Isto porque danos pulmonares e cardíacos são comumente encontrados durante a fase aguda da FHSR, sendo ainda mais comuns na Nefropatia Epidêmica

(NE) causada pelo hantavírus *Puumala* (LINDERHOLM *et al.*, 1992; KANERVA *et al.*, 1996; MÄKELÄ *et al.*, 2009; RASMUSON *et al.*, 2011). Dessa forma, tem sido cada vez mais sugerido a hipótese de que os hantavírus da Europa também podem causar doença semelhante aos hantavírus do continente Americano (LINDERHOLM *et al.*, 1992; KANERVA *et al.*, 1996; MURANYI *et al.*, 2005; PULJIZ *et al.*, 2005; MÄKELÄ *et al.*, 2009; RASMUSON *et al.*, 2011). Devido ao aumento crescente de relatos sobre FHSR com envolvimento pulmonar e de SPCVH com comprometimento renal, alguns autores supõem que essas duas síndromes irão convergir futuramente (MURANYI *et al.*, 2005; RASMUSON *et al.*, 2011).

2.6.1- FHSR

Apresenta mortalidade de 0,1% a 15% e caracteriza-se por apresentar um período de incubação de aproximadamente três semanas, variando de 10 dias a seis semanas (JONSSON *et al.*, 2010), podendo apresentar cinco fases distintas na forma grave da doença: febril, hipotensiva, oligúrica, diurética e de convalescença (TSAI, 1989).

Fase febril: Febre alta de até 40 °C de início repentino, calafrios, prostração e mialgias generalizadas. Sintomas como cefaleia frontal e retrorbital são característicos, bem como dores lombares e abdominais, simulando um quadro abdominal agudo. Em média, do terceiro ao quinto dia o paciente apresenta proteinúria acompanhada de leucocitose e plaquetopenia. A hemorragia caso ocorra, apresentar-se-á nessa fase (TSAI, 1989; HJELLE *et al.*, 1995; MURANYI *et al.*, 2005).

Fase hipotensiva: Tem desenvolvimento abrupto e pode durar de horas a três dias. Em casos moderados a pressão retorna aos níveis normais em algumas horas, já nos casos mais graves a hipotensão leva ao choque, o qual é responsável por mais de 33% dos óbitos (TSAI, 1989). Normalmente, a maioria dos sintomas da fase febril persiste durante esta fase, com exceção da cefaleia, que em geral desaparece. Os dados laboratoriais mostram grande proteinúria, hematócrito elevado, hematúria e plaquetopenia (TSAI, 1989; HJELLE *et al.*, 1995; MURANYI *et al.*, 2005).

Fase oligúrica: Normalmente, dura de três a sete dias, na qual a característica principal é a oligúria persistente, menos que 400 ml por dia. Nesta fase a pressão volta aos níveis normais e ocorre uma melhora da função renal (TSAI, 1989; HJELLE *et al.*, 1995; MURANYI *et al.*, 2005; JONSSON *et al.*, 2010).

Fase diurética: Pode persistir por dias ou semanas, nesta fase observa-se melhora da função renal. Alguns pacientes podem apresentar evolução desfavorável devido à desidratação (TSAI, 1989; HJELLE *et al.*, 1995).

Fase de convalescença: Possui duração de dois a três meses, na qual, raramente, alguns pacientes podem apresentar insuficiência renal crônica e problemas no sistema nervoso central (TSAI, 1989).

A FHSR faz diagnóstico diferencial com moléstias que cursam com febre hemorrágica, como malária grave, leptospirose, septicemia (bactérias Gram-negativas), hepatite B, intoxicações exógenas, dengue hemorrágico e febre amarela (BRASIL, 2005a).

2.6.2- SPCVH

A SPCVH é mais severa que a FHSR, sendo que no Brasil a letalidade é em torno de 39% (FIGUEIREDO *et al.*, 2010) está associada com um início súbito de insuficiência respiratória e choque cardiogênico (JONSSON *et al.*, 2010).

A doença apresenta um período de incubação de 3 a 33 dias, com média de 14 a 17 dias (BORGES e FIGUEIREDO, 2007). Clinicamente a SPCVH pode ser dividida em quatro fases: febril/prodrômica, cardiopulmonar, diurética e de convalescência – Figura 6- (ENRIA *et al.*, 2001; PINCELLI *et al.*, 2003).

Figura 6- Curso clínico da SPCVH.

Fases	Pródromos	Cardiopulmonar	Diurese	Convalescência
Febre Mialgia				
Edema Pulmonar				
Choque				
Linfócitos atípicos		++		
↓ Plaquetas	±	+++++		
↑ Hematócrito	±	+++++		
↑ Aspartato aminotransferase	±	+++++		
↑ Desidrogenase láctica	±	+++++		
↑ Tempo parcial de tromboplastina	±	+++++		

Fonte: Raboni, 2006.

Fases febril/prodrômica: Nessa fase os pacientes não apresentam dor de garganta, coriza ou outros sintomas respiratórios. Neste período o paciente apresenta sinais inespecíficos como: febre, cefaleia, astenia, mialgia, principalmente na região dorso-lombar, dor abdominal, náusea, vômito e queda do estado geral. No fim da fase aparece a tosse não produtiva, taquipneia e inicia-se o edema pulmonar (ENRIA *et al.*, 2001; BRASIL, 2005b; CAMPOS *et al.*, 2009).

Fase Cardiopulmonar: Normalmente, após o terceiro dia de doença a tosse seca progride para uma tosse produtiva, frequentemente com eliminação de escarro róseo, e uma dispneia de intensidade leve, porém, na maioria dos casos, evolui para uma insuficiência respiratória grave, em menos de um dia (PINCELLI *et al.*, 2003). O progressivo extravasamento de líquido com elevada concentração de proteínas da circulação sanguínea para o interstício pulmonar e alvéolos resulta em hipovolemia, a qual contribui para o choque (ENRIA *et al.*, 2001).

Fase diurética: O início desta terceira fase é determinado pelo aumento da diurese espontânea, caracterizando-se pela resolução da febre, eliminação rápida de líquidos acumulados no espaço extravascular, levando ao clareamento do edema pulmonar e fim do choque (ENRIA *et al.*, 2001; BRASIL, 2005b).

Fase de convalescença: Este período pode durar duas semanas ou mais. Observa-se uma melhora progressiva dos sinais e sintomas e lenta recuperação das alterações hemodinâmicas e da função respiratória. Alguns pacientes podem apresentar uma restrição da função pulmonar e fadiga crônica (ENRIA *et al.*, 2001; PINCELLI *et al.*, 2003; BRASIL, 2005b).

A SPCVH faz diagnóstico diferencial com várias doenças, incluindo: dengue e as outras febres hemorrágicas, leptospirose, septicemias, viroses respiratórias, pneumonias atípicas (*Legionella sp*, *Mycoplasma sp*, *Chlamydia sp*) e histoplasmose pulmonar (BRASIL, 2005a).

Os achados laboratoriais da SPCVH apesar de não característicos podem levar ao diagnóstico de um caso da doença. No hemograma, as alterações laboratoriais mais encontradas, durante o período agudo da doença, são: presença de linfócitos atípicos, hematócrito elevado, leucocitose com desvio a esquerda e trombocitopenia, sendo considerados estes três últimos achados como a tríade da

infecção (FIGUEIREDO *et al.*, 2001; FERREIRA, 2003; RIQUELME *et al.*, 2003; LIMONGI *et al.*, 2007; CAMPOS *et al.*, 2009). Contudo, a plaquetopenia e a hemoconcentração são consideradas como as principais referências para uma suspeita de SPCVH (CAMPOS *et al.*, 2009).

O exame radiológico do tórax dos pacientes com SPCVH mostra-se altamente sugestivo, portanto, de grande importância para o diagnóstico (FIGUEIREDO *et al.*, 2001). Na radiografia pode-se observar o aparecimento rápido de edema pulmonar, em horas ou poucos dias após o aparecimento dos sintomas respiratórios (HJELLE *et al.*, 1995). No período prodrômico a radiografia pode ser normal, independentemente, do aparecimento de sintomas respiratórios (FERREIRA, 2003). Na radiografia do tórax pode-se observar um padrão de acometimento bilateral intersticial difuso. Caso ocorra agravamento do caso, há uma evolução para um infiltrado alveolar (FIGUEIREDO *et al.*, 2000; LIMONGI *et al.*, 2007; CAMPOS *et al.*, 2009).

2.7 – Hantavirose no Brasil

Apesar das evidências prévias da presença de hantavírus no Brasil, a primeira notificação de casos e de mortes devido a este patógeno no país aconteceu somente em 1993, quando três irmãos que residiam em uma área de desmatamento, na região de Juquitiba/SP, apresentaram a SPCVH e dois evoluíram para óbito, sendo esse novo vírus denominado *Juquitiba* (IVERSON *et al.*, 1994).

Em 1995 e 1996 houve mais três casos diagnosticados de hantavirose no Brasil. O primeiro, um paciente do Vilarejo de Castelo dos Sonhos/PA e os outros dois casos ocorreram nos municípios de Araraquara e Franca, ambos no interior de São Paulo (SP). Posteriores análises filogenéticas demonstraram tratar-se de duas novas espécies de hantavírus, sendo denominadas de *Castelo dos Sonhos* e *Araraquara*, respectivamente (JOHNSON *et al.*, 1999).

Após os casos diagnosticados em São Paulo, outros estados também diagnosticaram casos de infecção por esses vírus em seres humanos, tais quais: Pará (1995), Bahia (1996), Minas Gerais, Rio Grande do Sul (1998), Rio Grande do Norte, Paraná, Santa Catarina e Mato Grosso (1999), Maranhão, Goiás (2000), e, finalmente, em 2004, Rondônia, Amazonas e Distrito Federal (Tabela 1; SINAM/SVS/MS, 2011). A infecção humana já foi identificada em 14 unidades

federativas e no Distrito Federal, contudo, pesquisadores já demonstraram a presença de roedores infectados em outros estados onde a doença ainda não foi notificada (OLIVEIRA *et al.*, 2009; CHIORATTO *et al.*, 2010; SINAM/SVS/MS, 2011; VICENTE *et al.*, 2011).

Segundo a SVS/MS, no Brasil, no período de novembro de 1993 a novembro de 2011, foram confirmados 1.502 casos. A região Sul notificou o maior número dos casos (535), seguida pelas regiões Sudeste (441), centro-oeste (381), Norte (89) e Nordeste (14), na qual pode perceber que nenhum caso foi registrado na maioria dos estados, como p. ex. em Alagoas – Tabela 1 – (SINAM/SVS/MS, 2011).

Tabela 1- Casos confirmados de Hantavirose. Brasil, Grandes Regiões e Unidades Federadas. 1993 a 2011*.

UF	1993	1994	1995	1996	1997	1998	1999	2000	2001	2002	2003	2004	2005	2006	2007	2008	2009	2010	2011	TOTAL
NORTE	-	-	1	-	-	-	-	1	1	-	2	6	1	1	1	1	1	4	6	<u>89</u>
Rondônia	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	1	1	-	-	-	3
Acre	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0
Amazonas	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	3	1	-	-	-	-	-	1	5
Roraima	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0
Pará	-	-	1	-	-	-	-	1	1	-	2	2	9	1	9	1	1	4	5	81
Amapá	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	7	5	-	-	0
Tocantins	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0
NORDESTE	-	-	-	1	-	-	1	1	3	-	4	-	-	2	-	1	1	-	-	<u>14</u>
Maranhão	-	-	-	-	-	-	-	1	2	-	4	-	-	2	-	1	1	-	-	11
Piauí	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0
Ceará	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0
Rio Grande do Norte	-	-	-	-	-	-	1	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2
Paraíba	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0
Pernambuco	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0
Alagoas	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0
Sergipe	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0
Bahia	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1
SUDESTE	3	-	-	2	-	7	1	1	1	2	3	4	5	4	4	3	3	4	2	<u>441</u>
Minas Gerais	-	-	-	-	-	2	3	9	5	1	2	3	3	3	2	1	2	2	9	267
Espírito Santo	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0
Rio de Janeiro	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0
São Paulo	3	-	-	2	-	5	1	1	8	1	1	1	1	9	2	1	1	2	1	174
SUL	-	-	-	-	-	4	1	3	5	3	3	5	7	7	2	3	3	4	2	<u>535</u>
Rio Grande do Sul	-	-	-	-	-	4	4	1	6	7	2	8	3	1	4	9	1	8	3	89
Santa Catarina	-	-	-	-	-	-	1	5	1	1	1	4	2	5	1	1	1	1	1	243
Paraná	-	-	-	-	-	-	7	2	3	1	1	1	4	1	6	1	1	1	5	203
CENTRO OESTE	-	-	-	-	-	-	3	3	1	1	7	4	3	5	4	3	4	7	1	<u>381</u>
Mato Grosso do Sul	-	-	-	-	-	-	-	-	0	2	-	5	2	9	2	5	8	3	2	0
Mato Grosso	-	-	-	-	-	-	3	2	1	1	5	9	1	4	2	2	2	4	6	232
Goiás	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	2	9	5	5	6	1	1	1	2	65
Distrito Federal	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2	1	5	7	3	9	1	4	84
Indet/Ignorada	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	1	4	-	1	7	3	4	8	1	42
BRASIL	3	-	1	3	0	1	2	5	7	7	8	1	1	1	1	1	1	1	7	<u>1502</u>
						1	9	5	9	4	4	6	6	9	3	2	3	7	6	
											3	6	1	2	8	4	3			

Fonte: SINAM/SVS/MS, 2011. * Dados atualizados em 10/11/2011.

3 JUSTIFICATIVA

As doenças zoonóticas emergentes, fruto da crescente urbanização e do aumento da atividade humana no ecossistema, surgem como importante problema de saúde pública no mundo. Tais doenças se devem principalmente à degradação ambiental, que destroi o habitat de várias populações animais - vetores de doenças-, expondo o homem a uma série de novos agentes patogênicos. Uma das zoonoses que emergiram nas Américas a partir da degradação ambiental foi a hantavirose. Essa doença é de notificação compulsória e possui uma taxa de letalidade de 39%, aproximadamente. Há quase duas décadas, infecções humanas e murinas por hantavírus têm sido registradas em todas as Regiões brasileiras. Embora assintomática em animais, a infecção por hantavírus em seres humanos pode causar doença grave e altamente letal.

Em Alagoas, nos últimos anos, houve intensa substituição da mata nativa pela monocultura de cana-de-açúcar, o que pode favorecer a proliferação de roedores transmissores de hantavírus. Neste Estado, até o momento não se registrou nenhum caso humano confirmado de hantavirose, apesar de o mesmo possuir condições potenciais para a circulação viral. Em Alagoas é conhecida a presença dos dois principais roedores transmissores de hantavírus, as espécies *Necromys lasiurus* e o *Oligoryzomys nigripis*. Segundo metas da Secretaria de Vigilância em Saúde do Ministério da Saúde, é importante realizar vigilância epidemiológica para hantavírus, mesmo em áreas silenciosas como a do Estado de Alagoas, para melhor se conhecer a distribuição geográfica dos hantavírus circulantes no Brasil, o perfil epidemiológico da população exposta e permitir o planejamento de programas de prevenção e de controle.

Desse modo, este trabalho propôs realizar uma busca ativa para detecção de infecções humanas por hantavírus em Alagoas, oferecendo diagnóstico laboratorial a pacientes que possam estar sendo acometidos pela infecção e sendo confundidos com outras enfermidades.

4 OBJETIVOS

4.1- Objetivo Geral:

Investigar a ocorrência de infecções humanas por hantavírus no Estado de Alagoas de julho de 2010 a setembro de 2011.

4.2- Objetivos Específicos

- Verificar a presença de anticorpos IgM e IgG anti-hantavírus em pacientes com suspeita clínica de doença febril respiratória ou febril hemorrágica, que se enquadrem nos critérios de suspeita clínica de hantavirose, atendidos em hospitais de Maceió;
- Investigar a presença de anticorpos IgM e IgG anti-hantavírus em soros de pacientes com suspeita clínica de doenças com diagnóstico diferencial para hantavirose, encaminhados pelo LACEN - Alagoas;
- Verificar a ocorrência de reações cruzadas entre anticorpos anti- *Trypanosoma cruzi* e anti-*Leishmania sp.* e a proteína N recombinante do hantavírus *Araraquara*;
- Realizar um estudo piloto para inquérito sorológico para pesquisa de anticorpos de memória imunológica da classe IgG anti-hantavírus em trabalhadores rurais da Usina Coruripe, em Coruripe, Alagoas.

5 METODOLOGIA

5.1- Aspectos éticos

A presente pesquisa foi aprovada pelo Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) da Universidade Federal de Alagoas, sob o protocolo nº 23065.009350/2010-62 (Anexo 1).

5.2- População de estudo

Trata-se de um estudo descritivo, observacional e transversal, no qual se realizou uma busca ativa de casos de hantavirose, em pacientes com suspeita clínica da mesma, que estavam internados nos seguintes hospitais de Maceió: Hospital Escola Dr. Helvio Auto (HEHA), que é o hospital de referência para doenças infecciosas do Estado; Hospital Universitário Professor Alberto Antunes; Santa Casa de Misericórdia de Maceió; Centro de Nefrologia de Maceió (CENEFROM) e Hospital Arthur Ramos.

Também fez parte da pesquisa amostras séricas encaminhadas pelo LACEN-AL, provenientes de pacientes suspeitos de outras enfermidades, tais como leptospirose e dengue, cujos sintomas apresentados poderiam ser confundidos com os da hantavirose (diagnóstico diferencial).

Amostras de soro coletadas de pacientes portadores de Doença de Chagas e de outros portadores de leishmaniose visceral, atendidos no HEHA, ou enviadas ao LAPEVI pelo LACEN-AL, foram também incluídas no estudo, para a investigação da presença de anticorpos de reatividade cruzada frente a proteína N recombinante do hantavírus *Araraquara* (rN ARAV), que é utilizada no ensaio de ELISA (*Enzyme Linked Immunosorbent Assay*, item 5.6.1).

Ainda, foi realizada coleta de soros de trabalhadores rurais da Usina Coruripe, em Coruripe-AL, para a busca de anticorpos de memória IgG anti-hantavírus numa população saudável, com intuito de realizar um estudo piloto de inquérito sorológico.

5.3- Delineamento do estudo

Diariamente no HEHA e semanalmente nos demais hospitais participantes do estudo, no período de Julho de 2010 a setembro de 2011, foram realizadas buscas da presença dos critérios, nos prontuários dos pacientes internados, que se

enquadrassem como suspeitos de hantavirose. Para tanto, utilizou-se critérios clinicolaboratoriais previamente definidos, que são descritos no item 5.4.

Os pacientes considerados potencialmente suspeitos para hantavirose eram convidados a participar do estudo, após uma breve explicação da doença e da pesquisa, os quais assinavam o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) (Apêndice A), em duas vias. Caso se tratasse de pacientes menores de idade era solicitada a autorização ao seu responsável, que assinava o TCLE (Apêndice B). A seguir, coletava-se uma amostra sanguínea por meio de punção venosa, utilizando-se tubos a vácuo (Vacutainer®) de 10 ml sem anticoagulante e agulha hipodérmica (25x7mm) descartáveis. Após 30 minutos para a formação do coágulo, os tubos eram mantidos a 4°C em caixas de isopor, até o transporte para o laboratório. A seguir, os tubos eram centrifugados a 3.000 rpm por 10 minutos, para separação do soro, que foi dividido em alíquotas e mantidas a -20°C até as análises imunoenzimáticas (ELISA). Sempre que possível, o material era analisado por ELISA no mesmo dia da coleta. As alíquotas eram identificadas com a letra “H” (humano) seguindo uma sequência numérica única e crescente para cada paciente, para registro interno do laboratório.

5.4- Definições de casos suspeitos

Os critérios utilizados para incluir os sujeitos na pesquisa foram designados com base no que é descrito na literatura para suspeita clínica de hantavirose (ELKHOURY *et al.*, 2005; CAMPOS *et al.*, 2009; BRASIL, 2010), bem como, no que é preconizado pelo Ministério da Saúde para definição de “Caso de SPCVH” e, ainda, com base no diagnóstico diferencial desta doença com outras enfermidades clinicamente semelhantes, como: leptospirose, dengue e H1N1. Assim, os critérios foram:

- a) Paciente com febre acima de 38°C, mialgia e cefaleia e sinais e sintomas de insuficiência respiratória aguda de etiologia não determinada;
- b) Paciente com insuficiência renal aguda;
- c) Paciente com suspeita de leptospirose;
- d) Paciente com pneumonia atípica;

- e) Paciente com suspeita de H1N1, dispnéicos, que estavam internados com insuficiência respiratória;
- f) Paciente com suspeita de dengue, que apresentavam edema pulmonar ou cuja pesquisa da proteína não estrutural 1 (NS1) e/ou IgM foram negativas;
- g) Paciente com leptospirose confirmada por ELISA pelo LACEN-AL.

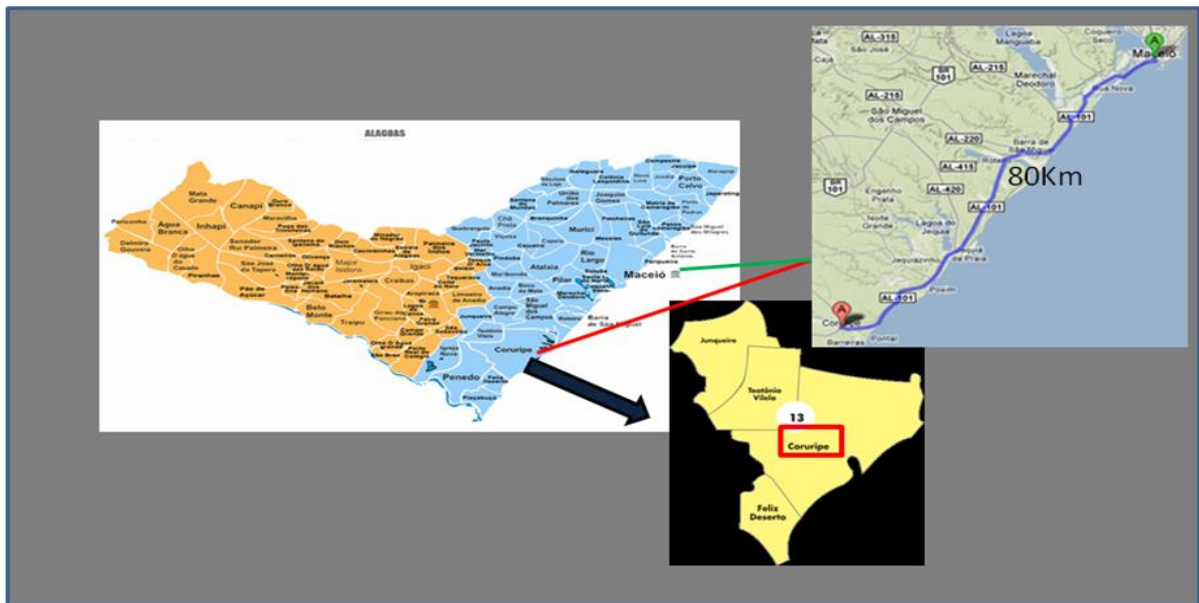
Como critério de exclusão foi adotado o seguinte: a não assinatura do TCLE.

5.5. Estudo piloto para inquérito sorológico para hantavírus

5.5.1- Local do estudo piloto do inquérito

A pesquisa de anticorpos de memória (IgG) contra hantavírus foi realizada com trabalhadores rurais da Usina Coruripe, localizada no município de Coruripe/AL. A Usina foi fundada em 1925, tendo como atividades a produção de açúcar, álcool e energia, sendo a maior indústria produtora de açúcar e álcool do Norte-Nordeste. A Usina possui aproximadamente 1.000 trabalhadores regulares, com atividade de contato direto com o campo, que permanecem trabalhando mesmo no período de entressafra, de abril a setembro. O município de Coruripe está situado na Meso Região da Mata Atlântica Alagoana e na 13ª Microregião, distante 80 km da capital Maceió (Figura 7). Possui clima sub-úmido, característico de zona litorânea, com uma área de 1.002 km². É o segundo maior município de Alagoas em dimensão territorial, sua temperatura média anual é de 24,4 °C e possui uma população de 44.313 habitantes segundo estimativa do IBGE (2010). A economia do Estado está baseada na cana-de-açúcar, no coco, no turismo e na exploração do gás natural.

Figura 7- Localização do município de Coruripe em Alagoas e sua distância de Maceió.



Fonte: <http://www.google.com.br/imgres>.

5.5.2- Delineamento do piloto do inquérito sorológico

Os inquéritos sorológicos são utilizados para pesquisar antígenos, anticorpos ou outros elementos do sangue de indivíduos provenientes de uma população aparentemente sadia. Esse tipo de desenho pode ser utilizado para determinar a frequência ou identificar determinada patologia numa população em estudo (PEREIRA, 1995).

Um estudo piloto de um inquérito sorológico foi realizado com o intuito de determinar a existência de anticorpos anti-hantavírus numa população com risco de infecção. Para tanto, foram realizadas palestras de esclarecimento e sensibilização dos trabalhadores sobre hantavirose, meios de transmissão e prevenção, nas próprias dependências da Usina Coruripe. Após assistirem as palestras aqueles trabalhadores que concordaram em fazer parte da pesquisa, assinaram o TCLE (apêndice C) e em seguida foram coletadas informações pessoais (Figura 8).

Figura 8- Cadastro dos trabalhadores e coleta das informações pessoais.



Fonte: Arquivo pessoal.

Após assinarem o TCLE e serem entrevistados, foram realizadas as coletas sanguíneas, por profissionais da área de saúde (Farmacêuticos, Biomédicos, Biólogos e Enfermeiros) voluntários no estudo. Utilizou-se para o procedimento tubos a vácuo (Vacutainer®) de 5 mL sem anticoagulante e agulhas de coleta a vácuo (25x7mm) descartáveis. Após a coleta do material, o mesmo permaneceu a temperatura ambiente por 30 minutos, para coagulação, e em seguida foi armazenado em caixas de isopor com gelo. Todo o material foi transportado para o LAPEVI/ICBS/UFAL, onde foi centrifugado a 3.000 rpm por 10 minutos e separado em três alíquotas, que foram estocadas a -20°C até o uso. As alíquotas foram identificadas com a letra “C” (Coruripe) seguindo uma sequência numérica única e crescente para cada participante.

5.6- Técnica sorológica utilizada na pesquisa de anticorpos

Os soros humanos provenientes dos casos suspeitos de SPCVH e/ou FHRS foram submetidos ao teste imunoenzimático (ELISA) visando a detecção de imunoglobulinas das classes IgM e IgG.

Para o inquérito sorológico realizou-se somente a pesquisa da imunoglobulina da classe IgG (anticorpo de memória imunológica).

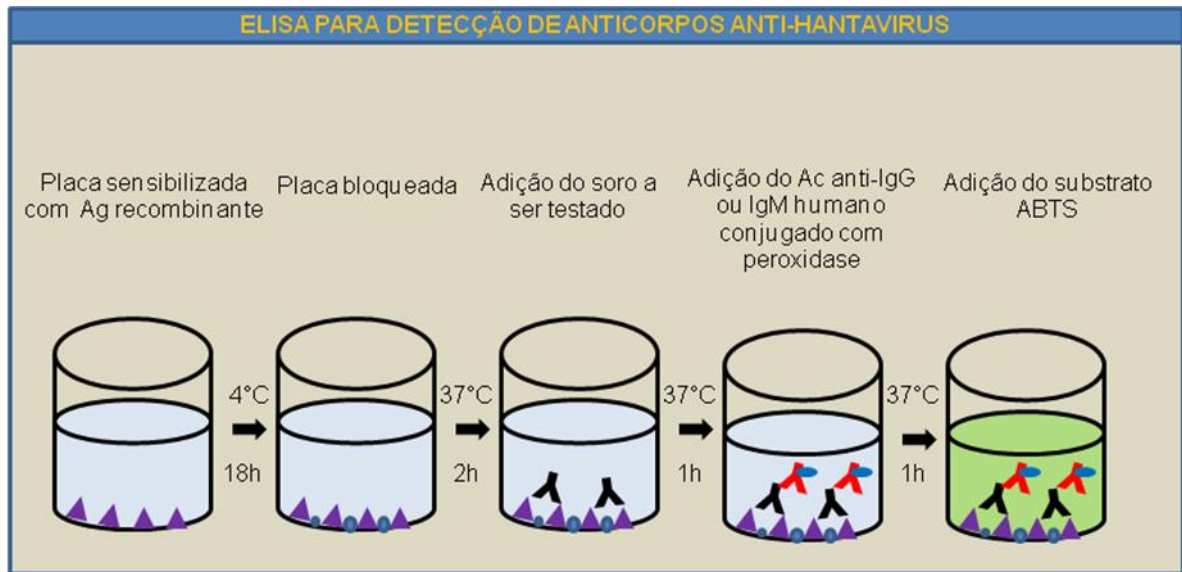
Esse ensaio foi realizado utilizando-se a proteína N recombinante do hantavírus brasileiro *Araraquara* (rN ARAV), desenvolvida pela expressão do gene completo S em *Escherichia coli*, conforme protocolo descrito por Moreli (2005). O teste possui alta sensibilidade (97.2%), especificidade (100%), valor preditivo

positivo positivo (100%) e valor preditivo negativo (98.1%) (FIGUEIREDO *et al.*, 2009). A proteína recombinante foi gentilmente cedida pelo Prof. Dr. Luiz Tadeu Moraes Figueiredo, do CPV-FMRP-USP.

5.6.1- ELISA qualitativo

Inicialmente microplacas rígidas de poliestireno com 96 poços de fundo chato (Greiner Bio-one, Alemanha) tiveram metade de seus poços (parte superior) cobertos com rN ARAV (poços: A, B, C, D de 1 a 12) e outra metade (parte inferior) com o extrato de *E.coli* (antígeno-negativo da reação; poços: E, F, G, H de 1 a 12), na mesma concentração, 2 µg/ml, em solução tampão Carbonato-Bicarbonato 0,05M, pH 9,6, com um volume de 50 µl/poço. Nos poços H11 e H12 não se adicionou qualquer um dos antígenos, pois foram considerados brancos. As microplacas foram incubadas em câmara úmida a 4°C, por 18 horas, onde após esse período foram lavadas 6 vezes com PBS (0,01M PO₄= 0,14 M NaCl pH7,4), contendo 0,05% de Tween 20 (PBS-T). Após a lavagem, as microplacas receberam 150 µl de solução de bloqueio em cada poço, composta por leite em pó desnatado (LPD), 20g, em 200 ml (solução 10%) de PBS-T. Em seguida, as placas foram incubadas a 37°C por 2 horas. Posteriormente, as microplacas foram lavadas 6 vezes com PBS-T e a seguir adicionados os soros a serem testados em duplicata diluídos 1:100 em solução de bloqueio. Adicionou-se também soro sabidamente reativo para hantavírus (controle positivo), oriundo de pacientes com SPCVH e soro sabidamente não-reativo (controle negativo) procedente de pessoas que nunca tiveram contato com o vírus (previamente testados), diluídos 1:100. Cada soro foi colocado na microplaca em duplicata, em volume de 50 µl/poço. Em seguida, a placa foi incubada por 1 hora, a 37° C, em câmara úmida e a seguir lavada 6 vezes com PBS-T. Após a lavagem adicionou-se 50µl/poço do anticorpo anti-IgG ou anti-IgM humano conjugado a peroxidase (Sigma, EUA), na diluição 1:2000, em PBS-T com 10% de LPD, sendo posteriormente a placa incubada por 1 hora à 37°C em câmara úmida e a seguir lavada 6 vezes e em seguida adicionado o substrato enzimático de peroxidase ABTS (2,2'-Azinobis [3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid]-diammonium salt; Invitrogen®, EUA), 100 µl/poço, a qual, novamente, foi incubada a 37°C por 20 minutos. Após surgimento da cor esverdeada a reação foi bloqueada com 50 µL/poço de solução de HCl 1M (Figura 9).

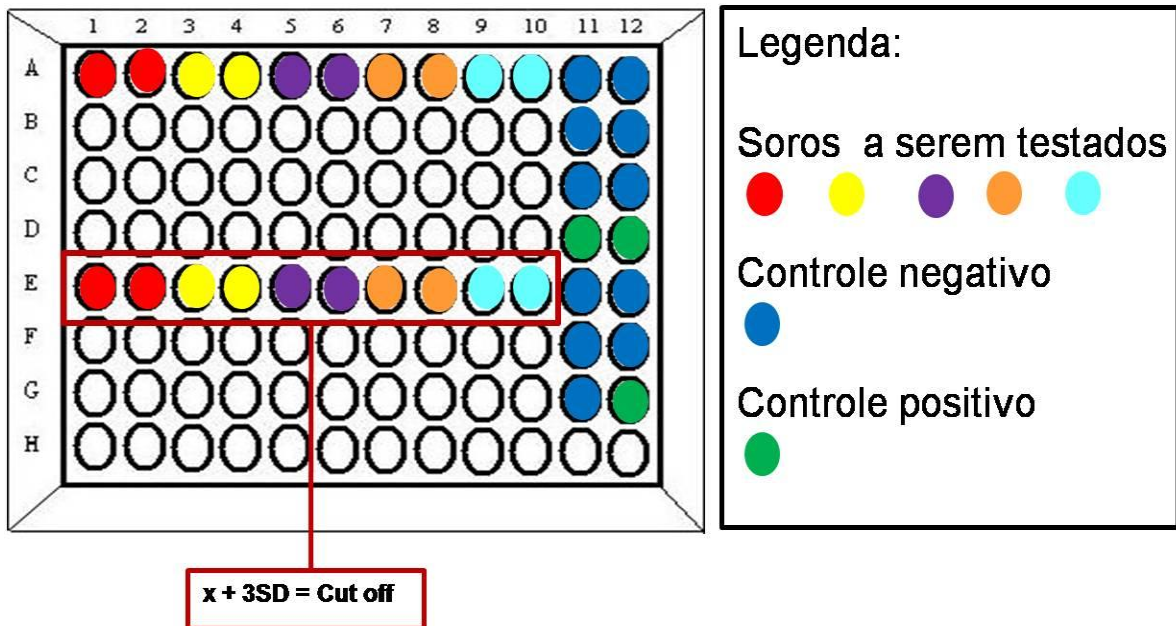
Figura 9- Esquema da técnica de ELISA para detectar anticorpos IgM ou IgG.



Fonte: Arquivo pessoal.

A leitura das densidades ópticas (D.O.s) das microplacas foi realizada em espectrofotômetro leitor de ELISA com filtro de 405 nm. As D.O.s obtidas dos soros oriundos dos orifícios sensibilizados com rN ARAV tiveram subtraídos os valores obtidos para os mesmos soros que reagiram frente ao antígeno negativo, resultando nas D.O.s líquidas. O ponto de corte determinante dos soros positivos (*cut off*) foi determinado a partir da média das réplicas para cada diluição de soros adicionados no antígeno negativo acrescidos de 3 desvios-padrão (Figura 10). Sendo considerados positivos, aqueles cujas D.O.s líquidas foram maiores que o valor do ponto de corte.

Figura 10- Esquema de uma placa de ELISA após adição dos soros.



Fonte: Arquivo pessoal.

5.6.2- ELISA semiquantitativo

As amostras reagentes foram tituladas, seguindo os mesmos passos descritos acima, porém diferindo nas diluições das amostras, que foram diluídas sequencialmente 1:100, 1:200, 1:400, 1:800, 1:1600, 1:3200 e 1:6400. Todas as diluições foram realizadas em duplicata e o título (inverso da diluição) de cada soro foi considerado como a recíproca da maior diluição reagente na duplicata.

6 RESULTADOS

Neste trabalho, inicialmente, para validação do uso do método de ELISA em amostras séricas provenientes de indivíduos portadores de endemias regionais, foi investigada a ocorrência de reatividade cruzada em pacientes com Doença de Chagas e leishmaniose visceral, e a proteína rN ARAV.

A seguir, foi realizada uma busca de anticorpos anti-hantavírus no período de Julho de 2010 a setembro de 2011. Para uma melhor compreensão dos resultados a população de estudo foi dividida em quatro grupos: 1) pacientes internados que se enquadravam nos critérios de casos suspeitos (item 5.4); 2) pacientes com doença aguda e diagnóstico laboratorial confirmado de leptospirose; 3) pacientes com suspeita de dengue, cuja pesquisa de NS1 não foi reagente; e 4) participantes do estudo piloto do inquérito sorológico em Coruripe. O número de participantes incluídos em cada grupo está apresentado na tabela 2.

Tabela 2- Total de participantes do estudo dividido em grupos.

Grupos:	1	2	3	4	TOTAL
Participantes do estudo	Pacientes internados	Pacientes com leptospirose	Pacientes com suspeita clínica de dengue	Estudo piloto para inquérito sorológico	
Total	64	124	170	250	608

6.1- Investigação de reatividade cruzada em pacientes portadores de endemias regionais, como Doença de Chagas e leishmaniose visceral, e a proteína rN ARAV.

É sabido que ocorre uma ativação policlonal do sistema imune em doenças crônicas, como a Doença de Chagas e leishmaniose (MINOPRIO, 2001), o que pode levar à produção de anticorpos de reatividade cruzada. Por isso, foram testados os soros de 13 pacientes com Doença de Chagas e de 12 pacientes com leishmaniose visceral, para verificar se ocorria reação cruzada entre a proteína rN ARAV utilizada no teste de ELISA (item 5.6.1) e os soros desses pacientes. Das 13 amostras de soro chagásicas analisadas, nenhuma foi reagente para IgM, entretanto, duas (15,38%) apresentaram IgG reagente para hantavírus. A reatividade, contudo, foi observada apenas nos soros diluídos 1:100, desaparecendo em maiores diluições

da amostra, usadas para a titulação (SANTOS JÚNIOR *et al.*, 2011). Dentre as amostras de pacientes com leishmaniose, um total de 12 soros foram analisados e nenhum apresentou-se reagente para IgG anti-hantavírus. Contudo, um (8,33%) soro apresentou reação positiva para IgM. No entanto, essa reatividade foi observada somente no soro diluído 1:100, desaparecendo em maiores diluições da amostra usadas para a titulação.

6.2- Grupo 1: Pacientes internados que se enquadravam nos critérios de casos suspeitos de hantavirose.

Foram investigadas por sorologia 64 amostras procedentes de pacientes que se enquadravam como caso suspeito de hantavirose. Desse total, 18 foram encaminhados pelo LACEN-AL para o LAPEVI/ICBS/UFAL, devido a um surto de uma doença respiratória grave que ocorreu no município de Coruripe no ano de 2010 (Tabela 3) e as outras 46 foram provenientes de pacientes internados no HEHA. Das 64 amostras, 42 (65,6%) eram do sexo masculino, com média de idade de 34,2 anos, e 22 (34,4%) eram do sexo feminino, com média de idade de 36,1 anos.

Das 18 amostras provenientes do município de Coruripe, cuja hipótese diagnóstica levantada pelos médicos foi de hantavirose, investigou-se a presença de anticorpos anti-hantavírus e nenhuma amostra foi reagente para IgM. Contudo, duas amostras (6H e 9H), reagiram para IgG no momento do teste qualitativo. Entretanto, após realizar uma segunda coleta dos mesmos pacientes com intervalo de sete dias, todas foram não reagentes. Com isso, descartamos o resultado anterior e elas foram consideradas não reagentes.

Tabela 3- Pacientes do município de Coruripe, Alagoas, incluídos no estudo devido a um surto de uma doença respiratória grave, em 2010, os quais tiveram amostras coletadas para o diagnóstico sorológico de hantavirose.

Nº do Registro LAPEVI	Idade	Sexo	Pesquisa de IgG	Pesquisa de IgM	Título	Coleta 2ª amostra	Resultado IgG/IgM	Título
2H	19	M	NR	NR	-	-	-	-
3H	19	M	NR	NR	-	-	-	-
4H	20	M	NR	NR	-	-	-	-
5H	18	M	NR	NR	-	-	-	-
6H	25	M	R	NR	100	Após 7 dias	NR	-
7H	21	M	NR	NR	-	-	-	-
8H	70	F	NR	NR	-	-	-	-
9H	2	F	R	NR	100	Após 7 dias	NR	-
10H	24	F	NR	NR	-	-	-	-
11H	56	M	NR	NR	-	-	-	-
12H	25	M	NR	NR	-	-	-	-
13H	23	F	NR	NR	-	-	-	-
14H	41	M	NR	NR	-	-	-	-
15H	24	F	NR	NR	-	-	-	-
16H	32	M	NR	NR	-	-	-	-
17H	NC	M	NR	NR	-	-	-	-
18H	NC	F	NR	NR	-	-	-	-
19H	NC	F	NR	NR	-	-	-	-

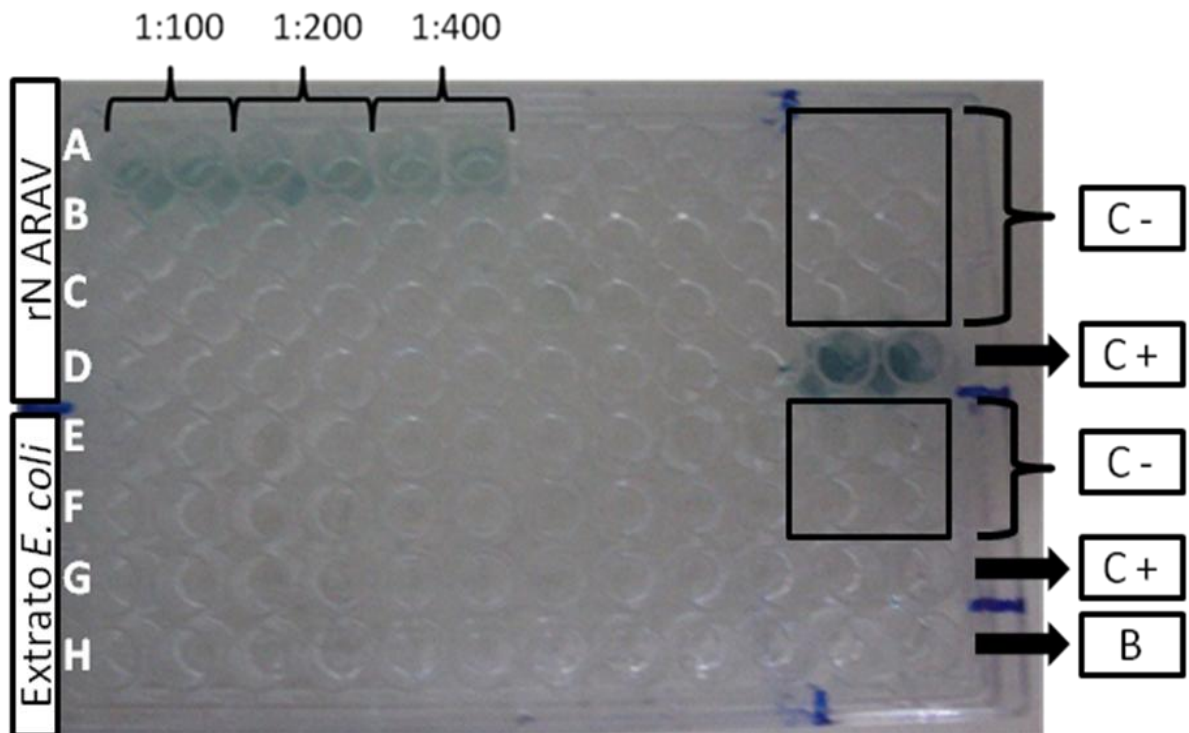
M: Masculino; F: Feminino; NR: Não Reagente; R: Reagente; – : Não realizado; NC: Não coletada.

Os outros 46 participantes deste grupo tiveram amostras séricas coletadas de pacientes do HEHA. Apesar da busca ter sido realizada em outros hospitais (item 5.2), somente no HEHA foram encontrados pacientes que se enquadrassem nos critérios de casos suspeitos (item 5.4). Por isso, neste grupo, encontram-se apenas pacientes internados no referido hospital de referência para doenças infecciosas.

Uma amostra (26H) coletada no HEHA reagiu para IgG no teste qualitativo, após a realização da titulação (teste semiquantitativo) essa mesma amostra apresentou-se reagente até o título de 200. Após oito dias da coleta da primeira amostra, foi realizada uma segunda coleta cujo soro reagiu até o título de 400. Ainda, após 62 dias da realização da primeira coleta obteve-se uma terceira amostra, a qual foi reagente para IgG anti-hantavírus até o título de 400 (Figura 11). Trata-se de um paciente do sexo masculino que alega nunca ter viajado para fora de Alagoas e também afirmou não ter apresentado no passado qualquer sintoma que

indicasse insuficiência respiratória. Posteriormente, o paciente teve diagnóstico de tuberculose (Tabela 4).

Figura 11- Titulação da amostra do paciente 26H que reagiu até o título de 400 (poço A). A placa está com a marcação indicando os poços que foram sensibilizados com a proteína N (A - D) e o extrato de *E. coli* (E - H). C- são os poços em que houve a adição do controle negativo; C+ os poços nos quais se adicionou soro de um paciente com hantavirose; B representa o branco (H11- H12).



Fonte: Arquivo pessoal.

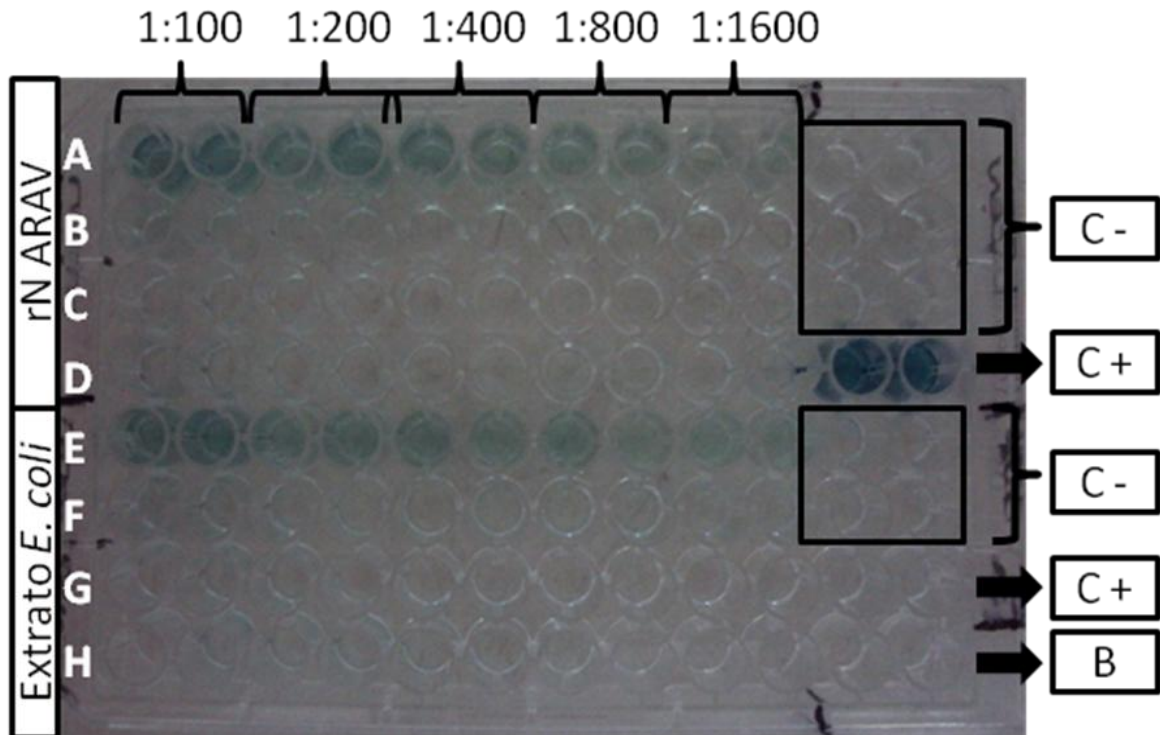
Tabela 4- Pacientes incluídos no estudo que tiveram amostras coletadas no HEHA para o diagnóstico sorológico de hantavirose, com diagnóstico definitivo de tuberculose.

Nº do Registro LAPEVI	Idade	Sexo	Pesquisa de IgG	Pesquisa de IgM	Título	Coleta 2ª amostra	Resultado IgG/IgM	Título
1H	62	F	NR	NR	-	-	-	-
26H	20	M	R	NR	200	Após 8 dias	R (IgG)	400
28H	69	M	NR	NR	-	-	-	-
30H	49	M	NR	NR	-	-	-	-
32H	13	F	NR	NR	-	-	-	-
33H	39	F	NR	R	100	Após 7 dias	NR	-
35H	58	F	NR	NR	-	-	-	-
36H	42	M	NR	NR	-	-	-	-
37H	38	M	NR	NR	-	-	-	-
44H	47	M	NR	NR	-	-	-	-
49H	29	M	NR	NR	-	-	-	-
50H	29	M	NR	NR	-	-	-	-
54H	27	F	NR	NR	-	-	-	-
56H	39	M	NR	NR	-	-	-	-
60H	50	M	NR	NR	-	-	-	-

M: Masculino; F: Feminino; NR: Não Reagente; R: Reagente; - : Não realizado.

Das 46 amostras testadas dos pacientes hospitalizados, uma apresentou reatividade para IgM anti-hantavírus (33H; Tabela 3) no momento da triagem (teste qualitativo), entretanto, ao realizar-se a titulação a amostra apresentou-se não-reagente. Por isso, para confirmação do resultado, foi realizada uma segunda coleta domiciliar nessa paciente, com intervalo de sete dias da primeira, na qual após realização da titulação o soro apresentou-se não-reagente. Sendo assim, a amostra foi considerada negativa (Figura 12).

Figura 12- Titulação da segunda amostra da paciente 33H que reagiu no momento da triagem. Na parte superior da microplaca, poços A-D, houve a sensibilização com a rN ARAV, já na parte inferior, poços E-H, houve a sensibilização com antígeno controle-negativo (extrato de *E. coli*). Após titulação observou-se, visualmente, reação até a diluição de 1600, tanto nos poços sensibilizados com rN ARAV (A), quanto nos poços sensibilizados com extrato de *E. coli* (E). C- são os poços em que houve a adição do controle negativo; C+ os poços nos quais se adicionou soro de um paciente com hantavirose; B representa o branco (H11- H12).



Fonte: Arquivo pessoal.

Os demais pacientes internados no HEHA tiveram diagnóstico definitivo de leptospirose e outras enfermidades (dengue, pneumonia, meningite bacteriana, miocardiopatia, hepatopatia, pielonefrite, síndrome febril, choque séptico, infecção renal aguda e SIDA), conforme descrito nas tabelas 5 e 6, respectivamente.

Tabela 5- Pacientes incluídos no estudo que tiveram amostras coletadas no HEHA para o diagnóstico sorológico de hantavirose, os quais tiveram como diagnóstico definitivo leptospirose.

Nº do Registro LAPEVI	Idade	Sexo	Pesquisa de IgG	Pesquisa de IgM	Título	Coleta 2ª amostra	Resultado IgG/IgM	Título
22H	19	M	NR	NR	-	-	-	-
25H	41	F	NR	NR	-	-	-	-
27H	34	M	NR	NR	-	-	-	-
34H	46	M	NR	NR	-	-	-	-
38H	44	M	NR	NR	-	-	-	-
42H	33	M	NR	NR	-	-	-	-
43H	17	M	NR	NR	-	-	-	-
46H	26	M	NR	NR	-	-	-	-
47H	16	F	NR	NR	-	-	-	-
52H	17	M	NR	NR	-	-	-	-
53H	35	F	NR	NR	-	-	-	-
57H	20	M	NR	NR	-	-	-	-
58H	44	M	NR	NR	-	-	-	-
61H	51	M	NR	NR	-	-	-	-
62H	34	M	NR	NR	-	-	-	-

M: Masculino; F: Feminino; NR: Não Reagente; - : Não realizado.

Tabela 6- Pacientes incluídos no estudo que tiveram amostras coletadas no HEHA para o diagnóstico sorológico de hantavirose, os quais tiveram como diagnóstico definitivo outras enfermidades.

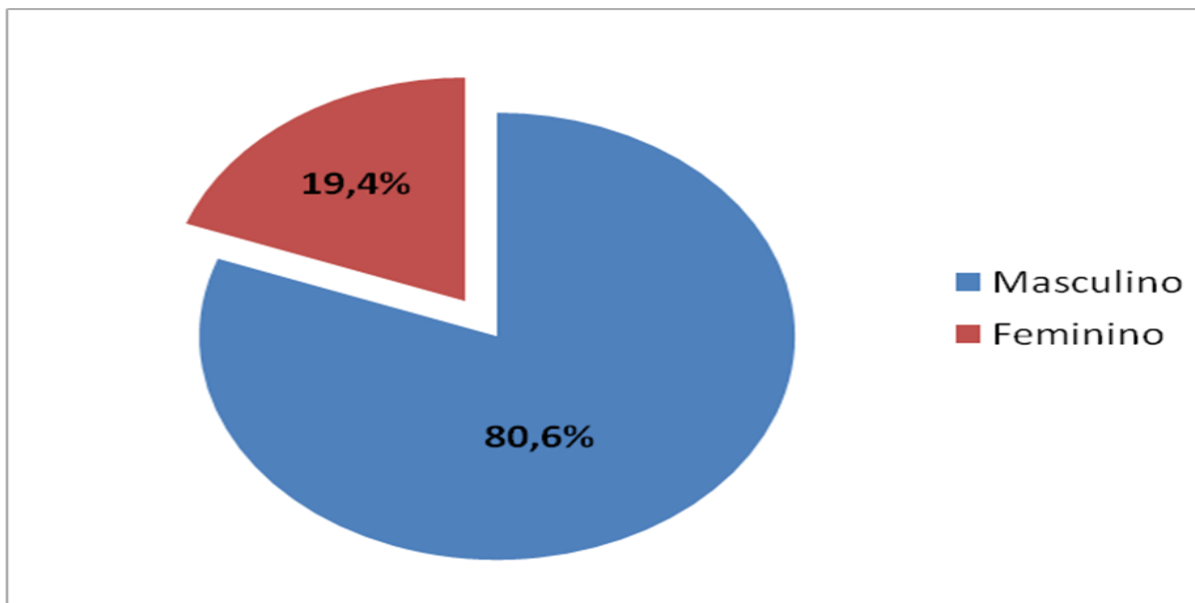
Nº do Registro LAPEVI	Idade	Sexo	Pesquisa de IgG	Pesquisa de IgM	Título	Coleta 2ª amostra	Resultado IgG/IgM	Título
20H	15	M	NR	NR	-	-	-	-
21H	70	M	NR	NR	-	-	-	-
23H	26	F	NR	NR	-	-	-	-
24H	46	F	NR	NR	-	-	-	-
29H	39	F	NR	NR	-	-	-	-
31H	36	F	NR	NR	-	-	-	-
39H	43	M	NR	NR	-	-	-	-
40H	53	M	NR	NR	-	-	-	-
41H	23	M	NR	NR	-	-	-	-
45H	17	M	NR	NR	-	-	-	-
48H	33	F	NR	NR	-	-	-	-
51H	58	M	NR	NR	-	-	-	-
55H	40	M	NR	NR	-	-	-	-
59H	52	M	NR	NR	-	-	-	-
63H	12	F	NR	NR	-	-	-	-
64H	73	F	NR	NR	-	-	-	-

M: Masculino; F: Feminino; NR: Não Reagente; - : Não realizado.

6.3- Grupo 2: Pacientes com doença aguda e diagnóstico laboratorial confirmado de leptospirose.

No presente estudo foram analisados para presença de anticorpos anti-hantavírus 124 soros de pacientes com leptospirose confirmada. Estes soros foram coletados e analisados pelo LACEN-AL para a presença de anticorpos anti-leptospira, por método de ELISA comercial (Pan Bio®, Austrália), entre os anos de 2008 a 2011. As amostras estavam estocadas (-70°C) no laboratório de Imunologia do LACEN-AL e foram doadas ao LAPEVI. Do total de soros analisados 100 (80,6%) eram do sexo masculino com média de idade de 29,6 anos e 24 (19,4%) do sexo feminino com média de idade de 36,3 anos (Figura 13).

Figura 13- Distribuição dos pacientes com leptospirose quanto ao sexo, cujas amostras séricas foram testadas para a presença de anticorpos anti-hantavírus.



Das 124 amostras de pacientes com doença aguda e diagnóstico laboratorial confirmado de leptospirose, nenhuma foi reagente para IgM. Todavia, inicialmente, quatro soros apresentaram reatividade para IgG anti-hantavírus. Contudo, após análise dos dados desses pacientes armazenados no LACEN, percebeu-se que duas dessas amostras eram do mesmo paciente, com as coletas tendo sido realizadas com intervalo de uma semana entre ambas. Considerou-se, portanto, três amostras reagentes para IgG (soroprevalência de 2,42%), com os títulos de 200, 800 e 800 respectivamente. Essas três amostras reagentes eram procedentes de indivíduos do sexo masculino (Tabela 7), sendo que dois deles foram vítimas de enchente. De um único paciente foi possível saber a profissão em que trabalhava, que era servente de pedreiro.

Tabela 7- Soroprevalência para anticorpos IgG anti-hantavírus, quanto ao sexo, nos pacientes com leptospirose confirmada pelo LACEN-AL.

Sexo	IgG	
	Reagente	Não-reagente
Masculino	3 (3%)	97 (97%)
Feminino	0	24 (100%)
Total	3 (2,42%)	121 (97,6%)

Em uma das três amostras reagentes para IgG anti-hantavírus no Grupo 2, detectou-se a presença de anticorpos anti-*Trypanosoma cruzi*, em análise realizada pelo LACEN-AL. Porém, nessa amostra o título de IgG anti-hantavírus foi de 800.

6.4- Grupo 3: Pacientes com suspeita clínica de dengue, cuja pesquisa de NS1 não foi reagente.

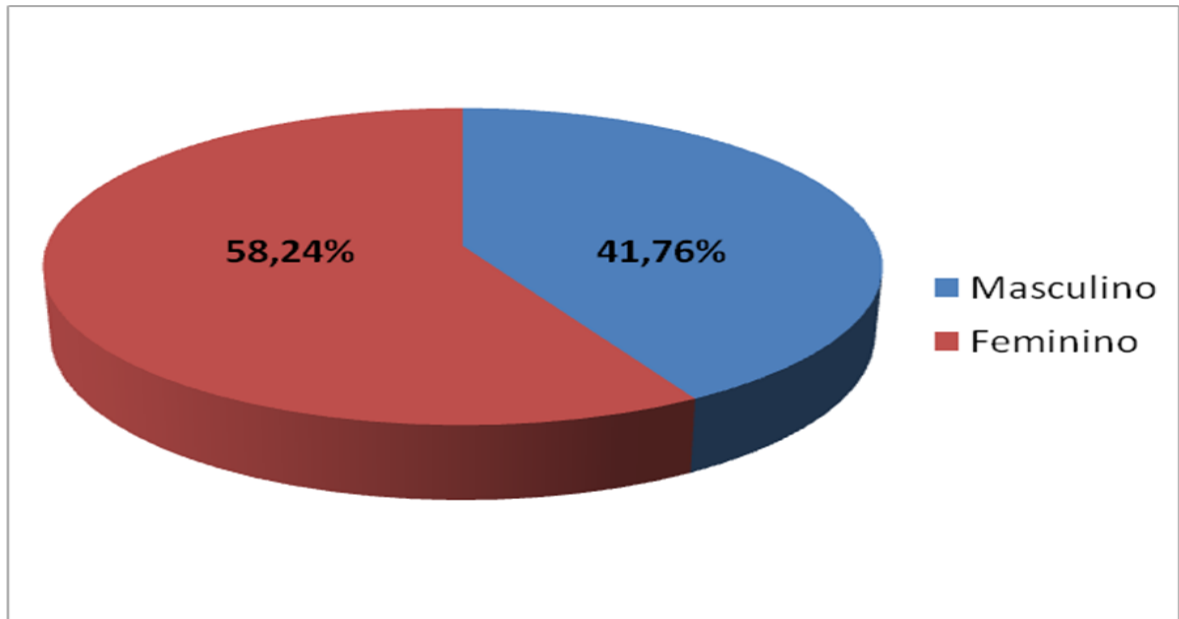
Amostras de 170 pacientes com suspeita de dengue e cuja pesquisa de NS1 foi negativa por método de ELISA comercial (Bio Rad®, França), de diversos municípios de Alagoas (Tabela 8), foram encaminhadas pelo LACEN-AL para pesquisa de anticorpos anti-hantavírus. Do total, somente 14 soros foram IgM reagentes para dengue, de acordo com testes realizados pelo LACEN-AL. Todos esses pacientes tiveram a coleta de soro realizada até o 5º dia do início dos sintomas, seguindo protocolo determinado pela SVS/MS (Secretaria de Vigilância em Saúde/ Ministério da Saúde).

Tabela 8- Municípios de origem dos pacientes com suspeita clínica de dengue, cuja pesquisa de NS1 foi não reagente.

Municípios	Frequência	Municípios	Frequência
Arapiraca	3 (1,76%)	Mata Grande	11 (6,5%)
Belém	3 (1,76%)	Messias	1 (0,6%)
Boca da Mata	2 (1,18%)	Murici	1 (0,6%)
Campo Alegre	2 (1,18%)	Penedo	8 (4,7%)
Campo Grande	2 (1,18%)	Poços das Trincheiras	1 (0,6%)
Coité do Nória	2 (1,18%)	Quebrangulo	3 (1,76%)
Colonia Leopoldina	15 (8,8%)	Rio Largo	1 (0,6%)
Delmiro Gouveia	17 (10%)	Roteiro	3 (1,76%)
Igaci	1 (0,6%)	São Brás	2 (1,18%)
Junqueiro	7 (4,1%)	São José da Tapera	2 (1,18%)
Lagoa da Canoa	4 (2,3%)	São Miguel dos Campos	2 (1,18%)
Maceió	33 (19,4%)	Senador Rui Palmeira	1 (0,6%)
Maragogi	19 (11,2%)	União dos Palmares	1 (0,6%)
Maravilha	1 (0,6%)	Não informado	6 (3,5%)
Marechal Deodoro	16 (9,4%)		

Do total de soros analisados, 71 (41,76%) eram do sexo masculino e 99 (58,24%) do sexo feminino (Figura 14). A média de idade foi calculada com base nos 60 pacientes do sexo masculino e 72 do sexo feminino com idade disponível no banco de dados do LACEN-AL, sendo de 26,5 anos para os homens e 26,76 anos para as mulheres.

Figura 14- Total de pacientes analisados suspeitos de dengue cuja pesquisa de NS1 foi não reagente, divididos segundo o sexo, nos quais se pesquisou anticorpos anti-hantavírus.



Das 170 amostras analisadas, nenhuma foi reagente para IgG anti-hantavírus. Entretanto, uma amostra (paciente nº 8400) apresentou-se reagente para IgM no teste qualitativo e no semiquantitativo com título de 100. As replicatas foram realizadas em dias diferentes. Contudo, após realizar uma segunda coleta do mesmo paciente com intervalo de 161 dias da primeira, a pesquisa de IgM anti-hantavírus foi negativa, bem como, a pesquisa de IgG. Com isso, descartou-se o resultado anterior e ela foi considerada não-reagente.

Ainda, foi realizada a pesquisa de anticorpos anti-*Leishmania* e anti-*T.cruzi*, na amostra do paciente 8400, as quais mostraram-se ambas negativas. A amostra foi também não reagente para pesquisa de NS1 de dengue.

6.5- Grupo 4: Participantes do estudo piloto para Inquérito Sorológico para Hantavírus em Coruripe.

Neste grupo, foram obtidas 250 amostras séricas de trabalhadores rurais da Usina Coruripe-AL, por demanda espontânea, sendo todos do sexo masculino, com média de idade de 31,95 anos.

Das 250 amostras analisadas, 10 (4%) se apresentaram reagentes para anticorpos IgG anti-hantavírus, cujos títulos variaram de 100 a 1600. Dentre os

indivíduos sororeagentes a média de idade foi de 33,6 anos. Entre estes, dois informaram que tiveram doença grave no passado, na qual sentiram falta de ar, acompanhada de febre e dor no corpo; sete (70%) nunca trabalharam em outro estado do Brasil e cinco (50%) alegaram que nunca moraram fora do estado de Alagoas (Tabela 9).

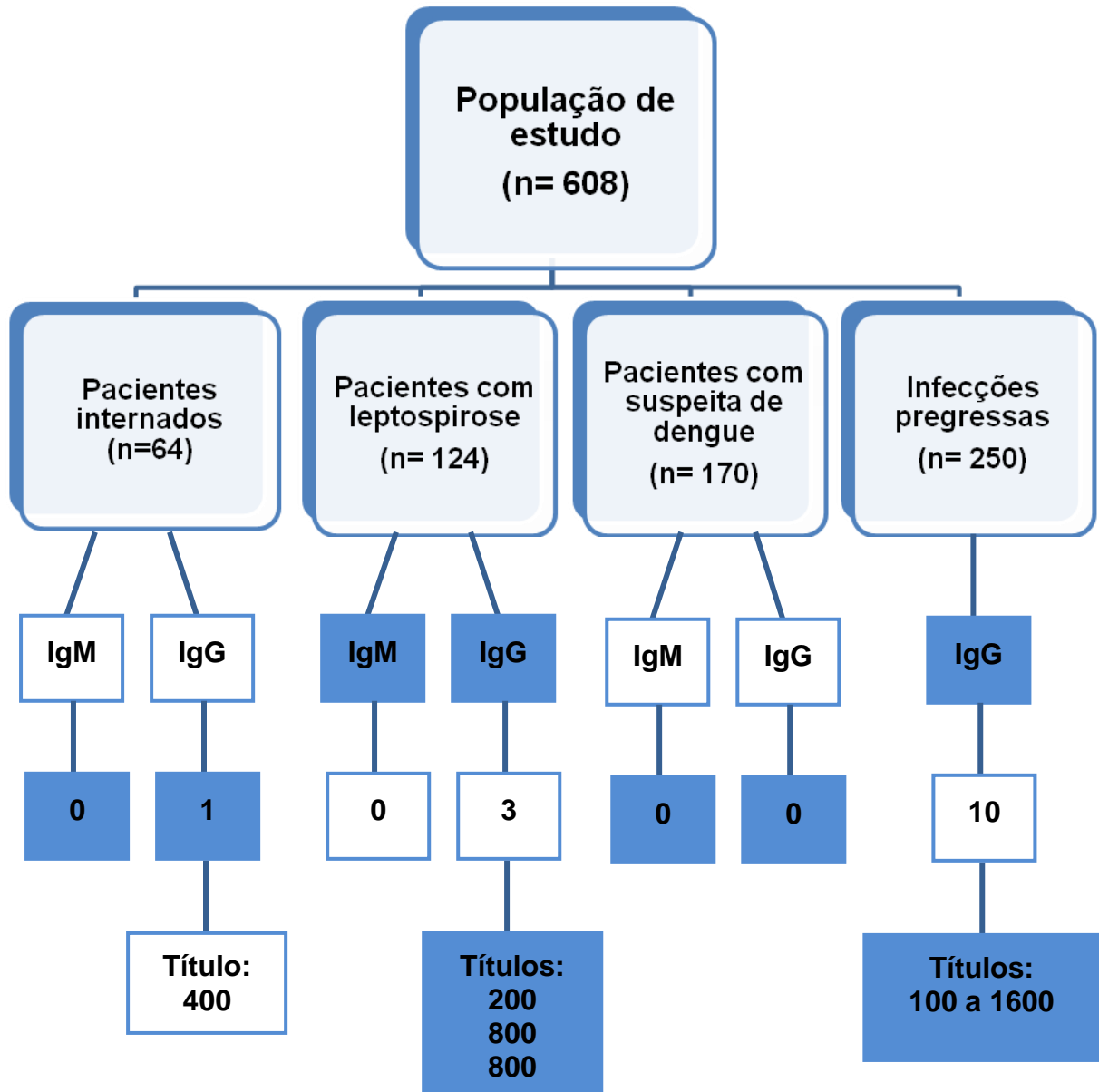
Tabela 9- Casos reagentes para anticorpos IgG anti-hantavírus, em trabalhadores da Usina Coruripe/AL, de acordo com o código de registro do participante, idade, título, presença de doença grave no passado com sintomas respiratórios e trabalho fora de Alagoas.

Registro do participante	Idade	Título	Doença grave com sintomas respiratórios	Trabalho fora de Alagoas
281C	28	100	Não	Não
301C	36	400	Não	Sim (Bahia)
323C	24	400	Não	Não
369C	64	100	Sim	Não
460C	18	400	Não	Não
479C	44	1600	Sim	Não
727C	20	200	Não	Não
733C	47	400	Não	Sim (Espírito Santo)
843C	25	200	Não	Não
860C	30	200	Não	Sim (Paraná)

6.6- Visão global dos resultados do estudo.

A seguir apresenta-se o fluxograma demonstrando os principais achados do presente estudo (Figura 15).

Figura 15 – Resultados da pesquisa.



7 DISCUSSÃO

A hantavirose vem se destacando, nos últimos anos, no território nacional em número de casos e de municípios notificadores desta enfermidade. É desejável ampliar a vigilância dessas infecções em áreas endêmicas e não endêmicas, a fim de otimizar o diagnóstico precoce dos casos humanos e de melhor conhecer a situação epidemiológica dessa zoonose, cuja letalidade no Brasil é de 39%. Essa enfermidade é considerada um importante problema de Saúde Pública no Brasil, tanto nas zonas rurais quanto nas zonas urbanas (SCHMIDT, 2007) e a busca ativa por casos de hantavirose em áreas silenciosas do país, como o Estado de Alagoas, é meta da própria Secretaria de Vigilância em Saúde do Ministério da Saúde (SVS/MS).

7.1- Pacientes internados que se enquadravam nos critérios de casos suspeitos de hantavirose.

Em sua maior parte, os estudos sobre hantavírus são realizados em localidades onde já ocorreu a notificação de casos, sendo escassos os estudos em locais onde a SPCVH não foi registrada (CHIORATTO *et al.*, 2010). Segundo a SVS/MS o Estado de Alagoas é considerado área silenciosa para hantavírus, pois nenhum caso de SPCVH foi notificado, desde 1993, quando se detectou a presença da doença no país pela primeira vez (SINAM/SVS/MS, 2011). No entanto, a ausência de notificação da hantavirose numa dada região, não é garantia do *status* de indene para tal região.

Em vários locais do Brasil ocorrem casos de hantavirose sem o devido diagnóstico, como p. ex. em Seara, interior de Santa Catarina, onde após suspeita do primeiro caso em um agricultor que vivia numa área de reflorestamento, iniciou-se um estudo do tipo caso-controle, que evidenciou a existência de outros casos não diagnosticados, como também encontrou um indivíduo infectado naquele momento (SCHMIDT, 2007). Há, ainda, grande número de inquéritos sorológicos para hantavírus realizados em diferentes municípios, inclusive naqueles sem registro da doença, que demonstram a presença de anticorpos de memória (IgG) na população sadia ou em roedores, como p.ex. em Salvador/BA; em Pedreira/SP; em Santa Teresa/ES; no Rio de Janeiro/RJ; e em Turvo/SC, em seres humanos (MASCARENHAS-BATISTA *et al.*, 1998; LEMOS *et al.*, 2004; BRAGAGNOLO *et al.*,

2008; OLIVEIRA *et al.*, 2009; PEREIRA *et al.*, 2012) e no Ceará, em roedores (CHIORATTO *et al.*, 2010).

No presente estudo, uma busca ativa por casos agudos de hantavirose foi realizada em duas frentes, sendo: indivíduos hospitalizados que se enquadravam nos critérios clínicos dessa doença (item 5.4), e indivíduos diagnosticados com outras enfermidades cujos sintomas podem ser confundidos com SPCVH (como leptospirose e dengue). No entanto, nenhuma das amostras testadas apresentaram anticorpos específicos para hantavírus da classe IgM, o que seria indicativo de doença aguda (FIGUEIREDO *et al.*, 2000; BRASIL, 2010). Faz-se necessário intensificar a busca ativa, ampliando-se a rede de hospitais que vem sendo triados e investir em divulgação sobre a doença entre profissionais da área da saúde, para aumentar as chances de se encontrar casos agudos de SPCVH em Alagoas.

Apesar de ser grave e altamente letal, a hantavirose é uma doença de incidência rara mesmo nos municípios onde a circulação viral é bem conhecida como, p. ex., no Maranhão, onde, de 1993 até junho de 2011, foram registrados 11 casos de infecção por hantavírus, com uma incidência de 0,57 casos por ano. Contudo, no Distrito Federal, de 1993 a junho de 2011, foram confirmados 81 casos de hantavirose, com uma incidência de 6,23 casos por ano, embora com apenas um caso confirmado no ano de 2011. Com isso, percebe-se a grande raridade da doença, mesmo em localidades onde a circulação do vírus já é bem conhecida (SINAM/SVS/MS, 2011).

Embora não tenham sido identificados casos agudos de SPCVH durante a pesquisa, o presente estudo demonstrou as primeiras evidências de infecção por hantavírus em Alagoas, com base nos achados de anticorpos de memória imunológica (da classe IgG) para hantavírus em diferentes grupos de indivíduos incluídos na pesquisa. Encontrou-se a presença destes anticorpos IgG anti-hantavírus tanto em indivíduos enfermos quanto na população sadia, a saber: em um (1,42%) paciente hospitalizado com doença pulmonar (Tabela 4), em três (2,42%) indivíduos com leptospirose confirmada (Tabela 7), e em 10 (4%) trabalhadores rurais, participantes de um estudo piloto para inquérito sorológico (Tabela 9). Estes dados são inéditos na epidemiologia da hantavirose no Brasil. Tais achados são de suma importância para se pensar em uma melhor vigilância epidemiológica da hantavirose em Alagoas.

O primeiro caso IgG reagente que foi encontrado no presente estudo teve material colhido de um jovem agricultor. Segundo Figueiredo e cols. (2001), esta zoonose está relacionada com a atividade rural, sendo fator de risco para a doença, independentemente da classe socioeconômica. Ressalta-se que esse paciente sororeagente para IgG atendido no HEHA relatou nunca ter viajado para fora de Alagoas, sugerindo, portanto, que a infecção por hantavírus ocorreu dentro do Estado. O mesmo indivíduo relatou que além da atividade rural do presente, durante a infância também costumava brincar em sítios.

Embora esse achado sugira se tratar de um caso progresso de infecção autóctone por hantavírus em Alagoas, não foi possível determinar qual foi o local de infecção, pois esse paciente já exerceu várias atividades consideradas de risco para hantavirose como: adubamento de solo, plantio de fumo e mandioca, e atividade de recreação em sítio próximo a uma usina de cana-de-açúcar.

Ferreira e cols. (2000) afirmaram que as pessoas podem se infectar durante a limpeza de pisos contendo excretas de roedores infectados, remoção e armazenamento de grãos e durante o plantio e/ou colheita. Contudo, Figueiredo e cols. (2001) afirmam que podem também ocorrer casos durante atividade de lazer, como caça, pesca e acampamento.

É interessante o fato de o paciente participante do presente estudo, sororeagente para hantavírus atendido no HEHA, ter afirmado que não teve nenhuma doença grave no passado, com características da SPCVH. Este relato, aliado ao fato de não se ter achado casos agudos hospitalizados de SPCVH durante um ano de busca ativa realizada neste estudo, levanta a hipótese da ocorrência de casos benignos de infecção por hantavírus em Alagoas, ou de infecções mais brandas, ou até mesmo assintomáticas. Neste caso, as infecções que ocorreriam no Estado poderiam ser causadas por um hantavírus não patogênico, como já foi identificado em outros locais do Brasil (MENDES *et al.*, 2001; MENDES *et al.*, 2004; TRAVASSO DA ROSA *et al.*, 2005). Várias espécies de hantavírus não associados à doença humana já foram detectados em roedores no mundo todo, como: *Rio Mearin*, no Maranhão (TRAVASSO DA ROSA *et al.*, 2005); *Mujo*, na Coreia do Sul; *Topografov*, na Sibéria; *Playa de Oro*, no México; *Pergamino*, na Argentina; *Rio Mamore*, na Bolívia e Peru (região Amazônica) e outros (JONSSON *et al.*, 2010).

Jonsson e cols. (2010) afirmam que, em locais onde a infecção por hantavírus já é conhecida, somente os casos mais graves de hantavirose são diagnosticados, e

estes seriam a minoria. Noutros locais sem registro prévio da doença, a infecção pode passar despercebida. Também se sabe que a gravidade da doença pode estar associada a múltiplos fatores, como patogenicidade do vírus, genética da população, circulação de mais de uma espécie viral (PADULA *et al.*, 2000; SION *et al.*, 2002; BORGES *et al.*, 2006; BORGES *et al.*, 2010).

No Brasil, já foram descritos casos de infecção por hantavírus sem sintomatologia semelhante à SPCVH (HINDRICHSEN *et al.*, 1993; CLEMENT *et al.*, 1999a,b; GODOI *et al.*, 2005; CLEMENT *et al.*, 2007), como em Recife/PE, onde foi levantada pelos autores a hipótese de que as infecções ocorreram devido a um vírus semelhante ao *Seoul* (CLEMENT *et al.*, 2007). Em Belém/PA após análise de 201 soros de pacientes com suspeita de leptospirose, os pesquisadores encontraram que 31 possuíam sorologia reagente para hantavírus, destes, um soro possuía alta especificidade nos testes de neutralização para o *Seoul* (CLEMENT *et al.*, 1999a).

No ano de 1996, em Salvador/BA, ocorreu uma epidemia com 326 casos de doença renal aguda, com transmissão urbana (KO *et al.*, 1999). Desses casos, 133 (41%) não se confirmaram como sendo leptospirose. Segundo Clement e cols. (2007) pelo menos alguns desses 133 casos eram, na verdade, infecção por hantavírus de reatividade cruzada para vírus *Seoul*. O vírus *Seoul* é endêmico na China e é o único que tem reservatório cosmopolita, o roedor urbano *Rattus norvegicus* (LEDUC *et al.*, 1984; LEDUC *et al.*, 1985). Outro trabalho também realizado em Salvador/BA, por Mascarenhas-Batista e cols. (1998), demonstrou reação positiva somente para o vírus *Hantaan*, também um hantavírus que causa FHSR, e nenhuma amostra mostrou-se reagente para o *Sin Nombre*, hantavírus norte-americano, causador da SPCVH.

Por isso no presente estudo, não excluímos a possibilidade da infecção ocorrida no paciente 26H ter ocorrido por um vírus causador da FHSR, com possível circulação no Brasil, já que em estudos realizados entre setembro de 1982 e março de 1983, por Leduc e cols. (1985) os pesquisadores isolaram um vírus antigenicamente semelhante ao *Seoul* no Brasil. Nessa mesma época, foi demonstrada a presença de anticorpos para o vírus *Hantaan*, em soros de roedores urbanos de Belém, São Paulo e Recife-Olinda (LEDUC *et al.*, 1985; LEDUC *et al.*, 1986). Leduc e cols. (1986) levantaram a hipótese da disseminação de ratos infectados da Ásia para outros locais do mundo, pelos portos, sugerindo a ocorrência casos de FHSR em outros Continentes.

No presente estudo foi também realizada uma investigação de infecção por hantavírus em pacientes de um surto de doença respiratória grave que ocorreu no município de Coruripe, em 2010. Duas amostras (6H e 9H) de 18 pacientes haviam reagido para IgG anti-hantavírus no teste de triagem, porém, não confirmaram o resultado positivo após a titulação e nem após exame de segundas amostras de cada paciente. Posteriormente, todos os pacientes receberam diagnóstico de Influenza A, segundo o LACEN-AL. Essas análises demonstram a importância da realização da titulação (teste semiquantitativo) das amostras que forem reagentes no teste de triagem (qualitativo) para uma confirmação de diagnóstico, quando se utiliza teste de ELISA.

No presente trabalho houve uma amostra (paciente 33H; Tabela 4) que foi inicialmente reagente no teste para IgM anti-hantavírus e, em seguida, na segunda coleta não houve reação após a titulação para esta classe de anticorpo. É provável que a reação tenha ocorrido devido à presença de anticorpos anti-*E. coli* na amostra testada. De fato, ocorreu uma reação colorimétrica similar tanto nos poços sensibilizados com rN ARAV, quanto nos poços contendo o extrato de *E. coli*. (Figura 12). Por este motivo, o método para leitura da placa foi padronizado para descontar as D.O.s dos poços sensibilizados com extrato de *E. coli* daquelas obtidas nos poços com rN ARAV (MORELI, 2005). Assim, minimiza-se a ocorrência de resultados falsos positivos para anticorpos anti-hantavírus na presença de anticorpos anti-*E. coli*.

Apesar da proteína N ser purificada, Sjolander e cols. (1997) afirmaram que esta proteína produzida em *E. coli* - apesar de ser específica - tem um pouco da sua especificidade diminuída provavelmente por ainda conter, até mesmo após várias purificações, resíduos da bactéria.

Contudo, em trabalho realizado por Machado e cols. (2011) os autores concluíram que tanto a proteína N produzida em *baculovirus* quanto em *E. coli* possui a mesma sensibilidade e eficácia, sendo um excelente antígeno para testes sorológicos no Brasil. Entretanto, esse último trabalho foi realizado com amostras de uma população que não está sujeita às mesmas condições de vida da população Alagoana, submetida a precárias condições de saneamento básico, em todos os municípios do Estado (IBGE, 2010). É o caso da paciente 33H, que habita uma residência desprovida de saneamento básico (sem água encanada e esgoto) nas proximidades de uma lagoa sabidamente poluída. Devido às condições de moradia

desta paciente, supõe-se que a mesma esteja em frequente contato com coliformes fecais, inclusive, *E. coli*.

7.2- Investigação de reatividade cruzada em pacientes portadores de endemias regionais, como Doença de Chagas e leishmaniose visceral, e a proteína rN ARAV.

A possibilidade de reatividade com Chagas já tinha sido levantada, com um teste de ELISA que utiliza a rN ANDV (FIGUEIREDO *et al.*, 2009), contudo ainda não tinha sido descrita com a rN ARAV. Por essa razão, a investigação da ocorrência de reação cruzada em amostras séricas de indivíduos chagásicos e a rN ARAV utilizada em nosso teste de ELISA foi objetivo deste estudo. Além disso, considerando que Alagoas é uma região endêmica tanto para Chagas quanto para leishmaniose, sendo esta última uma doença de curso prolongado (PEDROSA e ROCHA, 2004), decidiu-se investigar também a ocorrência de reatividade cruzada em amostras de soro de paciente diagnosticados com leishmaniose visceral e a rN ARAV.

Desse modo, verificou-se a ocorrência de reatividade cruzada nas amostras de pacientes com Chagas (15,38%) e com leishmaniose (8,33%) diluídas 1:100 frente a rN ARAV. Contudo, foi demonstrado que as diluições posteriores dessas amostras (<1:100), para a realização da titulação de anticorpos, eliminavam a reatividade cruzada (SANTOS JÚNIOR *et al.*, 2011). A partir disso, foi definido, então, que todas as amostras que se apresentassem reagentes para hantavírus deveriam ser testadas para leishmaniose e doença de Chagas, evitando-se, assim, resultados falsamente positivos.

No Grupo 2, que inclui pacientes com leptospirose, em uma das três amostras reagentes para IgG anti- hantavírus detectou-se a presença de anticorpos anti- *Trypanosoma cruzi*, em análise realizada pelo LACEN-AL. Porém, nesta amostra o título de IgG anti-hantavírus foi de 800. Por isso, consideramos essa amostra reagente para hantavírus, tratando-se, portanto, de paciente com infecção passada por hantavírus.

7.3- Pacientes com doença aguda e diagnóstico laboratorial confirmado de leptospirose.

As doenças causadas por hantavírus são complexas e englobam as síndromes hemorrágicas com disfunção renal e/ou pulmonar. Nas hantavirose se faz diagnóstico diferencial da leptospirose, que também é uma zoonose de característica aguda (GODOI *et al.*, 2005), devido a similaridades na epidemiologia e apresentação clínica. Com isso, a pesquisa para hantavírus deve ser realizada em casos suspeitos de leptospirose, já que vários casos, com clínica compatível dessa doença, apresentam, na realidade, infecções por hantavírus (HINDRICHSEN *et al.*, 1993; CLEMENT *et al.*, 1999b; CLEMENT *et al.*, 2006; CLEMENT *et al.*, 2007).

Por esta razão, neste trabalho buscou-se a presença de anticorpos IgM e IgG anti-hantavírus em pacientes com leptospirose, considerando que infecções mistas por esses dois agentes já foi diagnosticada anteriormente tanto em seres humanos (KUDESIA *et al.*, 1988; IVERSON, 1996; CLEMENT *et al.*, 1999b; SION *et al.*, 2001; MARKOTIÉ *et al.*, 2002; GODOI *et al.*, 2005), como em roedores (CVETKO *et al.*, 2006). Neste estudo, todavia, não foram detectados anticorpos IgM nas 124 amostras testadas provenientes de pacientes com leptospirose (Grupo 2).

Apesar de neste estudo não ter sido encontradas infecções mistas por hantavírus e *Leptospira*, como outros autores (KUDESIA *et al.*, 1988; SION *et al.*, 2001; MARKOTIÉ *et al.*, 2002; GODOI *et al.*, 2005), encontrou-se anticorpos de memória (IgG) contra hantavírus em três pacientes com leptospirose, reforçando a hipótese de uma possível circulação de hantavírus em Alagoas. Não foi possível obter informações clínicas ou epidemiológicas de todos os pacientes sororeagentes, já que as amostras foram encaminhadas pelo LACEN-AL e faziam parte de um banco de amostras do mesmo. Contudo, após contato com um dos pacientes descobriu-se que o mesmo mora no interior do Estado, já trabalhou no plantio e colheita de grãos, nunca viajou para fora de Alagoas e não recorda de ter tido alguma doença grave antes da leptospirose. O mesmo também informou que já foi mordido por ratos. Esse achado reforça a hipótese de que casos de hantavirose estão ocorrendo em Alagoas sem o devido diagnóstico. Especula-se, contudo, que a variante de hantavírus no Estado possa ser uma espécie não patogênica.

Outros estudos reforçam a necessidade de se investigar hantavírus em infecções com suspeita de leptospirose. Na região Norte do Brasil, após uma série

de evidências de infecções por hantavírus, estudando 212 pacientes com suspeita clínica ou diagnóstico de leptospirose ou com febre de origem desconhecida, encontrou-se IgG para o vírus *Hantaan* em 8,4% e IgM em 1,9% dos pacientes (IVERSSON, 1996). Em outro estudo realizado por Iversson e cols. (1994) no Hospital Emilia Ribas em São Paulo, seis de 409 doentes internados em 1976 com suspeita clínica de leptospirose apresentavam IgM para hantavírus, sendo que, três desses soros foram reagentes para o vírus *Hantaan*, dois para o *Seoul* e um para o *Puumala*. Com isso, desde 1976 já é evidenciada a infecção humana por hantavírus no país, apesar de ter sido notificada oficialmente apenas em 1993 (VASCONCELOS *et al.*, 1997). Com base nesses resultados os autores especularam que desde a década de 1970 casos não diagnosticados de hantavirose poderiam estar ocorrendo, mesmo em pacientes atendidos em hospitais especializados em doenças infecciosas (IVERSSON *et al.*, 1994).

Essa reação observada entre os soros dos pacientes brasileiros e hantavírus do Velho Mundo, pode ser explicada pelo fato da proteína N do gênero *Hantavirus* compartilhar epítomos entre os vírus deste gênero. Por isso, é provável que tenha ocorrido reações cruzadas com espécies de hantavírus que, hoje é sabido, de fato, circulam no Brasil e que provavelmente não se tratou de infecção causada por vírus do Velho Mundo. Pois, estudos realizados demonstraram que os epítomos reconhecidos por soros de indivíduos infectados estão dispersos ao longo da proteína N (YOSHIMATSU *et al.*, 1993; GOTT *et al.*, 1997; ARAKI *et al.*, 2001; TISCHLER *et al.*, 2008), a qual, por ser um componente interno dos vírions, sofre pressões menos seletivas das respostas imunes de seus hospedeiros, do que as glicoproteínas do envelope, sendo, por isso, a proteína estrutural mais conservada e imunogênica (TISCHLER *et al.*, 2008). Por essa razão, as respostas de anticorpos induzidas contra a proteína N de um hantavírus leva à reação cruzada com a proteína N dos outros hantavírus (TISCHLER *et al.*, 2008).

Um estudo que teve grande impacto epidemiológico foi conduzido por Leduc e cols. (1985), na busca de roedores infectados, em que os autores concluíram que a hantavirose está amplamente distribuída na América do Sul. A doença pode estar presente em Alagoas, entretanto, a falta de diagnóstico é devida, como em outros locais (LEDUC *et al.*, 1984), por uma falta de suspeita clínica, também, por sua raridade e pela ausência de um teste de diagnóstico disponível. Alguns pesquisadores acreditam que no Nordeste do Brasil possam existir novas espécies

de hantavírus, uma suposição levantada devido às evidências sorológicas de infecção em diversas populações (JONSSON *et al.*, 2010).

Hindrichsen e cols. (1993) relataram em 1990 os primeiros casos de infecções por hantavírus em seres humanos na cidade de Recife/PE, pois, de 156 soros de pacientes com diagnóstico clínico provável de leptospirose, oito (5,1%) foram IgG anti-hantavírus reagentes, sendo que dois eram também reagentes para IgM (1,28%). Godoi e cols. (2005) estudando pacientes com o mesmo diagnóstico provável, também no Recife/PE, identificaram dez pacientes com anticorpos IgM e IgG para leptospirose, destes, oito tinham anticorpos IgG para hantavírus e dois tinham IgM. Todos os pacientes tiveram contato com águas contaminadas ou com ratos, em zona urbana de Recife, esses pacientes não apresentaram um quadro clínico sugestivo de doença respiratória grave, sendo a tosse o único sintoma respiratório presente.

Gamage e cols. (2011) realizaram um trabalho onde pesquisaram anticorpos anti-hantavírus em amostras de pacientes com leptospirose, mesmo nos casos onde a infecção por leptospirose foi confirmada por PCR ou aglutinação. Nesse estudo, dos 105 pacientes investigados, oito apresentaram anticorpos IgG anti-hantavírus, sendo sete do sexo masculino e uma do sexo feminino, e nenhum paciente apresentou anticorpo IgM anti-hantavírus. Esses resultados são semelhantes aos do presente trabalho, já que só foi encontrado anticorpos da classe IgG específicos para hantavírus nas amostras de soro de pacientes com leptospirose, sendo as três provenientes de indivíduos do sexo masculino. Esses dados corroboram com achados prévios descritos na literatura que demonstram maior prevalência de infecção por hantavírus em homens (ELKHOURY *et al.*, 2005).

7.4- Pacientes com suspeita clínica de dengue cuja pesquisa de NS1 foi não reagente.

Assim como a leptospirose, também é recomendado fazer o diagnóstico diferencial entre dengue e hantavirose, já que os sintomas clínicos da fase prodrômica e pulmonar são semelhantes. O reconhecimento precoce das doenças não é fácil e ambas podem ser confundidas (MENDES *et al.*, 2001; BRASIL, 2010).

No grupo 3 do presente estudo, uma amostra proveniente de paciente com suspeita de dengue (paciente 8400) apresentou-se, inicialmente, reagente para IgM

anti-hantavírus, e não reagente para IgG. Segundo Jonsson e cols. (2010) já no período prodrômico da hantavirose são encontrados altos títulos de IgM, mas a resposta de IgG pode ser atrasada no início dos sintomas. Este era o cenário esperado para a amostra do paciente 8400, visto que, de acordo com protocolo do LACEN-AL, para a pesquisa de NS1 em amostras suspeitas de dengue, as mesmas devem ser coletadas até o quinto dia da doença. Neste caso, se o paciente 8400 tivesse hantavirose, era possível ter apenas anticorpos IgM detectáveis, ao tempo da coleta da primeira amostra. No entanto, após a segunda coleta, com 161 dias de intervalo da primeira amostra, não se confirmou reação nem para IgM, nem para IgG anti-hantavírus. Nesta segunda amostra do paciente 8400, buscou-se detectar principalmente anticorpos de memória imunológica, de longa duração, da classe IgG, considerando que os anticorpos da classe IgM desaparecem da circulação após 60 dias da infecção por hantavírus (FIGUEIREDO *et al.*, 2000; FERREIRA, 2003). Apesar disso, nessa segunda amostra coletada não foi identificada a presença de anticorpos da classe IgG, desta forma, descartando-se a possibilidade de infecção por hantavírus.

Não foi possível determinar a razão da reatividade para IgM anti-hantavírus na primeira amostra do paciente 8400. Especula-se que tenha ocorrido reatividade cruzada, no entanto, se a mesma ocorreu, não foi nem para dengue, nem para Chagas e nem para *Leishmania*. Com isso, excluimos a possibilidade de a reatividade cruzada ter ocorrido devido a presença de parasitose crônica que leva à ativação policlonal de linfócitos (MONTES *et al.*, 1999).

Apesar de, neste trabalho, não ter sido identificado nenhum caso de infecção aguda ou pregressa em amostras provenientes de pacientes com suspeita de dengue, infecções por hantavírus já foram identificadas em amostras negativas para dengue, como também, infecções mistas por esses dois agentes (SUHARTI *et al.*, 2009; SILVA e EVANGELISTA, 2010). Dos Santos e cols. (2010) identificaram em suas pesquisas um paciente, na cidade de Brasília-DF, com infecção mista por dengue e hantavírus, onde a suspeita clínica inicial foi apenas de infecção pelo vírus dengue. Os mesmos autores afirmam que co-infecções podem estar sendo subestimadas devido à similaridade clínica ou achados laboratoriais inespecíficos (como hematócrito e contagem de plaquetas) também similares nestas duas enfermidades.

Um estudo realizado por Silva e Evangelista (2010) pesquisou agentes causadores de doença febril aguda, inclusive hantavírus, em pacientes com sorologia negativa para dengue, e assim como no presente estudo, não encontrou anticorpos para hantavírus, embora tenha detectado que 3,9% das amostras negativas para dengue eram reagentes para rubéola, e 13,9% eram reagentes para leptospirose. Contrariamente, Suharti e cols. (2009), analisando 118 pacientes com suspeita de dengue, selecionados devido a critérios da OMS, durante um surto de dengue, confirmaram que 5 (12%) deles possuíam sorologia positiva para hantavirose aguda.

7.5- Participantes do estudo piloto para Inquérito Sorológico para Hantavírus em Coruripe.

Realizou-se um estudo piloto para um inquérito sorológico em população rural em Alagoas, como parte da busca por infecções hantavíricas no Estado. Esta foi a primeira vez que se pesquisou anticorpos de memória (IgG) contra hantavírus na população Alagoana, na tentativa de identificar prévio contato com hantavírus entre profissionais de risco para contrair a doença.

Nos indivíduos participantes do inquérito do presente estudo, encontrou-se uma média de idade entre os positivos de 33,6 anos, enquanto em outros estudos a média de idade foi superior a 40 anos (MENDES *et al.*, 2004; SOUZA *et al.*, 2011). Contudo, Mendes e cols. (2010) afirmaram que, em uma população no Estado do Maranhão, uma idade maior que 20 anos está associada com a presença de IgG anti-hantavírus, e essa afirmação corrobora com os dados desta pesquisa, já que somente um dos participante sororeagentes do inquérito possuía menos de 20 anos de idade (Tabela 9).

Nossa pesquisa encontrou uma soroprevalência para infecções pregressas por hantavírus de 4%. Similarmente, um estudo realizado por Souza e cols. (2011) no extremo oeste de Santa Catarina demonstrou uma prevalência de 3,5%. Contudo, em um inquérito realizado na zona rural da cidade de Ribeirão Preto (SP), 16% dos indivíduos sororeagentes alegaram que já realizaram trabalhos em canaviais, porém casos de hantavirose nessa região do estado já são notificados desde 1998 (FIGUEIREDO *et al.*, 2000; BEPA, 2007).

As alterações provocadas pelas atividades agrícolas são um dos fatores determinantes na transmissão de zoonoses. A introdução de fontes de alimentação para os roedores leva ao aumento populacional desses animais, facilitando a transmissão do hantavírus. Entre as principais culturas no país que estão associadas a essas zoonoses, destacam-se: cana-de-açúcar, capim braquiária, arroz e milho (BEPA, 2007).

Em São Paulo, o trabalho com a cana-de-açúcar tem sido apontado como uma das principais formas de infecção, já que de 110 casos de hantavirose que ocorreram de 1993 a 2007, 16,36% dos casos estavam relacionados com esse tipo de trabalho (BEPA, 2007).

Dentre os trabalhadores que apresentaram anticorpos anti-hantavírus, somente dois alegaram que já tiveram uma doença grave no passado, inclusive com a falta de ar entre os sintomas. Após realização de inquérito sorológico para hantavírus em seis municípios do Estado do Maranhão, Mendes e cols. (2010) afirmaram que esta zoonose está amplamente distribuída no Estado, devido à soroprevalência encontrada (municípios de São João Batista, São Bento, Penalva, Pinheiro, Viana e Vitória do Mearim de 2,6%; 3,1%; 3,5%; 4,8%; 5,6%; e 7,8%, respectivamente). Porém nesse mesmo estudo nenhum dos participantes informou já ter tido sintomas parecidos com a SPCVH. Os autores, então, sugeriram que estão ocorrendo casos leves ou atípicos na região, mas por não apresentarem a sintomatologia clássica da SPCVH, não estão sendo diagnosticados.

Apesar da gravidade das síndromes causadas pelo hantavírus, sabe-se que ocorrem casos de infecção humana por esses vírus que produzem doença leve, sem insuficiência respiratória, entretanto as causas e fatores envolvidos neste comportamento clínico são desconhecidos (ZAVASKY et al, 1999; JONSSON *et al.*, 2010). Estes casos são comprovados devido à presença de anticorpos contra hantavírus na população geral, detectados em inquéritos sorológicos, inclusive em pessoas sem nenhuma história de doença, em regiões do Paraguai (40%), Província Salta na Argentina (17%); na cidade de Jardinópolis, interior de São Paulo (14,3%) e no município rural de Turvo (2,33%), no extremo sul de Santa Catarina (CAMPOS *et al.*, 2003; PEREIRA *et al.*, 2012). Ainda, um estudo de coorte em Anajatuba-MA, realizado por Mendes e cols. (2004), após 24 meses da realização da primeira coleta sanguínea, encontraram que quatro pessoas tinham soroconvertido para IgG anti-hantavírus, destes, dois apresentaram infecção assintomática e em outros dois a

doença foi limitada, apresentando apenas febre (MENDES *et al.*, 2010). Duas hipóteses podem explicar isso: a circulação de mais de um hantavírus na região, com virulências variadas e fatores genéticos do hospedeiro, levando a diferentes tipos de resposta imunológica (FIGUEIREDO *et al.*, 2003; BORGES *et al.*, 2006; SOUZA *et al.*, 2011).

Os títulos de anticorpos da classe IgG encontrados entre os participantes deste estudo piloto de inquérito, variaram de 100 a 1600, esse achado está de acordo com o descrito por Ye e cols. (2004) onde os autores encontraram que infecções por hantavírus induzem uma resposta humoral estável com anticorpos neutralizantes com títulos entre 100 e 3200 em até quatro anos após a SPCVH.

Nossos resultados com amostras positivas para IgG anti-hantavírus são as primeiras evidências do contato de seres humanos com hantavírus em Alagoas. Estes dados podem ser indicativos de que hantavírus estão presentes no Estado, causando infecções inaparentes ou que vêm recebendo diagnóstico equivocado e sendo, então, subnotificadas.

8 CONCLUSÕES

- ✓ Foi constatada, pela 1ª vez, a presença de anticorpos de memória da classe IgG anti- hantavírus na população Alagoana;
- ✓ Os resultados presentes demonstram uma provável circulação de hantavírus em Alagoas;
- ✓ Casos de hantavirose aguda não foram detectados durante o período de um ano de estudo;
- ✓ É possível que estejam ocorrendo casos de infecção por hantavírus sem diagnóstico em Alagoas ou a(s) espécie(s) presentes no Estado podem ser não patogênicas ou de baixa virulência;
- ✓ A ausência de história de doença grave no passado nos indivíduos com anticorpos IgG anti-hantavírus corrobora com a hipótese da existência de infecções clinicamente inaparentes no Estado;
- ✓ Apesar da reação cruzada na diluição de triagem entre o soro de pacientes com doença de Chagas e leishmaniose e a rN ARAV, as titulações posteriormente realizadas descartam os resultados falso positivos, demonstrando a especificidade do teste;
- ✓ A prevalência de anticorpos IgG anti-hantavírus nas amostras dos trabalhadores da Usina Coruripe foi de 4%;
- ✓ É importante realizar programas de divulgação sobre a doença no Estado;
- ✓ São necessários mais estudos para descobrir a espécie/sorotipo que pode estar circulando na região e sua associação clínica epidemiológica.

REFERÊNCIAS

AHN, C.; CHO, J. T.; LEE, J. G.; LIM, C. S.; KIM, Y. Y.; HAN, J. S.; KIM, S.; LEE, J. S. Detection of Hantaan and Seoul viruses by reverse transcriptase-polymerase chain reaction (RT-PCR) and restriction fragment length polymorphism (RFLP) in renal syndrome patients with hemorrhagic fever. **Clin Nephrol.** v. 53 (2), 79-89, 2000.

ARAKI, K.; YOSHIMATSU, K.; OGINO, M.; EBIHARA, H.; LUNDKVIST, A.; KARIWA, H.; TAKASHIMA, I.; ARIKAWA, J. Truncated hantavirus nucleocapsid proteins for serotyping *Hantaan*, *Seoul*, and *Dobrava* hantavirus infections. **J. Clin. Microbiol.** 39 (7), 2397–2404, 2001.

BEPA (**Boletim Epidemiológico Paulista**). Publicação mensal sobre agravos à saúde pública. SÃO PAULO. v. 4 (47), 2007. Disponível em: ftp://ftp.cve.saude.sp.gov.br/doc_tec/outros/bol_bepa47.pdf. Acesso em: 01 out. 2011.

BI, Z.; FORMENTY, P. B. H.; ROTH, C. E. Hantavirus infection: a review and global update. **J Infect Developing Countries.** v. 2 (1), 3-23, 2008.

BONVICINO, C. R.; DE OLIVEIRA, J. A.; D'ANDREA, P. S. Guia dos roedores do Brasil, com chaves para gêneros baseadas em caracteres externos. Rio de Janeiro: Centro Pan-Americano de Febre Aftosa - **OPAS/OMS**, p. 120, 2008.

BORGES, A. A.; CAMPOS, G. M.; MORELI, M. L.; SOUSA, R. L. M.; AQUINO, V. H.; SAGGIORO, F. P.; FIGUEIREDO, L. T. M. Hantavirus cardiopulmonary syndrome: Immune response and pathogenesis. **Micro Infec.** v. 8 (8), 2324-2330, 2006.

BORGES, A. A.; DONADI, E. A.; CAMPOS, G. M.; MORELI, M. L.; DE SOUSA, R. L.; SAGGIORO, F. P.; DE FIGUEIREDO, G. G.; BADRA, S. J.; DEGHAIDE, N. H.; FIGUEIREDO, L. T. M. Association of -308G/A polymorphism in the tumor necrosis factor-alpha gene promoter with susceptibility to development of hantavirus cardiopulmonary syndrome in the Ribeirão Preto region, Brazil. **Arch Virol.** v. 155 (6), 971-5, 2010.

BORGES, A. A.; FIGUEIREDO, L. T. M. Atualização de conhecimentos sobre a patogênese da Síndrome Pulmonar e Cardiovascular por Hantavirus. **Revista de Patologia Tropical.** v. 36, 191-204, 2007.

BRAGAGNOLO, C.; LEMOS, E. R. S.; OLIVEIRA, R. C.; GUIMARÃES, G.; BONALDO, M. C.; BONVICINO, C.; ALMADA, G.; MACHADO, R.; ELKHOURY, M. R.; D'ANDRÉA P. S. Hantavírus em roedores silvestres capturados em uma área não endêmica de síndrome pulmonar por hantavírus no Espírito Santo, Brasil. In: **II workshop de pesquisas aplicadas em hantavírus**, 2008, Cuiabá. Livro de resumos, p. 30, 2008.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Guia de vigilância epidemiológica / Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde. – 7ª. ed. – Brasília : **Ministério da Saúde**, 2010. 816 p.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. Doenças infecciosas e parasitárias: guia de bolso / Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde. – 6. ed. rev. – Brasília : **Ministério da Saúde**, 2005a. 320 p.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Guia de vigilância epidemiológica / Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde. – 6. ed. – Brasília : **Ministério da Saúde**, 2005b. 816 p.

CABELLO, C. C.; CABELLO, F. C. Zoonosis con reservorios silvestres: Amenazas a la salud pública y a la economía. **Revista Médica de Chile**. v. 136, 385-393, 2008.

CAMPOS, G. M.; BORGES, A. A.; BADRA, S. J.; FIGUEIREDO, G. G.; SOUSA, R. L.; MORELI, M. L.; FIGUEIREDO, L. T. M. Pulmonary and cardiovascular syndrome due to hantavirus: clinical aspects of an emerging disease in southeastern Brazil. **Rev Soc Bras Med Trop**. v. 42, 282-289, 2009.

CAMPOS, G. M.; DE SOUZA, R. L. M.; BADRA, S. J.; PANE, C.; GOMES, U. A.; FIGUEIREDO, L. T. M. Serological survey of hantavirus in Jardimopolis county, Brazil. **Journal of Medical Virology**. v. 71, 417-422, 2003.

CHANDY, S.; ABRAHAM, P.; SRIDHARAN, G. Hantaviruses: an emerging public health threat in India? A review. **J. Biosci**. v. 33 (4), 495–504, 2008.

CHILDS, J. E.; KREBS, J. W.; KSIAZEK, T. G.; MAUPIN, G. O.; GAGE, K. L.; ROLLIN, P. E.; ZEITZ, P. S.; SARISKY, J.; ENSCORE, R. E.; BUTLER, J. C.; CHEEK, J. E.; GLASS, G. E.; PETERS, C. J. A house hold-based, case-control study of environmental factors associated with Hantavirus pulmonary syndrome in the south-western United States. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**. v. 52 (5), 393-397, 1995.

CHIORATTO, G. T. S.; COSTA, E. C. V.; SOBREIRA, M.; ALMEIDA, A. M. P. Soroprevalência da infecção por hantavirus em roedores do estado do Ceará, Brasil. **Revista de patologia Tropical**, v. 39 (1), 1-6, 2010.

CLEMENT, J; NEILD, G.H; MAES, P; LEIRS, H; MATTHYS, P; RANST, M.V. Symptomatic human hantavirus in the Americas. **Emerging Infectious Diseases**, v.13(2), 345, 2007.

CLEMENT, J.; MAES, P.; MUTHUSETHUPATHI, M.; NAINAN, G.; RANST, M. V. First evidence of fatal hantavirus nephropathy in India, mimicking leptospirosis. **Nephrol Dial Transplant**. v. 21, 826-827, 2006.

CLEMENT, J.; HINRICHSEN, S.; CRESCENTE, J.; BIGAIGNON, G.; YERSIN, C.; MUTHUSETHUPATHI, M. Hantavirus-induced hemorrhagic fever with renal syndrome (HFRS) has to be considered in the differential diagnosis of leptospirosis-suspected cases in the New and the Old World. **Am J Trop Med Hyg**. v. 61, 316-7, 1999a.

CLEMENT, J.; NEILD, G.; HINRICHSEN, S. L.; CRESCENTE, J. A.; RANST, M. V. Urban leptospirosis versus urban hantavirus infection in Brazil. **Lancet**. v. 354, 2003, 1999b.

CVETKO, L.; TURK, N.; MARKOTIC, A.; MILAS, Z.; MARGALETIC, J.; MILETIC-MEDVED, M.; PLYUSNIN, A.; BARATON, G.; POSTIC, D.; AVSIC-ZUPANC, T. Dual infections with *Puumala virus* and *Leptospira interrogans* serovar lora in a bank vole (*Clethrionomys glareolus*). **Am. J. Trop. Med. Hyg.** v. 74 (4), 612-614, 2006.

DA SILVA, M. V.; VASCONCELOS, M. J.; HIDALGO, N. T. R.; VEIGA, A. P. R.; CANZIAN, M.; MAROTTO, P. C. F.; LIMA, V. C. P. Hantavirus Pulmonary Syndrome. Report of the first three cases in São Paulo, Brazil. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*. v. 39 (4), 231-234, 1997.

DASZAK, P.; CUNNINGHAM, A. A.; HYATT, A. D. Anthropogenic environmental change and the emergence of infectious diseases in wildlife. **Acta Tropica**. v. 78 (2), 103-116, 2001.

DOS SANTOS, V. M.; DE SÁ, D. A.; MARTINS, R. R.; PAZ, B. C.; DE OLIVEIRA, E. R.; BARCELOS, M. S. Hantavirus pulmonary syndrome coexistent with Dengue. **Indian J Chest Dis Allied Sci**. v. 52 (4), 249-251, 2010.

EARLE D. P. Analysis of sequential physiologic derangements in epidemic hemorrhagic fever, with a commentary on management. **American Journal Medicine**. v. 16 (5), 690-709, 1954.

ELKHOURY, M. R.; WADA, M. Y.; CARMO, E. H.; LUNA, E. J. A.; ELKHOURY, A. S. M.; TEIXEIRA, K. G.; NUNES, M. L.; BARBOSA, N. P.; CALDAS, E. P.; CALDAS, A. C. S.; MARQUES, A. A. R.; BRITO, M. G.; RUBIO, G. B. G.; SILVA, L. P.; KATZ, G.; DELFINO, D.; TRAVASSO DA ROSA, E. S.; MOREIRA, F. G. Aspectos epidemiológicos da infecção e da patogenicidade por hantavirus no Brasil (2004). **Boletim Eletrônico Epidemiológico**. ano 05, nº 03, 2005. Disponível em: <http://www.saude.gov.br/svs>. Acessado em: 26 de junho de 2011.

ENRIA, D. A. M.; BRIGGILER, A. M.; PINI, N.; LEVIS, S. Clinical manifestations of New World hantaviruses. **Curr Top Microbiol Immunol**. v. 256, 117-134, 2001.

ENRIA, D. A. M.; PADULA, P.; SEGURA, E. L.; PINI, N.; EDELSTEIN, A.; POSSE, C. R.; WEISSENBACHER, M. C. Hantavirus pulmonary syndrome in Argentina. Possibility of person-to-person transmission. **Medicina (B Aires)**. v. 56 (6), 709-711, 1996.

ESCUTENAIRE, S.; PASTORET, P. P. Hantavirus infection epidemiology in Belgium. **Bull Mem Acad R Med Belg**. v. 156(1-2), 137-44, 2001.

FERREIRA, M. S. Hantaviruses. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.**, Brasília, v. 36 (1), 81-96, 2003.

FERREIRA, M. S.; NISHIOKA, S.; SANTOS, T.L.; SANTOS, R.P.; SANTOS, P.S.; ROCHA, A. Hantavirus pulmonary syndrome in Brazil: clinical aspects of three new cases. **Rev Inst Med Trop Sao Paulo**. v. 42 (1), 41-6, 2000.

FIGUEIREDO, L. T. M. Vírus Brasileiros da família *Bunyaviridae*. **Medicina, Ribeirão Preto**. v. 32, 154-158, 1999.

FIGUEIREDO, L. T. M. Febres hemorrágicas por vírus no Brasil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**. v. 39 (2), 203-210, 2006.

FIGUEIREDO, G. G.; BORGES, A. A.; CAMPOS, G. M.; MACHADO, A. M.; SAGGIORO, F. P.; SABINO, G. S. J.; ALBERILLA, A.; FIGUEIREDO, L. T. M. Diagnosis of human and rodent infections by hantavirus in Ribeirão Preto, Brazil. **Rev Soc Brasil Med Trop**. v. 43 (4), 348-354, 2010.

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 an enzyme-linked immunosorbent assay based on Araraquara virus recombinant nucleocapsid protein. **Am J Trop Med Hyg**. v. 81(2), 273-6, 2009.

FIGUEIREDO, L. T. M.; MORELI, M. L.; CAMPOS, G. M.; SOUSA, R. L. M. Hantaviruses in Sao Paulo State, Brazil. **Emer. Infec. Dis**. v. 9 (7), 891- 892, 2003.

FIGUEIREDO, L. T. M.; CAMPOS, G. M.; RODRIGUES, F. B. Síndrome pulmonar e cardiovascular por Hantavirus: aspectos epidemiológicos, clínicos, do diagnóstico laboratorial e tratamento. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 34 (1), 13-23, 2001.

FIGUEIREDO, L. T. M.; FORSTER, A. C.; FULHORST, C.; RODRIGUES, E. M. S.; KOSTER, F.; CAMPOS, G. M.; KATZ, G.; FELIPE, J. S.; PEREIRA, L. E.; IVERSSON, L. B.; SIMÃO, M.; PADULA, P.; FELIX, P.; VASCONCELOS, P.; BRADLEY, R.; SHOPE, R.; OLIVEIRA, R. C.; HINRICHSEN, S. L. Contribuição ao conhecimento sobre a hantavirose no Brasil. **Informe Epidemiológico do SUS**. v. 9 (3), 167-178, 2000.

FUNASA - Fundação Nacional de Saúde-. Boletim eletrônico epidemiológico. Investigação de um surto familiar de Hantavirose em Santa Catarina, Brasil. Nº 1, 5-6, 2002. Disponível em: http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/ano02_n01_surto_familiar_hantavirus_sc.pdf. Acesso em 24 de Nov. 2011.

GAMAGE, C. D.; YASUDA, S. P.; NISHIO, S.; KULARATNE, S. A.; WEERAKOON, K.; RAJAPAKSE, J.; NWAFOR-OKOLI, C.; LEE, R. B.; OBAYASHI, Y.; YOSHIMATSU, K.; ARIKAWA, J.; TAMASHIRO, H. Serological evidence of Thailand virus-related hantavirus infection among suspected leptospirosis patients in Kandy, Sri Lanka. **Jpn J Infect Dis**. v. 64 (1), 72-75, 2011.

GODOI, J. T. A. M.; HINRICHSEN, S. L.; GODOI, E. T. A. M.; MOURA, I. M. F.; JUCÁ, M. B.; DANDA, G. J. N.; MARTINS, R. C.; TOLIM, H.; BRINDEIRO, D.

Leptospirose e doença por Hantavirus: relato de dez casos. **Revista Brasileira de Medicina**. v. 62, 450-453, 2005.

GOTT, P.; ZOLLER, L.; DARAI, G.; BAUTZ, E. K. F. A major antigenic domain of hantaviruses is located on the aminoproximal site of the viral nucleocapsid protein. **Virus Genes**. v. 14 (1), 31-40, 1997.

HALLIN, G. W.; SIMPSON, S. Q.; CROWELL, R. E.; JAMES, D. S.; KOSTER, F. T.; MERTZ, G. J.; LEVY, H. Cardiopulmonary manifestations of hantavirus pulmonary syndrome. **Crit Care Med**. v.24 (2), 252-258, 1996.

HANTAVIROSES. Ministério da Saúde. Disponível em: http://portal.saude.gov.br/portal/saude/profissional/area.cfm?id_area=1558. Acesso em: 18 out. 2011.

HART, C. A.; BENNETT, M. Hantavirus infections: epidemiology and pathogenesis. **Microbes Infect**. v.1 (14), 1229-1237, 1999.

HINDRICHSEN, S.; ANDRADE, A. M.; CLEMENT, J.; LEIRS, H.; KENNA, P. M.; MATTHYS, P.; NEILD, G. H. Hantavirus infection in Brazilian patients from Recife with suspected leptospirosis. **Lancet**. v. 341, 50, 1993.

HJELLE, B.; JENISON, S. A.; GOADE, D. E.; GREEN, W. B.; FEDDERSEN, R. M, SCOTT AA. Hantaviruses: clinical, microbiologic, and epidemiologic aspects. **Crit Rev Clin Lab Sci**. v. 32 (5-6), 469-508, 1995.

HJELLE, B.; TORRES-PÉREZ, F. Hantaviruses in the Americas and their role as emerging pathogens. **Viruses**. v. 2, 2559-2586, 2010.

HOOPER, J. W.; LARSEN, T.; CUSTER, D. M.; SCHMALJOHN, C. S. A lethal disease model for hantavirus pulmonary syndrome. **Virology**. v. 289 (1), 6-14, 2001.

IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística – Síntese de indicadores sociais, 2010. Uma análise das condições de vida da população Brasileira. Disponível em: <http://www.ibge.gov.br/home/presidencia/noticias/imprensa/ppts/0000000144.pdf>. Acesso em: 15 de Nov. de 2011.

ICTV (International Committee on Taxonomy of Viruses), 2009. Disponível em: <http://www.ictvonline.org/virusTaxonomy.asp?version=2009>. Acesso em: 20 out. 2011.

IVERSSON, L. B. Doença humana por hantavirus. In: Veronesi R, Focaccia R , editores. **Tratado de infectologia**, 1ª edição, São Paulo, Atheneu, 219-228, 1996.

IVERSSON, L. B.; TRAVASSO DA ROSA, A. P A.; ROSA, M. D. B.; LOMAR, A. V.; SASAKI, M. G. M.; LEDUC, J. W. Infecção humana por Hantavirus no Sul e Sudeste do Brasil. **Rev. Ass. Med. Brasil**. v. 40(2), 85-92, 1994.

JOHNSON, A. M.; SOUZA, L. T. M.; FERREIRA, I. B.; PEREIRA, L. E.; KSIAZEK, T. G.; ROLLIN, P. E.; PETERS, C. J.; NICHOL, S. T. Genetic investigation of novel hantaviruses causing fatal HPS in Brazil. **Journal of Medical Virology**. v. 59, 527-535, 1999.

JONSSON, C. B.; FIGUEIREDO, L. T. M.; VAPALAHTI, O. A Global Perspective on Hantavirus Ecology, Epidemiology, and Disease. *Clin Microbiol Rev*. v. 23 (2), 412-441, 2010.

JOHNSON, K. M. Hantaviruses: History and Overview. In: SCHMALJOHN, C.S. and NICHOL, S.T. (eds). **Hantaviruses**. Springer-Verlag Berlin Heidelberg, Germany, p. 1-14, 2001.

KALLIO, E. R.; BEGON, M.; HENTTONEN, H.; KOSKELA, E.; MAPPE, T.; VAHERI, A.; VAPALAHTI, O. Cyclic hantavirus epidemics in humans — Predicted by rodent host dynamics. **Epidemics**. v. 1, 101-107, 2009.

KANERVA, M.; PAAKKALA, A.; MUSTONEN, J.; PAAKKALA, T.; LAHTELA, J.; PASTERNAK, A. Pulmonary involvement in nephropathia epidemica: radiological findings and their clinical correlations. **Clin Nephrol**, v. 46, 369–378, 1996.

KHAN, A. S.; KHABBAZ, R. F.; ARMSTRONG, L. R.; HOLMAN, R. C.; BAUER, S. P.; GRABER, J.; STRINE, T.; MILLER, G.; REEF, S.; TAPPERO, J.; ROLLIN, P. E.; NICHOL, S. T.; ZAKI, S. R.; BRYAN, R. T.; CHAPMAN, L. E.; PETERS, C. J.; KSIAZEK, T. G.. Hantavirus pulmonary syndrome: The first 100 us cases. **J Infect Dis**. v. 173 (6), 1297-1303, 1996.

KO, A.; REIS, M. G.; DOURADO, C. M. R.; JOHNSON-JÚNIOR, W. D.; RILEY, L. W.; SALVADOR LEPTOSPIROSIS STUDY GROUP. Urban epidemic of severe leptospirosis in Brazil. **Lancet**. v. 354, 820-825, 1999.

KUDESIA, G.; CHRISTIE, P.; WALKER, E.; PINKERTON, I.; LLOYD, G. Dual infection with leptospira and hantavirus. **Lancet**. v. 18, 1937, 1988.

LEE, H. W. Hemorrhagic fever with renal syndrome in Korea. **Rev Infectious Diseases**. v. 11 (Suppl. 4), 864-876, 1989.

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

LEE, H. W.; LEE, P. W.; JOHNSON, K. M. Isolation of the etiologic agent of Korean hemorrhagic fever. **The Journal of Infectious Diseases**, v. 137, n. 3, p. 298-308, Mar. 1978.

LEE, H. W.; LEE, P. W. Korean hemorrhagic fever. II. Isolation of etiologic agent. **Journal of the Korean Society of Virology**, v. 7, 1-9, 1977.

LEE, H. W.; LEE, P. W. Korean hemorrhagic fever. I. Demonstration of causative antigen and antibodies. **Korean Journal of Internal Medicine**, v. 19, 371-383, 1976.

LEE, H. W.; LEE P. W.; LAHDEVIRTA J.; BRUMMER-KORVENTKONIO M. Aetiological relation between Korean haemorrhagic fever and nephropathia epidemica. **Lancet**. v. 1(8109), 186-187, 1979.

LEE, P. W.; AMYX, H. L.; YANAGIHARA, R.; GAJDUSEK, D. C.; GOLDGABER, D.; GIBBS, C. J. Partial characterization of Prospect Hill virus isolated from meadow voles in the United States. **Journal Infectious Diseases**, v. 152, 826-829, 1985.

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

LEDUC, J. W.; SMITH, G. A.; CHILDS, J. E.; PINHEIRO, F. P.; MAIZTEGUI, J. I.; NIKLASSON, B.; ANTONIADES, A.; ROBINSON, D. M.; KHIN, M.; SHORTRIDGE, K. F.; WOOSTER, M. T.; ELWELL, M. R.; ILBERY, P. L. T.; KOECH, D.; ROSA, E. S. T.; ROSEN, T. Global survey of antibody to Hantaan-related viruses among peridomestic rodents. **Bulletin of the World Health Organization**. v. 64 (1), 139-144, 1986.

LEDUC, J.W; SMITH, G.A; PINHEIRO, F.P; VASCONCELOS, P.F.C; ROSA, E.S.T; MAIZTEGUI, J.I. Isolation of a Hantaan-related virus from Brazilian rats and serologic evidence of its widespread distribution South America. **Am. J. Trop. Med. Hyg.** v. 34 (4), 810-815, 1985.

LEDUC, J. W.; SMITH, G. A.; JOHNSON, K. M. Hantaan-like viruses from domestic rats captured in the United States. **Am. J. Trop. Med. Hyg.** v. 33 (5), 992-998, 1984.

LEMOS, E. R. S.; D'ANDREA, P. S.; BONVICINO, C. S.; FAMADAS, K. M.; PADULA, P.; CAVALCANTI, A. A.; SCHATZMAYR, H. G. Evidence of hantavirus infection in wild rodents captured in a rural area of state of São Paulo, Brazil. **Pesquisa Veterinária Brasileira**. v. 24 (2), 71-73, 2004.

LIMONGI, J. E.; DA COSTA, F. C.; DE PAULA, M. B.; PINTO, R. M.; OLIVEIRA, M. L.; PAJUABA NETO, A. A.; BORGES, A. S.; FERREIRA, M. S. Hantavirus cardiopulmonary syndrome in the Triângulo Mineiro and Alto Paranaíba regions, State of Minas Gerais, 1998-2005: clinical-epidemiological aspects of 23 cases. **Rev Soc Bras Med Trop**. v. 40 (3), 295-299, 2007.

LINDERHOLM, M.; BILLSTRÖM, A.; SETTERGREN, B.; TÄRNVIK, A. Pulmonary involvement in nephropathia epidemica as demonstrated by computed tomography. **Infection**, v. 20 (5), 263-266, 1992.

LYUBSKY, S.; GAVRILOVSKAYA, I.; LUFT, B.; MACKOW, E. *Sin Nombre* virus pathogenesis in *Peromyscus maniculatus*. **J Virol**. v. 73 (1):585-591, 1999.

LYUBSKY, S.; GAVRILOVSKAYA, I.; LUFT, B.; MACKOW, E. Histopathology of *Peromyscus leucopus* naturally infected with pathogenic NY-1 hantaviruses: pathologic markers of HPS viral infection in mice. **Lab Invest**. v. 74 (3), 627-633, 1996.

MACHADO, A. M.; MACHADO, A. R. S. R.; MORELI, M. L.; RIBEIRO, B. M.; FIGUEIREDO, L. T. M.; WOLFF, J. L. C. Expression of recombinant *Araraquara* Hantavirus nucleoprotein in insect cells and its use as an antigen for immunodetection compared to the same antigen expressed in *Escherichia coli*. **Virology Journal**. v. 8, 218, 2011.

MÄKELÄ, S.; KOKKONEN, L.; ALA-HOULA, I.; GROUNDSTROEM, K.; HARMOINEN, A.; HUHTALA, H.; HURME, M.; PAAKKALA, A.; PÖRSTI, I.; VIRTANEN, V.; VAHERI, A.; MUSTONEN, J. More than half of the patients with acute *Puumala* hantavirus infection have abnormal cardiac findings. **Scand J Infect Dis**, v. 41 (1), 57-62, 2009.

MALECKI, T. M.; JILLSON, G. P.; THILSTED, J. P.; ELROD, J.; TORREZ-MARTINEZ, N.; HJELLE, B. Serologic survey for hantavirus infection in domestic animals and coyotes from New Mexico and northeastern Arizona. **J Am Vet Med Assoc**. v. 212 (7), 970-973, 1998.

MARKOTIÉ, A.; KUZMAN, I.; BABIÉ, K.; GAGRO, A.; NICHOL, S. T.; KSIAZEK, T. G.; RABATIÉ, S.; DEKARIS, D. Double trouble: hemorrhagic fever with renal syndrome and leptospirosis. **Scandinavian Journal of Infectious Diseases**. v. 34 (3), 221-224, 2002.

MASCARENHAS-BATISTA, A. V.; TRAVASSOS DA ROSA, E. S.; KSIAZEC, T. G.; TRAVASSOS DA ROSA, A. P. A.; LEDUC, J. W.; PINHEIRO, F.; TAVARES-NETO, J. Anticorpos anti-hantavirus em escolares de Salvador, Bahia. **Revista Sociedade Brasileira Medicina Tropical**. v. 31(5), 433-440, 1998.

MCCORMICK, J. B.; SASSO, D. R.; PALMER, E. L.; KILEY, M. P. Morphological identification of the agent of Korean haemorrhagic fever (Hantaan virus) as a member of the Bunyaviridae. **Lancet**. v. 1, 765-768, 1982.

MENDES, W. S.; DA SILVA, A. A. M.; NEIVA, R. F.; COSTA, N. M.; DE ASSIS, M. S.; VIDIGAL, P. M. O.; LEITE, N. G. L.; ROSA, E. S. T.; MEDEIROS, D. B. A.; SIMITH, D. B.; VASCONCELOS, P. F. C. Serological survey of hantavirus infection, Brazilian Amazon. **Emerging Infectious Diseases**. v. 16 (5), 889-891, 2010.

MENDES, W.S.; DA SILVA, A. A. M.; ARAGÃO, L. F. C.; ARAGÃO, N. J. L.; RAPOSO, M. L.; ELKHOURY, M. R.; SUZUKY, A.; IVANI, B.; FERREIRA, I. B.; DE SOUSA, L. T.; CLÁUDIO, S.; PANNUTI, C. S. Hantavirus Infection in Anajatuba, Maranhão, Brazil. **Emerging Infectious Diseases**, v. 10(8), 1496-1498, 2004.

MENDES, W.S.; ARAGÃO, N. J. L.; SANTOS, H.J.; RAPOSO, L.; VASCONCELOS, P.F.C.; ROSA, E.S.T.; ELKHOURY, M.R. Hantavirus pulmonary syndrome in Anajatuba, Maranhão, Brazil. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**. v.43(4), 237-240, 2001.

MILLS, J. N.; KSIAZEK, T. G.; ELLIS, B. A.; ROLLIN, P. E.; NICHOL, S. T.; YATES, T. L.; GANNON, W. L.; CRAIG, E. L.; ENGELTHALER, D. M.; DAVIS, T.; TANDA, D. T.; WYATT-FRAMPTON, J.; NICHOLS, C. R.; PETERS, C. J.; CHILDS, J. E. Patterns of association with host and habitat: Antibody reactive with Sin Nombre

virus in small mammals in the major biotic communities of the southwestern United States. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**. v. 56 (3), 273-284, 1997.

MINOPRIO, P. Parasite polyclonal activators: new targets for vaccination approaches? **International Journal for Parasitology**. v. 31, 588-591, 2001.

MONTES, C. L.; ZUÑIGA, E.; MINOPRIO, P.; VOTTERO-CIMA, E.; GRUPPI, A. A *Trypanosoma cruzi* Alkaline Antigen Induces Polyclonal B-Cell Activation of Normal Murine Spleen Cells by T-Cell-Independent, BCR-Directed Stimulation **Scand. J. Immunol**. v. 50, 159–166, 1999.

MORELI, M. L. Diagnóstico de hantavirus por detecção genômica com estudo filogenético e produção de uma proteína recombinante. Ribeirão Preto. 2005, 127f. Tese de Doutorado. Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo.

MORENO, M. S.; CASTELÃO, R. C.; BRAGA, R. T. C.; LOBO, S. M. Síndrome Pulmonar por Hantavírus com Disfunção de Múltiplos Órgãos. **Revista Brasileira de Terapia Intensiva**. v. 19 (4), 494-498, 2007.

MURANYI, W.; BAHR, U.; ZEIER, M.; VAN DER WOUDE, F. J. Hantavirus infection. **J Am Soc Nephrol**. v. 16 (12), 3669-3679, 2005.

NICHOL, S. T.; SPIROPOULOU, C. F.; MORZUNOV, S.; ROLLIN, P. E.; KSIAZEK, 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 (5135), 914-917, 1993.

NUNES, M. L. Vigilância da Hantavirose no Brasil e no Estado de Goiás. 2010. Disponível em: http://www.sgc.goias.gov.br/upload/links/arq_982_HANTA_AVigilanciaAdaAHantavir ose.pdf. Acesso em 26 de março 2012.

OLIVEIRA, R. C.; TEIXEIRA, B. R.; MELLO, F. C. A.; PEREIRA, A. P.; DUARTE, A. S.; BONALDO, M. C.; BONVICINO, C. R.; D'ANDREA, P. S.; LEMOS, E. R. S. Genetic characterization of a Juquitiba-like viral lineage in *Oligoryzomys nigripes* in Rio de Janeiro, Brazil. **Acta Tropica**. v. 112, 212–218, 2009.

PADULA, P. J.; COLAVECCHIA, S. B.; MARTÍNEZ, V. P.; GONZALEZ DELLA VALLE, M. O.; EDELSTEIN, A.; MIGUEL, S. D. L.; RUSSI, J.; MORA RIQUELME, J.; COLUCCI, N.; ALMIRÓN, M.; RABINOVICH, R. D. Genetic Diversity, Distribution, and Serological Features of Hantavirus Infection in Five Countries in South America. **Journal of Clinical Microbiology**. v. 38 (8), 3029–3035, 2000.

PEDROSA, C. M. S.; ROCHA, E. M. M. Aspectos clínicos e epidemiológicos da leishmaniose visceral em menores de 15 anos procedentes de Alagoas, Brasil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**. v. 37(4): 300-304, 2004.

PEREIRA, G. W.; TEIXEIRA, A. M.; SOUZA, M. S.; SABINO-SANTOS, G.; FIGUEIREDO, L. T. M., BORGES, A. A. Prevalence of serum antibodies to hantavirus in a rural population from the southern state of Santa Catarina, Brazil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, 2012 no prelo.

PEREIRA, M. G. Estrutura, vantagens e limitações dos principais métodos. In: PEREIRA, M. G. **Epidemiologia, teoria e prática**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, cap. 13, 289-306, 1995.

PINCELLI, M. P.; BARBAS, C. S. V.; CARVALHO, C. R. B.; SOUZA, L. T. M.; FIGUEIREDO, L. T. M. Síndrome pulmonar e cardiovascular por hantavirus. **J Pneumol**. v. 29 (5), 309-324, 2003.

PLYUSNIN, A. Genetics of hantaviruses: implications to taxonomy. **Archives of Virology**. v. 147 (4), 665-682, 2002.

PLYUSNIN, A.; VAPALAHTI, O.; VAHERI, A. Hantavirus: genome structure, expression and evolution. **Journal of General Virology**. v. 77, 2677-2687, 1996.

PULJIZ, I.; KUZMAN, I.; MARKOTIC, A.; TURCINOV, D.; MATIC, M.; MAKEK, N. Electrocardiographic changes in patients with haemorrhagic fever with renal syndrome. **Scand J Infect Dis**, v. 37 (8), 594-598, 2005.

RABONI, S. M.; LEVIS, S.; ROSA, E. S. T.; BISORDI, I.; DELFRARO, A.; LEMOS, E.; CORREIA, D. C.; SANTOS, C. N. D. Hantavirus infection in Brazil: development and evaluation of an enzyme immunoassay and immunoblotting based on N recombinant protein. **Diagnostic Microbiology and Infectious Disease**. v. 58, 89-97, 2007.

RABONI, S. M. Caracterização molecular de Hantavírus. Estudos filogenéticos e geração de insumos para o diagnóstico e prevenção da Hantavirose, 2006. 87f. **Tese de Doutorado**. Pós-Graduação em Biologia Celular e Molecular, Universidade Federal do Paraná.

RASMUSON, J.; ANDERSSON, C.; NORRMAN, E.; HANEY, M.; EVANDER, M.; AHLM, C. Time to revise the paradigm of hantavirus syndromes? Hantavirus pulmonary syndrome caused by European hantavirus. **Eur J Clin Microbiol Infect Dis**, v. 30, 685-690, 2011.

RIQUELME, R.; RIQUELME, M.; TORRES, A.; RIOSECO, M. L.; VERGARA, J. A.; SCHOLZ, L.; CARRIEL, A. Hantavirus pulmonary syndrome, southern Chile. **Emerg. Infect. Dis**. v.9 (11), 1438-1443, 2003.

RUO, S. L.; LI, Y. L.; TONG, Z.; MA, Q. R.; LIU, Z. L.; TANG, Y. W.; YE, K. L.; XU, Z. Y.; MCCORMICK, J. B.; FISHER-HOCH, S. P. Retrospective and prospective studies of hemorrhagic fever with renal syndrome in rural China. **The Journal of Infectious Diseases**. v. 170 (3), 527-534, 1994.

SANTOS JÚNIOR, J.A; Barros, P.A; FEITOSA, R.C.S; SILVA, J.M; LIMA, M.C; SABINO, G. S.J; FIGUEIREDO, L. T. M.; BORGES, A. A. Avaliação da reatividade

cruzada entre anticorpos anti-trypanosoma cruzi e proteína N recombinante do Hantavírus Araraquara em teste imunoenzimático. In: **XLVII Congresso da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, 2011, Natal. Programa oficial do XLVII Congresso da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical, p. 419-419, 2011.

SCHMALJOHN, C. S.; DAIRYMPLE, J. M. Analysis of Hantaan virus RNA: Evidence for a new genus of Bunyaviridae. **Virology**. v. 131, 482-491, 1983.

SCHMALJOHN, C. S.; HASTY, S. E.; HARRISON, S. A.; DAIRYMPLE, J. M. Characterization of Hantaan virions, prototype virus of hemorrhagic fever with renal syndrome. **J. Infect. Dis.** v. 148, 1005-1012, 1983.

SCHMALJOHN, A. L.; LI, D.; NEGLEY, D. L.; BRESSLER, D. S.; TURELL, M. J.; KORCH, G. W.; ASCHER, M. S.; SCHMALJOHN, C. S. Isolation and initial characterization of a newfound Hantavírus from California. **Virology**, v. 206 (2), 963-972, 1995.

SCHMALJOHN, C.; HJELLE, B. Hantaviruses: A Global Disease Problem. **Emerging Infectious Diseases**. v. 3 (2), 95-104, 1997.

SCHMALJOHN, C. S.; NICHOL, T. S. In: KNIPE, D. M.,; HOWLEY, P. M.; GRIFFIN, D. E.; LAMB, R. A.; MARTIN, M. A.; ROIZMAN, B.; STRAUS, S. E. (ed.), **Fields virology**, 5th ed., vol. 2. Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, PA. **Fields Virology**, 5th Edition Lippincott Williams & Wilkins 2007. p. 1741-1789.

SCHMIDT, R. A. C. Construção do conhecimento do indivíduo no processo de sensibilização-conscientização- ação sobre a Hantavirose e a oportunidade para o controle e a prevenção de zoonoses emergentes: a experiência da hantavirose em Santa Catarina/Brasil. **Saúde Soc. São Paulo**, v.16 (3), 111-124, 2007.

SILVA, A. D.; EVANGELISTA, M. S. Syndromic surveillance: etiologic study of acute febrile illness in dengue suspicious cases with negative serology. Brazil, Federal District, 2008. **Rev Inst Med Trop Sao Paulo**. v. 52 (5), 237-242, 2010.

SIMMONS, J. H.; RILEY, L. K. Hantaviruses: an overview, **Comp Med**. v. 52 (2), 97-110, 2002.

SINAN/SVS/MS. Casos confirmados de Hantavirose. Brasil, Grandes Regiões e Unidades Federadas. 1993 a 2011. Disponível em: http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/casos_conf_hantavirose_29_11_11.pdf.

SION, M. L.; HATZITOLIOS, A. I.; ARMENAKA, M. C.; TOULIS, E. N.; KALAMPALIKA, D.; MIKOUDI, K. D. Acute renal failure caused by leptospirosis and Hantavirus infection in an urban hospital. **European Journal of Internal Medicine**. v. 13, 164-268, 2002.

SJOLANDER B. K., ELGH F., KALLIO-KOKKO H., VAPALAHTI O., HAGGLUND M., PALMCRANTZ V., JUTO P., VAHERI A., NIKKLASSON B., LUNDKVIST A. Evaluation of serological Methods for diagnosis of Puumla hantavirus infection

(Nephropathia Epidemica). **Journal of Clinical Microbiology**. v. 35(12), 3264-3268, 1997.

SLONOVA, R. A.; TKACHENKO, E. A.; KUSHNAREV, E. L.; DZAGUROVA, T. K.; ASTAKOVA, T. I. Hantavirus isolation from birds. **Acta Virol**. v. 36 (5), 493, 1992.

SOUZA, W. M.; MACHADO, A. M.; FIGUEIREDO, L. T.; BOFF, E. Serosurvey of hantavirus infection in humans in the border region between Brazil and Argentina. **Rev Soc Bras Med Trop**. v. 44 (2), 131-135, 2011.

SUHARTI, C.; VAN GORP, E. C. M.; DOLMANS, W. M. V.; GROEN, J.; HADISAPUTRO, S.; DJOKOMOELJANTO, R. J.; DME, O. A.; VAN DER MEER, J. W. M. Hanta virus infection during dengue virus infection outbreak in Indonesia. **Acta Med Indones**. v. 41(2),75-80, 2009.

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. Identifying Rodent Hantavirus Reservoirs, Brazil. **Emerging Infectious Diseases**. v. 10 (12), 43-50, 2004.

TANG, Y. W.; XU, Z. Y.; ZHU, Z. Y.; TSAI, T. F. Isolation of haemorrhagic fever with renal syndrome virus from *Suncus murinus*, an insectivore. *Lancet*. v. 1(8427), 513-514, 1985.

TISCHLER, N. D.; GALENO, H.; ROSEMBLATT, M.; VALENZUELA, P. D. T. Human and rodent humoral immune responses to Andes virus structural proteins. **Virology**. v. 334 (2), 319-326, 2005.

TISCHLER, N. D.; ROSEMBLATT, M.; VALENZUELA, P. D. Characterization of cross-reactive and serotype-specific epitopes on the nucleocapsid proteins of hantaviruses. **Virus Res**. v. 135 (1),1-9, 2008.

TORO, J.; VEJA, J. D.; KHAN, A. S.; MILLS, J. N.; PADULA, P.; TERRY, W.; YADÓN, Z.; VALDERRAMA, R.; ELLIS, B. A.; PAVLETIC, C.; CERDA, R.; ZAKI, S.; SHIEH, W. J.; MEYER, R.; TAPIA, M.; MANSILLA, C.; BARO, M.; VERGARA, J. A.; CONCHA, M.; CALDERON, G.; ENRIA, D.; PETERS, C. J.; KSIAZEK, T. G. An outbreak of hantavirus pulmonary syndrome, Chile, 1997. **Emerg. Infect. Dis**. v.4 (4), 687-694, 1998.

TRAVASSO DA ROSA, S. T. E. Correlação virus-hospedeiro e epidemiologia molecular de hantavírus em dois distintos ecossistemas amazônicos: Maranhã e Pará-Mato Grosso. **Tese de doutorado**. Rio de Janeiro: Instituto Oswaldo Cruz, 2008.

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

TSAI, T. F. Hemorrhagic fever with renal syndrome: clinical aspects. **Lab Anim Sci.** v. 37 (4), 419-427, 1989.

VAPALAHTI, O.; MUSTONEN, J.; LUNDKVIST, A.; HENTTONEN, H.; PLYUSNINA, A.; VAHERI, A. Hantavirus infections in Europe. **Lancet Infect Dis.** v. 3 (10), 653-661, 2003.

VASCONCELOS, M. I.; LIMA, V. P.; IVERSSON, L. B.; ROSA, M. D.; ROSA, A. P.; DA ROA, E. S.; PEREIRA, L. E.; NASSAR, E.; KATZ, G.; MATILDA, L. H.; ZAPAROLI, M. A.; FERREIRA, J. J.; PETERS, C. J. Hantavirus pulmonary syndrome in the rural area of Juquitiba, São Paulo metropolitan area, Brazil. **Rev Inst Med Trop. São Paulo.** 39 (4), 237-238, 1997.

VICENTE, L. H. B.; FERNANDES, J.; OLIVEIRA, R. C.; GUTERRES, A.; CARDOSO, T.; TEIXEIRA, B. R.; FAVACHO, A. R. M.; GERHARDT, M.; VAZ, V. C.; BONVICINO, C. R.; DANDREA, P. S.; LEMOS, E. R. S. hantavirus in wild rodents in a non-endemic area of hantavirus cardiopulmonary syndrome. In: **XXII National meeting of virology. VI Mercosur meeting of virology**, 2011, Atibaia, São Paulo. Journal of the Brazilian Society for Virology, p. 277-277, 2011.

VIRTANEN, J. O.; JÄÄSKELÄINEN, K. M.; DJUPSJÖBACKA, J.; VAHERI, A.; PLYUSNIN, A. *Tula* hantavirus NSs protein accumulates in the perinuclear area in infected and transfected cells. **Arch Virol.** v. 155, 117-121, 2010.

YANG, Z.; LIU, Y.; PENG, Z. Epidemiologic and experimental studies on epidemic haemorrhagic fever virus in pigs. **Chin J Epidemiol.** v. 19 (4): 218-220, 1998.

YE, C.; PRESCOTT, J.; NOFCHISSEY, R.; GOADE, D.; HJELLE, B. Neutralizing antibodies and *Sin Nombre* virus RNA after recovery from hantavirus cardiopulmonary syndrome. **Emerg Infect Dis.** v. 10 (3), 478-82, 2004.

YOSHIMATSU, K.; ARIKAWA, J.; KARIWA, H. Application of a recombinant baculovirus expressing hantavirus nucleocapsid protein as a diagnostic antigen in IFA test: cross reactivities among 3 serotypes of hantavirus, which causes hemorrhagic fever with renal syndrome (HFRS). **J Vet Med Sci.** v. 55 (6), 1047-1050, 1993.

WEISS, S.; WITKOWSKI, P. T.; AUSTE, B.; NOWAK, K.; WEBER, N.; FAHR, J.; MOMBOULI, J.; WOLFE, N. D.; DREXLER, J. F.; DROSTEN, C.; KLEMPA, B.; LEENDERTZ, F. H.; KRUGER, D. H. Hantavirus in Bat, Sierra Leone. **Emerging Infectious Diseases.** v. 18 (1), 159-161, 2012.

WEKSLER, M.; BONVICINO, C. R. Taxonomy of pigmy rice rats genus *Oligoryzomys* bangs, 1900 (rodentia, sigmodontinae) of the brazilian cerrado, with the description of two new species. **Arquivos do Museu Nacional.** v. 63 (1), 113-130, 2005.

WELLS, R. M.; SOSA ESTANI, S.; YADON, Z. E.; ENRIA, D.; PADULA, P.; PINI, N.; MILLS, J. N.; PETERS, C. J.; SEGURA, E. L. An unusual outbreak in southern Argentina: person-to-person transmission? Hantavirus pulmonary syndrome study group for Patagonia. **Emerg. Infect. Dis.** v.3 (2), 171-174, 1997.

WHITE, J. D.; SHIREY, F. G.; FRENCH, G. R.; HUGGINS, J. W.; BRAND, O. M.; LEE, H. W. Hantaan virus, aetiological agent of Korean haemorrhagic fever, has Bunyaviridae-like morphology. **Lancet**. v. 1, 768-771, 1982.

ZHANG, Y.; ZHU, J.; DENG, X. Z.; WU, G. H.; WANG, J. J.; ZHANG, J. J.; XING, A. H.; WU, J. W. Detection of hantaan virus from gamasid mite and chigger mite by molecular biological methods. **Zhonghua Shi Yan He Lin Chuang Bing Du Xue Za Zhi**. v. 17(2), 107-111, 2003.

ZAVASKY, D.M.; HJELLE, B.; PETERSON, M.C.; DENTON, R.W.; REIMER, L. Acute infection with Sin Nombre hantavirus without pulmonary edema. **Clin Infect Dis** 29, 664-666, 1999.

ZEIER, M.; HANDERMANN, M.; BAHR, U.; RENSCH, B.; MULLER, S.; KEHM, R.; MURANYI, W.; DARAI, G. New ecological aspects of hantavirus infection: a change of a paradigm and a challenge of prevention— a review. **Virus Genes** 30 (2), 157–180, 2005.

APÊNDICES

APÊNDICE A - Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (adulto)

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO (T.C.L.E.)

(Em 2 vias, firmado por cada participante-voluntári(o,a) da pesquisa e pelo responsável)

“O respeito devido à dignidade humana exige que toda pesquisa se processe após consentimento livre e esclarecido dos sujeitos, indivíduos ou grupos que por si e/ou por seus representantes legais manifestem a sua anuência à participação na pesquisa.” (Resolução. nº 196/96-IV, do Conselho Nacional de Saúde)

Eu,, tendo sido convidad(o,a) a participar como voluntári(o,a) da pesquisa “Pesquisa Diagnóstica de Casos de Hantavirose em Alagoas e Estudo da Resposta Imune dos Indivíduos com a Síndrome Pulmonar e Cardiovascular por Hantavirus”, recebi da Sr(a). Profa Dra Alessandra Abel Borges, do Instituto de Ciências Biológicas e da Saúde da Universidade Federal de Alagoas, responsável por sua execução, as seguintes informações que me fizeram entender sem dificuldades e sem dúvidas os seguintes aspectos:

- Que o estudo se destina a realizar o diagnóstico do micróbio (vírus) causador da doença pesquisada (Hantavirose).
- Que a importância deste estudo é a de saber se existe a presença desse micróbio causando doença em Alagoas.
- Que os resultados que se desejam alcançar são os seguintes: levar ao conhecimento dos profissionais de saúde e pesquisadores sobre a existência desse micróbio em Alagoas e ao melhor tratamento dos pacientes.
- Que esse estudo começará em julho de 2010 e terminará em julho de 2014.
- Que o estudo será feito da seguinte maneira: amostra de sangue será coletada pela enfermeira do hospital e será analisada no laboratório LAPEVI, no ICBS/UFAL e os dados do prontuário médico serão analisados pela pesquisadora.
- Que eu participarei das seguintes etapas: na autorização à pesquisadora em coletar e analisar o meu sangue, além de autorizar a análise dos meus dados pessoais e clínicos.
- Que os outros meios conhecidos para se obter os mesmos resultados são as seguintes: Atualmente não existem os outros meios conhecidos para se obter os mesmos resultados em Alagoas.
- Que os incômodos que poderei sentir com a minha participação são os seguintes: pequena dor ou incômodo no local onde o sangue será coletado.
- Que os possíveis riscos à minha saúde física e mental são: a participação no estudo não trará nenhum risco à minha saúde física ou mental.
- Que deverei contar com a seguinte assistência: Na ocasião da minha internação, receberei atendimento rotineiro realizado por médicos e enfermeiros do hospital Dr. Hélio Auto, e com o resultado do exame diagnóstico que esta pesquisa fará o meu tratamento será mais adequado ainda; além disso, serão fornecidas informações sobre o resultado do exame e sobre maneiras de prevenir a doença do estudo ao paciente, sendo responsável(is) por essa pesquisa: Dra. Alessandra Abel Borges, fone 3313-8006, R: Eng. Mário de Gusmão 238 apto 308 – Maceió.
- Que os benefícios que deverei esperar com a minha participação, mesmo que não diretamente são: conhecer se essa doença pesquisada existe em Alagoas e se esse micróbio (vírus) é o causador da minha doença.
- Que a minha participação será acompanhada do seguinte modo: a minha participação na pesquisa será acompanhada durante a internação no hospital.
- Que, sempre que desejar, serão fornecidos esclarecimentos sobre cada uma das etapas do estudo.
- Que, a qualquer momento, eu poderei recusar a continuar participando do estudo e, também, que eu poderei retirar este meu consentimento, sem que isso me traga qualquer penalidade ou prejuízo.

- Que as informações conseguidas através da minha participação não permitirão a identificação da minha pessoa, exceto aos responsáveis pelo estudo, e que a divulgação das mencionadas informações só será feita entre os profissionais estudiosos do assunto.
- Finalmente, tendo eu compreendido perfeitamente tudo o que me foi informado sobre a minha participação no mencionado estudo e estando consciente dos meus direitos, das minhas responsabilidades, dos riscos e dos benefícios que a minha participação implicam, concordo em dele participar e para isso eu DOU O MEU CONSENTIMENTO SEM QUE PARA ISSO EU TENHA SIDO FORÇADO OU OBRIGADO.

Endereço d(o,a) participante-voluntári(o,a)

Domicílio: (rua, praça, conjunto):

Bloco: /Nº: /Complemento:

Bairro: /CEP/Cidade: /Telefone:

Ponto de referência:

Contato de urgência: Sr(a). Alessandra Abel Borges

Domicílio: (rua, praça, conjunto: R: Eng. Mário de Gusmão

Bloco: /Nº: /Complemento: nº 328 apto 302

Bairro: /CEP/Cidade: /Telefone: Ponta Verde/ 57035-000/ Maceió / 3313-8006

Ponto de referência: em frente ao Colégio Contato.

Endereço d(os,as) responsável(is) pela pesquisa (OBRIGATÓRIO):

Instituição: Universidade Federal de Alagoas – Instituto de Ciências Biológicas e da Saúde

Endereço Praça Afrânio Jorge s/n

Bloco: /Nº: /Complemento: Laboratório de Pesquisas em Virologia e Imunologia - LAPEVI

Bairro: /CEP/Cidade: Prado / 57010-020 / Maceió

Telefones p/contato: 3336-3444 ramal 223; 9638-8001; 3313-8002

ATENÇÃO: Para informar ocorrências irregulares ou danosas durante a sua participação no estudo, dirija-se ao:

Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de Alagoas:

Prédio da Reitoria, sala do C.O.C. , Campus A. C. Simões, Cidade Universitária

Telefone: 3214-1041

Maceió,

<p>(Assinatura ou impressão datiloscópica d(o,a) voluntári(o,a) ou responsável legal - Rubricar as demais folhas)</p>	<p>Nome e Assinatura do(s) responsável(is) pelo estudo (Rubricar as demais páginas)</p>

APÊNDICE B - Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (menor de idade)

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO (T.C.L.E.)

(Em 2 vias, firmado por cada participante-voluntári(o,a) da pesquisa e pelo responsável)

“O respeito devido à dignidade humana exige que toda pesquisa se processe após consentimento livre e esclarecido dos sujeitos, indivíduos ou grupos que por si e/ou por seus representantes legais manifestem a sua anuência à participação na pesquisa.” (Resolução. nº 196/96-IV, do Conselho Nacional de Saúde)

Eu,....., responsável por.....tendo sido convidad(o,a) a participar como voluntári(o,a) do estudo “Pesquisa Diagnóstica de Casos de Hantavirose em Alagoas e Estudo da Resposta Imune dos Indivíduos com a Síndrome Pulmonar e Cardiovascular por Hantavirus”, recebi da Sr(a). Profa Dra Alessandra Abel Borges, do Instituto de Ciências Biológicas e da Saúde da Universidade Federal de Alagoas, responsável por sua execução, as seguintes informações que me fizeram entender sem dificuldades e sem dúvidas os seguintes aspectos:

- Que o estudo se destina a realizar o diagnóstico do micróbio (vírus) causador da doença que estar sendo pesquisada em meu filh(o,a).
- Que a importância deste estudo é a de saber se existe a presença desse micróbio causando doença em Alagoas.
- Que os resultados que se desejam alcançar são os seguintes: levar ao conhecimento dos profissionais de saúde e pesquisadores sobre a existência desse micróbio em Alagoas e ao melhor tratamento dos pacientes.
- Que esse estudo começará em julho de 2010 e terminará em julho de 2014.
- Que o estudo será feito da seguinte maneira: amostra de sangue do meu filh(o,a) será coletada pela enfermeira do hospital e será analisada no laboratório LAPEVI, no ICBS/UFAL e os dados do prontuário médico serão analisados pela pesquisadora.
- Que eu participarei das seguintes etapas: na autorização à pesquisadora em coletar e analisar o sangue do meu filh(o,a), além de autorizar a análise dos dados pessoais e clínicos do meu filh(o,a).
- Que os outros meios conhecidos para se obter os mesmos resultados são as seguintes: Atualmente não existem os outros meios conhecidos para se obter os mesmos resultados em Alagoas.
- Que os incômodos que poderei sentir com a minha participação são os seguintes: meu filh(o,a) poderá sentir pequena dor ou incômodo no local onde o sangue será coletado.
- Que os possíveis riscos à minha saúde física e mental são: a participação do meu filh(o,a) no estudo não trará nenhum risco à saúde física ou mental dele(a).
- Que deverei contar com a seguinte assistência: na ocasião da internação de meu filh(o,a), ele (a) receberá atendimento rotineiro realizado por médicos e enfermeiros do hospital Dr. Hélio Auto, e com o resultado do exame diagnóstico que esta pesquisa fará, o tratamento do meu filh(o,a) será mais adequado ainda; além disso, serão fornecidas informações sobre o resultado do exame e sobre maneiras de prevenir a doença do estudo ao paciente, sendo responsável(is) por essa pesquisa: Dra. Alessandra Abel Borges, fone 3313-8006, R: Eng. Mário de Gusmão 238 apto 308 – Maceió.
- Que os benefícios que deverei esperar com a minha participação, mesmo que não diretamente são: conhecer se essa doença pesquisada existe em Alagoas e se esse micróbio (vírus) é o causador da doença do meu filh(o,a).
- Que a minha participação será acompanhada do seguinte modo: a participação de meu filh(o,a) na pesquisa será acompanhada durante a internação no hospital.
- Que, sempre que desejar, serão fornecidos esclarecimentos sobre cada uma das etapas do estudo.

Que, a qualquer momento, eu poderei recusar que meu filh(o,a) continue participando do estudo e, também, pode ser retirado este meu consentimento, sem que isso leve a mim ou a meu filh(o,a) qualquer penalidade ou prejuízo.

Que as informações conseguidas através da participação de meu filh(o,a) não permitirão a identificação dele, exceto aos responsáveis pelo estudo, e que a divulgação das mencionadas informações só será feita entre os profissionais estudiosos do assunto.

Finalmente, tendo eu compreendido perfeitamentetudo o que me foi informado sobre a minha participação no mencionado estudo e estando consciente dos meus direitos, das minhas responsabilidades, dos riscos e dos benefícios que a minha participação implicam, concordo em dele participar e para isso eu DOU O MEU CONSENTIMENTO SEM QUE PARA ISSO EU TENHA SIDO FORÇADO OU OBRIGADO.

Endereço d(o,a) participante-voluntári(o,a)

Domicílio: (rua, praça, conjunto):

Bloco: /Nº: /Complemento:

Bairro: /CEP/Cidade: /Telefone:

Ponto de referência:

Contato de urgência: Sr(a). Alessandra Abel Borges

Domicílio: (rua, praça, conjunto: R: Eng. Mário de Gusmão

Bloco: /Nº: /Complemento: nº 328 apto 302

Bairro: /CEP/Cidade: /Telefone: Ponta Verde/ 57035-000/ Maceió / 3313-8006

Ponto de referência: em frente ao Colégio Contato.

Endereço d(os,as) responsável(eis) pela pesquisa (OBRIGATÓRIO):

Instituição: Universidade Federal de Alagoas – Instituto de Ciências Biológicas e da Saúde

Endereço Praça Afrânio Jorge s/n

Bloco: /Nº: /Complemento: Laboratório de Pesquisas em Virologia e Imunologia - LAPEVI

Bairro: /CEP/Cidade: Prado / 57010-020 / Maceió

Telefones p/contato: 3336-3444 ramal 223; 9638-8001; 3313-8002

ATENÇÃO: Para informar ocorrências irregulares ou danosas durante a sua participação no estudo, dirija-se ao:

Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de Alagoas:

Prédio da Reitoria, sala do C.O.C. , Campus A. C. Simões, Cidade Universitária

Telefone: 3214-1041

Maceió,

(Assinatura ou impressão datiloscópica d(o,a) voluntári(o,a) ou responsável legal - Rubricar as demais folhas)	Nome e Assinatura do(s) responsável(eis) pelo estudo (Rubricar as demais páginas)

APÊNDICE C - Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (inquérito)

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO (T.C.L.E.)

(Em 2 vias, firmado por cada participante-voluntário(o,a) da pesquisa e pelo responsável)

“O respeito devido à dignidade humana exige que toda pesquisa se processe após consentimento livre e esclarecido dos sujeitos, indivíduos ou grupos que por si e/ou por seus representantes legais manifestem a sua anuência à participação na pesquisa.” (Resolução. nº 196/96-IV, do Conselho Nacional de Saúde)

Eu,, tendo sido convidado(o,a) a participar como voluntário(o,a) da pesquisa “Pesquisa Diagnóstica de Casos de Hantavirose em Alagoas e Estudo da Resposta Imune dos Indivíduos com a Síndrome Pulmonar e Cardiovascular por Hantavirus”, recebi da Sr(a). Profa Dra Alessandra Abel Borges, do Instituto de Ciências Biológicas e da Saúde da Universidade Federal de Alagoas, responsável por sua execução, as seguintes informações que me fizeram entender sem dificuldades e sem dúvidas os seguintes aspectos:

- Que o estudo se destina a realizar uma pesquisa de anticorpos contra o micróbio (vírus) causador da doença pesquisada (Hantavirose).
- Que a importância deste estudo é a de saber se existe a presença desse micróbio causando doença em Alagoas.
- Que os resultados que se desejam alcançar são os seguintes: levar ao conhecimento dos profissionais da saúde e pesquisadores sobre a existência desse micróbio ou de pessoas que já foram infectadas por ele em Alagoas.
- Que o estudo será feito da seguinte maneira: amostra de sangue será coletada pelos integrantes da pesquisa e será analisada no laboratório LAPEVI, no ICBS/UFAL e os dados coletados serão analisados pelos pesquisadores.
- Que eu participarei das seguintes etapas: na autorização aos pesquisadores em coletar e analisar o meu sangue, além de autorizar a análise dos meus dados pessoais e clínicos.
- Que os outros meios conhecidos para se obter os mesmos resultados são as seguintes: Atualmente não existem os outros meios conhecidos para se obter os mesmos resultados em Alagoas.
- Que os incômodos que poderei sentir com a minha participação são os seguintes: pequena dor ou incômodo no local onde o sangue será coletado.
- Que os possíveis riscos à minha saúde física e mental são: a participação no estudo não trará nenhum risco à minha saúde física ou mental.
- Que deverei contar com a seguinte assistência: Contarei na ocasião da coleta, que será realizada por profissionais da saúde devidamente qualificados, com informações sobre maneiras de prevenir a doença do estudo, além de informações sobre o resultado do meu exame, sendo responsável(is) pela pesquisa: Dra. Alessandra Abel Borges, do ICBS-UFAL.
- Que os benefícios que deverei esperar com a minha participação, mesmo que não diretamente são: conhecer se essa doença pesquisada existe em Alagoas e se já fui infectado por esse micróbio (vírus).
- Que a minha participação será acompanhada do seguinte modo: a minha participação na pesquisa será acompanhada durante o momento da coleta e da entrevista ou através de um posterior contato pelos pesquisadores.
- Que, sempre que desejar, serão fornecidos esclarecimentos sobre cada uma das etapas do estudo.
- Que, a qualquer momento, eu poderei recusar a continuar participando do estudo e, também, que eu poderei retirar este meu consentimento, sem que isso me traga qualquer penalidade ou prejuízo.

Que as informações conseguidas através da minha participação não permitirão a identificação da minha pessoa, exceto aos responsáveis pelo estudo, e que a divulgação das mencionadas informações só será feita entre os profissionais estudiosos do assunto.

Finalmente, tendo eu compreendido perfeitamente tudo o que me foi informado sobre a minha participação no mencionado estudo e estando consciente dos meus direitos, das minhas responsabilidades, dos riscos e dos benefícios que a minha participação implicam, concordo em dele participar e para isso eu DOU O MEU CONSENTIMENTO SEM QUE PARA ISSO EU TENHA SIDO FORÇADO OU OBRIGADO.

Endereço d(o,a) participante-voluntári(o,a)

Domicílio: (rua, praça, conjunto):

Bloco: /Nº: /Complemento:

Bairro: /CEP/Cidade: /Telefone:

Ponto de referência:

Endereço d(os,as) responsável(eis) pela pesquisa (OBRIGATÓRIO):

Instituição: Universidade Federal de Alagoas – Instituto de Ciências Biológicas e da Saúde

Endereço Praça Afrânio Jorge s/n



Bloco: /Nº: /Complemento: Laboratório de Pesquisas em Virologia e Imunologia - LAPEVI

Bairro: /CEP/Cidade: Prado / 57010-020 / Maceió

Telefones p/contato: 3336-3444 ramal 223; 9973-7981

Maceió,

<p>(Assinatura ou impressão datiloscópica d(o,a) voluntári(o,a) ou responsável legal - Rubricar as demais folhas)</p>	<p>Nome e Assinatura do(s) responsável(eis) pelo estudo (Rubricar as demais páginas)</p>

ANEXO A - Parecer do Comitê de Ética em Pesquisa da UFAL



UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS
COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA

Maceió – AL, 17/06/2010

Senhor (a) Pesquisador (a), Alessandra Abel Borges
Luiz Tadeu Moraes Figueiredo
Luciana Alves Pacheco
Patricia Alves Barros
José Alfredo dos Santos Junior

O Comitê de Ética em Pesquisa (CEP), em 14/06/2010 e com base no parecer emitido pelo (a) relator (a) do processo nº 009350/2010-62 sob o título **Pesquisa diagnóstica de casos de Hantavirose em Alagoas e estudo de resposta Imune dos indivíduos com a Síndrome Pulmonar e Cardiovascular por Hantavírus**, vem por meio deste instrumento comunicar a aprovação do processo supra citado, com base no item VIII.13, b, da Resolução nº 196/96.

O CEP deve ser informado de todos os efeitos adversos ou fatos relevantes que alterem o curso normal do estudo (Res. CNS 196/96, item V.4).

É papel do(a) pesquisador(a) assegurar medidas imediatas adequadas frente a evento grave ocorrido (mesmo que tenha sido em outro centro) e enviar notificação ao CEP e à Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA – junto com seu posicionamento.


Eventuais modificações ou emendas ao protocolo devem ser apresentadas ao CEP de forma clara e sucinta, identificando a parte do protocolo a ser modificada e sua justificativa. Em caso de projeto do Grupo I ou II apresentados anteriormente à ANVISA, o(a) pesquisador(a) ou patrocinador(a) deve enviá-los à mesma junto com o parecer aprovatório do CEP, para serem incluídas ao protocolo inicial (Res. 251/97, item IV. 2.e).

Relatórios parciais e finais devem ser apresentados ao CEP, de acordo com os prazos estabelecidos no Cronograma do Protocolo e na Res. CNS, 196/96.

Na eventualidade de esclarecimentos adicionais, este Comitê coloca-se a disposição dos interessados para o acompanhamento da pesquisa em seus dilemas éticos e exigências contidas nas Resoluções supra - referidas.

Esta aprovação não é válida para subprojetos oriundos do protocolo de pesquisa acima referido.

(*) Áreas temáticas especiais


 Prof. Dr. Waller Matias Lima
 Coordenador do Comitê de Ética
 em Pesquisa

ANEXO B - Autorização do Hospital Escola Dr. Hέλvio Auto

HOSPITAL ESCOLA Dr. HέλVIO AUTO - UNCISAL
Rua Cónego Lira, S/N – Trapiche da Barra – CEP 57017-420
Maceió – Alagoas
Telefone: (82) 3315-3200 / Fax: (82) 3315-3207

DECLARAÇÃO

Autorizo a realização do trabalho intitulado “Pesquisa diagnóstica de casos de hantavirose em alagoas e estudo da resposta imune dos indivíduos com a síndrome pulmonar e cardiovascular por hantavirus”, de autoria do mestrando José Alfredo dos Santos Júnior e sub orientação da Profª. Dra. Alessandra Abel Borges, a ser realizada nesta Instituição hospitalar.

Maceió, 20 de maio de 2010

Dra. Luciana Mª de Medeiros Pacheco
Gerente Geral

Luciana Mª de Medeiros Pacheco
Dra. LUCIANA MARIA DE MEDEIROS PACHECO
Gerente Geral/HEHA

ANEXO C - Autorização Hospital Universitário Professor Alberto Antunes

UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS
HOSPITAL UNIVERSITÁRIO PROF. ALBERTO ANTUNES

— IDENTIFICAÇÃO DO PROJETO —

NOME DO ORIENTADOR / PESQUISADOR RESPONSÁVEL: Alessandra Abel Borges
CONTATO (TELEFONE / E-MAIL): alessandra.a.borges@gmail.com
NOME DO ESTUDANTE: José Alfredo dos Santos Júnior
CONTATO (TELEFONE / E-MAIL): ajrsantus@hotmail.com
NOME DA PESQUISA: Pesquisa diagnóstica de casos de hantavirose em alagoas e estudo da resposta imune dos indivíduos com a síndrome pulmonar e cardiovascular por hantavírus
ÁREA DE CONCENTRAÇÃO: Ciências da Saúde
TEMPO PREVISTO DE EXECUÇÃO: 02 anos
OBJETIVO DO PROJETO: Realizar diagnóstico laboratorial, análise filogenética e clínico-epidemiológica de infecção por hantavírus em pacientes que apresentem doença febril aguda e quadro clínico compatível com SPCVH e/ou HFRS, atendidos em Hospitais de Maceió ou em outros municípios e avaliar a resposta imune dos mesmos.
JUSTIFICATIVA: A existência de um projeto que disponibilize métodos laboratoriais para realizar o diagnóstico rápido da hantavirose em pacientes com suspeita clínica da mesma, seria de grande valia para a saúde da população alagoana, tanto contribuindo para o melhor conhecimento do perfil epidemiológico dessa população, quanto beneficiando diretamente o paciente acamado pela SPCVH e/ou HFRS, cujo diagnóstico permitiria manejo clínico adequado do mesmo.
ORÇAMENTO IDENTIFICANDO FONTE FINANCIADORA: Não temos ainda aprovação de fomento para esta pesquisa em virologia na UFAL, o mesmo será submetido a editais vindouros, tanto do CNPq quanto da FAPEAL. O orçamento do projeto está avaliado em R\$ 34.419,33.

UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS
HOSPITAL UNIVERSITÁRIO PROF. ALBERTO ANTUNES

PARECER DA DIREÇÃO DO HU: *De acordo*

Assinatura da Direção _____ Data: ____/____/____

ANEXO D - Autorização do Hospital Memorial Arthur Ramos**AUTORIZAÇÃO INSTITUCIONAL PARA PESQUISA NO HMAR**

Venho através desta, solicitar a autorização para realizar a pesquisa do Curso de pós-graduação, nível Mestrado, do Instituto de Ciências Biológicas/ICBS-UFAL, onde teremos acesso ao Setor de Arquivo Médico e Estatísticas (SAME) do Hospital Memorial Arthur Ramos e aos setores de internamento, visando à realização de coleta de dados através de seus prontuários, objetivando trabalho de pesquisa, com título Pesquisa diagnóstica de casos de hantavirose em Alagoas e estudo da resposta imune dos indivíduos com a síndrome pulmonar e cardiovascular por hantavírus, para fins de Conclusão de Curso (TCC), onde o aluno(a) se compromete a seguir as normas e rotinas do Serviço. Será mantido sigilo da identificação do (a) paciente, e só serão divulgados os resultados obtidos, em reuniões e publicações científicas e/ou junto ao grupo de estudo relacionado à pesquisa.

Maceió, 14 de fevereiro de 2015.

Autorizo,

Profa. Dra. A. B. B. B.
CRM 2005

Laboratório de Pesquisas em Virologia e Imunologia - LAPEVI
Instituto de Ciências Biológicas e da Saúde - ICBS
Universidade Federal de Alagoas - UFAL
Praça Afrânio Jorge s/n - Prado
Maceió - AL
57010-020
Fone: (82) 3336-3444 ramal 223

ANEXO E- Autorização do Hospital Santa Casa de Misericórdia de Maceió

AUTORIZAÇÃO INSTITUCIONAL PARA PESQUISA NA SANTA CASA DE MISERICÓRDIA DE MACEIÓ

Autorizamos os (as) alunos (as) **JOSÉ ALFREDO DOS SANTOS JUNIOR, JAMERSON PEDRO DAVID OLIVEIRA, MARCELO JOSÉ CAVALCANTI DE MACEDO, PATRICIA ALVES BARROS, NEDJA POLIANE TORRES MEDEIROS, JULIANA DE MELO E SILVA, JAQUELINE GOMES E LIMA, AMANDA CAVALCANTE DE MACEDO** da Universidade Federal de Alagoas - UFAL ter acesso as atividades dos serviços da SANTA CASA DE MISERICÓRDIA DE MACEIÓ, visando analisar o objetivo: Realizar diagnóstico laboratorial, análise filogenética clínico-epidemiológica de infecção por hantavírus em pacientes apresentem doença febril aguda e quadro clínico compatível com SPCVH e/ou HFRS, atendidos em Hospitais de Maceió ou em outros municípios e avaliar a resposta imune dos mesmos, sob supervisão da Gerência de Unidades Internas e Gerência de Risco e Assistência Hospitalar, para permitir elaboração do projeto de pesquisa com o título: **“PESQUISA DIAGNÓSTICA DE CASOS DE HANTAVIROSE EM ALAGOAS E ESTUDO DA RESPOSTA IMUNE DOS INDIVÍDUOS COM A SÍNDROME PULMONAR E CARDIOVASCULAR POR HANTAVÍRUS”**.

A necessidade de acesso a este setor servirá como fonte de aplicação da técnica e coleta de dados para serem utilizados na elaboração de trabalho, sob orientação Prof^{ra}. Alessandra Abel Borges.

O (a) aluno (a) deverá comprometer-se em seguir as normas e rotinas do Serviço desta entidade de saúde, zelar e não alterar a organização dos documentos anexados aos mesmos, sendo estritamente necessário proibido a sua retirada da Instituição. Além disso, deverá também manter sigilo da identificação dos pacientes, e divulgar os dados obtidos apenas em: reuniões e publicações científicas e/ ou junto ao grupo de estudo relacionado a pesquisa.

Maceió, 14 de outubro de 2010.

PROF. DR. MÁRIO JUCÁ

Gerente de Ensino e Pesquisa da SCMM

ANEXO F - Autorização do Instituto de Ciências Biológicas e da Saúde

Universidade Federal de Alagoas
Instituto de Ciências Biológicas e da Saúde

TERMO DE CIÊNCIA

Em nome do Instituto de Ciências Biológicas e da Saúde/ICBS, autorizo a realização do trabalho de pesquisa referente ao Projeto "Pesquisa Diagnóstica de Casos de Hantavirose em Alagoas e Estudo da Resposta Imune dos Indivíduos com a Síndrome Pulmonar e Cardiovascular por Hantavírus", coordenado pela Prof^a Dr^a ALESSANDRA ABEL BORGES. O referido projeto será realizado no Laboratório de Imunovirologia, Setor de Imunologia e Virologia do ICBS/UFAL.

Maceió, 21 de maio de 2010

A handwritten signature in black ink, appearing to read 'Theresinha C. Calado'.

Prof^a Dr^a Theresinha C. Calado
Diretora ICBS/UFAL
Mat. SIAP 1119439

ANEXO G – Soluções utilizadas para o ELISA**Tampão Carbonato-Bicarbonato (pH=9,6)****1º Passo****Solução A** (Na₂CO₃ – Carbonato 0,2M)Na₂CO₃ 21,198gH₂O destilada 1L**Solução B** (NaHCO₃ – Bicarbonato 0,2M)NaHCO₃ 16,8014gH₂O destilada 1L**2º Passo**

Mistura-se 40mL da solução A mais 85mL da solução B e completa o volume para 500mL com água destilada. Antes de completar o volume para 500mL deve-se ajustar o pH para 9,6 com NaOH (Hidróxido de sódio).

Observação: esta solução servirá para diluir a proteína N e o extrato de *E. coli*.

Tampão fosfato-salina 10X (PBS 10X)

NaCl 80g

KCl 2g

KH₂PO₄ 2gNa₂HPO₄ . 2 H₂O 13,82g

ou

Na₂HPO₄ (anidro) 11,5gH₂O destilada (q.s.p) 1L

Observação: Antes de completar a solução para 1L, deve-se ajustar o pH entre 7,3 e 7,4 com NaOH.

Solução de uso PBS 1X

PBS 10X	100mL
H ₂ O destilada	900ml

Solução de PBS – Tween 20 (PBS-T)

PBS 1X	1L
Tween 20	1000µL

Solução de bloqueio (PBS-T com 10% de LPD)

Leite em pó desnatado (LPD)	20g
PBS-T	200mL