

**Universidade Estadual de Campinas, SP.- UNICAMP**  
**Pós graduação de Clínica Médica**

Tese de Doutorado

**SORO-EPIDEMIOLOGIA DA HANTAVIROSE EM HOMENS DE SALVADOR-  
BAHIA, BRASIL.**

Aluna: Ana Emilia Torres Morales

**FE DE ERRATA**

- 1.- No capítulo Resumo.- pagina iii, parágrafo terceiro, quinta linha, disse "Observaram-se 5 (8,6% positivos em títulos de 1:200.....)"; deve disser: **Observaram-se 10(2,28%) com títulos de 1:200 que resultaram também positivos pela IFI Ig G anti-Hantaan.**
- 2.- No Capítulo Resultados.- pagina 70 , quinto parágrafo, segunda linha, disse "A presença de ratos dentro de casa, quintal.....declarada por 347(7%) dos entrevistados"; deve disser: **declarada por 347(70%) dos entrevistados.**
- 3.- No capítulo Resultados.- pagina 77, primeiro parágrafo, segunda linha, disse "..variáveis (Anexo 8), ..."; deve disser: **variáveis (Anexo 2)**
- 4.- No capítulo Anexos.- pagina 144, Tabela 4, quarta coluna, quarta linha, disse "Teste Fisher  $p < 0,236$ "; deve disser: **Teste Fisher  $p < 0,671$ .**

*ANA EMILIA TORRES-MORALES*

***SORO-EPIDEMIOLOGIA DA HANTAVIROSE EM  
HOMENS DE SALVADOR-BAHIA, BRASIL***

*Campinas*

**2000**

UNICAMP  
BIBLIOTECA CENTRAL  
SEÇÃO CIRCULANTE

**ANA EMILIA TORRES-MORALES**

***SORO-EPIDEMIOLOGIA DA HANTAVIROSE EM  
HOMENS DE SALVADOR-BAHIA, BRASIL***

*Tese de doutorado apresentada ao curso de Pós-Graduação da  
Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual de  
Campinas para obtenção de título de Doutor em Clínica Médica,  
área de Clínica Médica.*

***Professor-Orientador***

*Fernando Lopes Gonçales Jr./FCM-UNICAMP*

***Professor Co-Orientador***

*José Tavares-Neto/FAMED-UFBA*

***Colaboradora***

*Elizabeth S. Travassos da Rosa/TEC-FNS*

*Campinas*

*1999*

UNICAMP  
BIBLIOTECA CENTRAL  
SEÇÃO CIRCULANTE

UNICAMP  
BIBLIOTECA CENTRAL

UNIDADE	3 e
N.º CHAMADA:	UNICAMP
	M792A
V.	Ex.
TOMBO BC/	44210
PROC.	16-2F8100
C	<input type="checkbox"/>
D	<input checked="" type="checkbox"/>
PREÇO	R\$ 11,00
DATA	21/10/9100
N.º CPD	

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA  
BIBLIOTECA DA FACULDADE DE CIÊNCIAS MÉDICAS  
UNICAMP

CM-00144801-1

M792s Morales, Ana Emilia Torres  
Soro-epidemiologia da hantavirose em homens de Salvador – Bahia  
- Brasil / Ana Emilia Torres Morales. Campinas, SP : [s.n.], 1999.

Orientador : Fernando Lopes Gonçalves Junior  
Tese ( Doutorado) Universidade Estadual de Campinas. Faculdade  
de Ciências Médicas.

1. Zoonoses. 2. Roedores. I. Fernando Lopes Gonçalves Junior.  
II. Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Ciências  
Médicas. IV. Título.

**Banca Examinadora da Defesa de Tese de Doutorado**

**Orientador(a): Prof.Dr. Fernando Lopes Gonçales Júnior**

**Membros:**

1. Prof. Dr. Luiz Tadeu Moraes Figueiredo - *LM*
2. Prof. Dr. Juliana Marcionis Pacheco - *JMP*
3. Prof. Dr. Saizuel Gilvino Bello Stucchi - *Agnes Stucchi*
4. Prof. Dr. Maria Luiza Moratti Bruchini - *W. Luz*
5. Prof. Dr. Fernando Lopes Gonçales Júnior - *UFF*

Curso de Pós-Graduação em Clínica Médica, área de concentração Clínica Médica, da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas.

Data: 06/05/00

UNICAMP  
BIBLIOTECA CENTRAL  
SEÇÃO CIRCULANTE

## **DEDICATÓRIA**

*Dedico esta tese, com AMOR:*

*A minha mãe Eunice pelo exemplo constante,  
por me ajudar a acreditar no meu sonho e  
saber entender minha ausência.*

*A meu pai Wilfredo pelos ensinamentos de  
vida.*

*A minha irmã Ofelia, melhor amiga e  
companheira.*

*Aos professores que incentivaram com seu  
exemplo em meu crescimento profissional.*

*Aos pacientes, principais incentivadores de  
minha caminhada.*

*Aos meus amigos por saberem ouvir e  
entender.*

UNICAMP  
BIBLIOTECA CENTRAL  
SEÇÃO CIRCULANTE

## *AGRADECIMENTOS*

---

Ao prof. Fernando Lopes Gonçalves Jr, meu orientador, por acreditar e outorgar seu voto de confiança a este projeto, pelos seus ensinamentos e apoio incondicional em todas as fases desta pesquisa, em especial pela paciência.

A José Tavares-Neto, co-orientador e principal impulsor deste projeto.,Pelo apoio constante na realização desta investigação, Pelos conselhos, ensinamentos e pelo exemplo de profissionalismo e organização.

A Dra. Amélia Travassos da Rosa chefe do Serviço de Arbovírus do Instituto Evandro Chagas de Belém, pelo seu profissionalismo, qualidade humana e orientações na parte laboratorial deste estudo, em especial pela acolhida e amizade.

A Dra. Elisabeth Travassos da Rosa, Professora Bioquímica do Serviço de Arbovírus do Instituto Evandro Chagas de Belém e principal colaboradora na elaboração da parte laboratorial desta investigação, pelo seu profissionalismo, orientações, ensinamentos, amizade e paciência.

Ao Prof Ernesto Hofer da Fundação Oswaldo Cruz de Rio de Janeiro-RJ. Pela colaboração com os exames laboratoriais para leptospirose desta pesquisa.

Ao pessoal do HEMOBA; Dr. Aurelino Santana e Dra. Iraíldes Santana, Corpo de Enfermagem, Auxiliares e pessoal de laboratório que fizeram possível este projeto.

A Dra Ligia B. Iversson, pela gentil assessoria do projeto inicial, pelas orientações e incentivo a este trabalho.

Ao Prof. Aluizio Prata, por me ensinar a “beleza” de ser pesquisadora e pelo exemplo de vida.

Ao Prof Dr. Bernardo Beiguelman, pelo carinho constante e sábia orientação em todos os momentos.

Aos Professores e amigos da UNICAMP Dra. Maria Luiza M. Branchini, Dr. Rogério de Jesus Pedro, Dr. Luís Alberto Magna, Dr. Eros de Almeida, e Dr. Josué N. de Lima, pelos ensinamentos, conselhos, encorajamento e incentivo no início desta investigação.

Ao pessoal do Centro Corsini de Campinas-SP; em especial á Dra. Silvia Bellucci, e colegas do Grupo de AIDS do Hospital das Clínicas da UNICAMP; em especial ao Dr. Francisco H. Aoki obrigada pelos ensinamentos, por acreditar e “entender minha ausência”.

Ao Dr. Jorge Travassos da Rosa Diretor do Instituto Evandro Chagas de Bélem, exemplo de organização e gentileza, pelo apoio a esta investigação e pela acolhida.

Ao Dr. Pedro F. Vasconcelos ,Médico Infectologista do Serviço de Arbovírus do Instituto Evandro Chagas de Belém pela acolhida orientações e ajuda na coleta de literatura para este trabalho.

À Sra. Gláucia Maria Quaresma pela ajuda incondicional desinteressada durante todas as fases desta pesquisa, pela atenção constante, em especial pela amizade.

A Todo o pessoal do Instituto Evandro Chagas de Belem-Pa., em especial ao Serviço de Arbovírus pela qualidade humana e profissional, em especial pela sincera amizade que encontrei entre vocês.

Ao Serviço Médico da Empresa Limpurb, colegas médicos e enfermeiros Edmario e Célia, que colaboraram na fase inicial desta investigação. Em especial ao pessoal da Gerência X onde foi realizada a maior parte de nossa pesquisa -ao gerente Sr. Joel e secretária Srta. “José”- pelo apoio e facilidades oferecidas para coleta das amostras desta pesquisa.

Ao Hospital Couto Maia, serviço de laboratório pela assessoria técnica e apoio no armazenamento dos soros desta pesquisa e ao serviço de transportes por facilitar os meios para a realização desta investigação.



Ao pessoal da Genética do Hospital das Clínicas da UFBA; colegas e estagiário. pela acolhida no seu espaço físico.

Ao pessoal do Núcleo de estatística da FCM-UNICAMP em especial ao Sr. Estevão Freitas de Souza pela ajuda na avaliação dos resultados, pela disposição e em especial pela paciência.

A Sra. Ruth A. Lima minha “mãe” paulista e a sua calorosa família, pelo incentivo constante e carinho.

A Sra. Lourdes G. Tavares minha “mãe” baiana pelo carinho e a sua linda família, pela acolhida.

Aos meus pacientes da UNICAMP e do Centro Corsini de Campinas-SP em especial aos hoje ausentes IN MEMORIAM, pelos ensinamentos de amor à vida, incentivo constante e “por saber entender e aceitar minha ausência”.

A todos os trabalhadores da limpeza pública e doadores de sangue que participaram desta pesquisa obrigada.

#### FONTES DE FINANCIAMENTO:

- Faculdade de Ciências Médicas-Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP).
- Pós-graduação de Clínica Médica da Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP).
- Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico-Bolsa de Doutorado.  
Projeto CNPq. Protocolo N0:140222 / 94-4
- Governo do Estado da Bahia. Hospital Couto Maia
- Universidade Federal da Bahia. Colegiado de Medicina Interna.

## SUMÁRIO

---

	PÁG.
<b>RESUMO</b> .....	<i>i</i>
<b>1. INTRODUÇÃO</b> .....	1
1.1. Aspectos gerais.....	2
1.2. Histórico.....	5
1.3. Definição e taxinomia dos hantavírus.....	9
1.4. Os hantavírus.....	12
1.4.1. Morfologia e estrutura.....	12
1.4.2. Propriedades físico-químicas.....	13
1.4.3. A replicação viral.....	14
1.4.4. Composiçãoantigênica e determinantes antigênicos.....	15
1.4.5. A infecção por hantavírus.....	16
1.4.5.1. Nas culturas celulares.....	16
1.4.5.2. Noes roedores.....	16
1.4.5.3. Nos humanos.....	19
1.4.6. Epidemiologia e Epizootiologia.....	20
1.4.6.1. Distribuição geográfica.....	20
1.4.6.2. Ambiente.....	21
1.4.6.3. padrões epidemiológicos.....	23
1.4.6.4. Características dos hospedeiros humanos.....	24
1.4.6.5. Mecanismos de transmissão.....	25
1.4.7. Quadro clínico.....	27

1.4.8. Diagnóstico laboratorial específico.....	40
1.4.9. Controle e profilaxia.....	42
1.4.10. Hantavírus no Brasil.....	44
<b>2. OBJETIVOS.....</b>	<b>48</b>
<b>3. CASUÍSTICA E MÉTODOS.....</b>	<b>50</b>
3.1. População.....	51
3.1.1. População de referência.....	51
3.2. Inquérito soropidemiológico.....	51
3.2.1. Planejamento e modelo do estudo.....	51
3.3. Procedimentos laboratoriais.....	54
3.3.1. Imunofluorescência indireta (IFI).....	54
3.3.2. ELISA (“Enzyme Linked Imuno Sorbent Assays”).....	57
3.4. Análise estatística.....	63
<b>4. RESULTADOS.....</b>	<b>67</b>
4.1. Características da população estudada.....	68
4.2. Características dos grupos de estudo (Garis e doadores de sangue).....	70
4.3. Resultados sorológicos.....	72
4.3.1. Associação de variáveis por grupos de estudo segundo resultados do teste de IFI IgG anti <i>Hantaan</i> .....	73
4.3.2. Associação de variáveis por grupos de estudo segundo soropositividade para o teste ELISA IgG anti “ <i>Sin Nombre</i> ”.....	74
4.3.3. Associação de variáveis por grupos de estudo segundo soropositividade para o teste ELISA IgG anti <i>Seoul</i> (protótipo).....	75
4.4. Associação sorológica e nível socioeconômico.....	77
4.5. Outros exames realizados nos soros amostrados.....	79

4.5.1. Imuno-hemaglutinação (HI) para bunyavírus <i>Oropouche</i> .....	79
4.5.2. Microaglutinação para leptospirose.....	79
<b>5. DISCUSSÃO</b> .....	<b>81</b>
<b>6. CONCLUSÃO</b> .....	<b>96</b>
<b>7. SUMMARY</b> .....	<b>98</b>
<b>8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	<b>102</b>
<b>9. ANEXOS</b> .....	<b>132</b>

## *LISTA DE ABREVIATURAS*

---

AST	Aspartato amino transferase.
CID	Coagulação Intravascular Disseminada.
D.O.	Densidade ótica.
d.p.	Desvio padrão.
ELISA	Enzyme Linked Immuno Sorbent Assays.
HEMOBA	Fundação de Hematologia e Hemoterapia da Bahia.
HFRS	Febre Hemorrágica com Síndrome Renal.
HI	Imuno Hemaglutinação.
HPS	Síndrome Pulmonar por Hantavirus.
IAHA	Hemaglutinação por imuno-aderência.
IFI	Imunofluorescência indireta.
Ig G	Imunoglobulina G.
Ig M	Imunoglobulina M.
KHF	Febre Hemorrágica da Coreia.
LDH.	Desidrogenasse láctica.
LIMPURB	Empresa de Limpeza Urbana do Salvador-Bahia.
MCV	Hantavirus <i>Muerto Canyon</i> .
n.m.	Média dos soros negativos.
Na.	Nível de qualidade ambiental e econômica do distrito sanitário.
NSE	Nível socioeconômico.
PA-ACS-ISO	Solução para análise. Pureza garantida pela Association Chemical-Scientific-Isotonic.
PBS	Phosphate Buffered Saline.
PCR	Reação de cadeia de polimerases.
PRN	Neutralização por redução em placa.
RT-PCR	Transcriptase Reversa por Reação de cadeia de polimerases.
D. S.	Distrito Sanitário de Residência.
SNC	Sistema Nervoso Central.

***RESUMO***

As hantavirose são consideradas doenças emergentes. Fatores climáticos, múltiplos determinantes humanos, biológicos, econômicos e ecológicos influenciam a sua emergência e disseminação. As interações destes fatores explicam sua presença nas Américas.

Seus reservatórios são principalmente os roedores. A transmissão para o homem acontece por exposição direta, indireta ou acidental às secreções ou excretas desses animais, entre outros mecanismos infrequentes. Assim, consideram-se sob risco os trabalhadores rurais, encanadores, garis de limpeza pública, trabalhadores portuários, estivadores, pescadores, militares, escoteiros e indivíduos com atividades recreacionais no campo.

No Brasil, há a necessidade de se conhecer melhor a epidemiologia da hantavirose, em especial na população exposta ao risco de infecção. Esta pesquisa foi desenvolvida na cidade de Salvador-BA, Brasil, cidade cosmopolita, portuária e turística.

Nossos objetivos foram:

Estimar a frequência da infecção por hantavírus na população de adultos da cidade de Salvador (BA), e associar a soro-positividade às variáveis epidemiológicas e clínicas pesquisadas.

No total foram amostrados 255 trabalhadores da limpeza pública da cidade de Salvador e 241 doadores de sangue como grupo de comparação.

Em todos foi aplicada entrevista padronizada visando pesquisar antecedentes epidemiológicos para esta infecção e, posteriormente foi coletada amostra de sangue.

Os soros amostrados foram testados por IFI IgG para anti-hantavírus *Hantaan* (protótipo) e teste de ELISA IgG anti-hantavírus "*Sin Nombre*" (antígeno recombinante) e *Seoul* (protótipo) (antígeno de lisado celular). Na leitura da IFI, foi positiva a amostra >1% - 25% de focos fluorescentes por campo. Na leitura dos testes de ELISA, valores maiores que o *CUT-OFF* foram POSITIVOS e os menores NEGATIVOS. Foram inconclusivos pela técnica de ELISA valores de densidade ótica da amostra perto do valor do *CUT-OFF*.



As idades da população estudada variaram de 18 a 64 anos. A prevalência observada foi de 27,2%(135/496) de anticorpos anti-*Hantaan* pelo teste de IFI IgG anti-*Hantaan* (diluição 1:32). Destes, 46 (9,3%) eram garis e 89(17,9%) doadores de sangue.

Nos testes de ELISA para "*Sin Nombre*" foi encontrada prevalência de 0,2% e no teste ELISA para *Seoul* prevalência de 0,4%. Observou-se que o único soro-reagente para ELISA anti-"*Sin Nombre*" era doador, já para o vírus *Seoul* os dois positivos eram garis.

Das 496 amostras, 438(88,3%) foram testadas por microaglutinação para leptospirose. Considerou-se positiva microaglutinação com títulos de  $\geq 1/200$ . Dos 438 testados 58(13,2%) resultaram positivos para leptospirose. Destes, 28/58(48,3%) positivos para títulos de 1/200; 22/58(37,9%) positivos para títulos de 1/400 e 8/58(13,8%) positivos para títulos  $> 1/400$ . Observaram-se 5(8,6%) positivos em títulos de 1/200 para leptospirose e 5(8,6%) positivos em títulos de 1/400, que resultaram também positivos pela IFI IgG anti-*Hantaan*. Os sorovars mais encontrados foram *icterohaemorrhagiae* e *sentot*.

Concluimos que:

1. Existe circulação dos hantavírus na cidade de Salvador (BA);
2. Que há baixa frequência de infecção pelos vírus "*Sin Nombre*" e *Seoul*;
3. Que a prevalência encontrada pela IFI, reflete a circulação de vírus provavelmente relacionado a *Hantaan* e diferente dos outros hantavírus testados ("*Sin Nombre*" e *Seoul*);
4. O nível socioeconômico mostrou-se um determinante de risco para infecção por hantavírus;
5. As variáveis de contaminação domiciliar e peri-domiciliar aparecem como determinantes de risco em ambas as populações estudadas;
6. O risco de contaminação ocupacional relacionado diretamente com o tempo de exercício profissional, foi determinante de risco entre os garis e não explica, a contaminação dos doadores de sangue;
7. Os resultados da microaglutinação para leptospirose entre os amostrados assinalam provável co-infecção com hantavírus;
8. Há necessidade de pesquisa sistemática de hantavírus nos pacientes com suspeita de leptospirose.

# ***1. INTRODUÇÃO***

## 1.1. ASPECTOS GERAIS

As hantavirose e outras doenças como tuberculose, malária, dengue, encefalite viral, cólera, tripanossomíases, e criptosporidíase, por exemplo, que até há pouco tempo tinham ambientes restritos, na atualidade são consideradas como doenças emergentes (BEEBE J.L.,1994; BERKELMAN R.L.,1994; LEDERBERG J.,1996; PATZ J.A. *et al.*,1996; FARMER P.,1996; MILLS J.N. & CHILDS, J.E.,1998) e são motivo de preocupação quanto ao seu controle e erradicação (CDC,1994a; CDC, 1996b).

Não só fatores climáticos influenciam a emergência e reemergência das doenças infecciosas e sua disseminação, mas também múltiplos determinantes humanos, biológicos, econômicos e ecológicos (BEEBE J.L.,1994; CDC,1994a; PATZ J.A. *et al.*,1996; LEDERBERG J.,1996; MILLS J.N. & CHILDS, J.E.,1998). A compreensão das interações destes fatores, climatológicos e ecológicos, explicaria a presença das doenças emergentes e reemergentes nas Américas (PATZ J.A. *et al.*,1996).

Em maio de 1993 uma enigmática e grave doença foi observada na região sudoeste dos Estados Unidos da América do Norte (EUA), acometendo indivíduos jovens, nativos da região de *Four Corners*, onde convergem os estados de Novo México, Arizona, Colorado e Utah (CDC,1993a; GRADY D.,1993; STONE R.,1993a; KHAN A., KSIAZEK T.G., PETERS C.J.,1996a; KHAN A.S. *et al.*,1996b). A doença, ainda desconhecida, caracterizava-se por apresentar cefaléia, febre, mialgias e tosse. Este quadro, compatível com síndrome gripal, evoluía com dificuldade respiratória progressiva grave, provocada por edema pulmonar bilateral, difuso e não-cardiogênico, sendo indistinguível da síndrome de insuficiência respiratória aguda do adulto (SARA). Os pacientes, com este quadro instalado, em poucos dias podiam evoluir para o óbito, com taxa de letalidade variando de 50 a 75% (MARSHALL E.,1993; CDC,1993b,c,d,e; SINNOTT IV J.T. *et al.*,1993; CDC,1994a; DULL S.M. *et al.*,1994; ZAKI S.R. *et al.*,1994; DUCHIN J.S. *et al.*,1994; MOOLENAAR R.L. *et al.*,1995; KHAN A.S., KSIAZEK T.G., PETERS C.J.,1996a; CDC,1996a,b).

Como este quadro clínico não era usual, uma sistemática investigação do agente causal foi iniciada (CDC,1993c,d; GRADY D.,1993; DUCHIN J.S. *et al.*,1994; DULL S.M.*et al.*,1994; ELLIOTT L.H. *et al.*,1994). Nesta investigação, a pesquisa de anticorpos anti-hantavírus séricos foi também incluída, bem como colorações imunohistoquímicas em espécimes de tecidos e pesquisas do RNA viral específico (CDC,1993b,h; ELLIOTT L.H. *et al.*,1994; DULL S.M. *et al.*,1994; MARSHALL E.,1993; SINNOTT IV J.T. *et al.* 1993; DUCHIN J.S. *et al.*,1994; ZAKI S.R. *et al.*,1994). Deste modo, a presença do hantavírus foi evidenciada, como novo agente de doença humana no continente americano (CDC,1993b.c; GRADY D.,1993; ELLIOTT L.H. *et al.*,1994; ZAKI S.R. *et al.*,1994; DUCHIN J.S. *et al.*,1994). O quadro clínico da hantavirose, observado nos EUA, no entanto, não era semelhante ao da forma clássica de hantavirose conhecida na Eurásia, onde os pacientes cursam com grave comprometimento renal e quadros hemorrágicos exuberantes (LEE H.W.,1989; ZAKI S.R. *et al.*,1994; ZAKI S.R. *et al.*,1995; KHAN A.S., KSIAZEK T.G., PETERS C.J.,1996a).

Este novo hantavírus, no continente americano, apresentava reações sorológicas cruzadas com anticorpos de hantavírus já conhecidos, isolados de roedores, e agentes etiológicos da Febre Hemorrágica com Síndrome Renal (CDC,1993h; MARSHALL E.,1993; LI D. *et al.*,1993; DUCHIN J.S. *et al.*,1994; ELLIOTT L.H. *et al.*,1994; HJELLE B. *et al.*,1994; KHAN A.S., KSIAZEK T.G., PETERS C.J.,1996a, KHAN A.S. *et al.*,1996b). Este hantavírus isolado na América do Norte foi denominado, inicialmente, como *Muerto Canyon* e hoje nomeado de "*Sin Nombre*" (ELLIOTT L.H. *et al.*,1994; SHOPE R.E. *et al.*,1994), sendo agora o agente etiológico da Síndrome Pulmonar por Hantavírus (HPS), descrita nas Américas (CDC,1993d; KHAN A.S., KSIAZEK T.G., PETERS C.J.,1996a; GRENDON J.H. & GOLDOFT M.J.,1996).

Os hantavírus têm como reservatório os roedores e outros pequenos mamíferos (BEATY B.J. & CALISHER C.H.,1991). A transmissão para o ser humano acontece pela exposição direta (saliva, urina, secreções brônquicas e excretas destes reservatórios), indireta, quando em contato com seus produtos (LEE H.W. & JOHNSON K.M.,1982b; GADJUSEK C.D.,1989; LeDUC J.W. *et al.*,1986; TSAI T.F.,1987b; BEATY B.J. & CALISHER C.H.,1991; GRENDON J.H. & GOLDOFT M.J.,1996) ou acidental (LEE H.W.

& JOHNSON K.M.,1982b; TSAI T.F.,1987b; CDC,1993a; GRENDON J.H. & GOLDOFT M.J.,1996; WELLS R.M. *et al.*,1997), entre outros mecanismos mais infreqüentes (BEATY B.J. & CALISHER C.H.,1991; CDC 1993a ; CDC 1993f; RUO S.L. *et al.* 1994; WELLS R.M. *et al.*,1997).

Deste modo a exposição aos roedores urbanos e silvestres é mais freqüente entre os trabalhadores rurais, encanadores, garis de limpeza pública, trabalhadores portuários, estivadores, pescadores, militares, escoteiros e outros indivíduos com atividades recreacionais no campo (CDC,1993a; CDC,1994a,e; GRENDON J.H. & GOLDOFT M.J.,1996)

No Brasil, no período de 1981 a 1983, as primeiras pesquisas sorológicas foram realizadas por LeDuc *et al.*, em roedores urbanos de Belém-(PA), São Paulo-(SP) e em Recife-Olinda-(PE), encontrando, respectivamente, 56%, 14% e 6% de soro-positividade para hantavírus *Hantaan* por imunofluorescência (IFI) (LeDUC J.W. *et al.*,1985).

Em seres humanos estudos de Pinheiros *et al.*(1986) observaram 7% de IgG positivos para Hantaan por IFI, na região amazônica (*apud* VASCONCELOS P.F.C. *et al.*,1992).

Pesquisadores do Instituto Evandro Chagas de Belém do Pará e da Faculdade de Saúde Pública, da Universidade de São Paulo, em colaboração com LeDuc, e dando continuidade às pesquisas iniciadas em 1981-1983, realizaram investigações em pacientes do Hospital Emilio Ribas da cidade de São Paulo, e entre residentes do Vale do Ribeira-(SP) e de Paranaguá-(PR). Verificaram soro-positividade de 1,95% e 5,05%, respectivamente (LeDUC J.W. *et al.*,1986; IVERSSON L.B. *et al.*,1994)

Iversson *et al.*, em dois inquéritos sorológicos realizados em 1990 e 1993 na região de Jucituba-(SP), relataram soro-positividade para IgG por ELISA anti-*Hantaan* em 30% e 8,1% dos soros de residentes e contatos de casos suspeitos, respectivamente (IVERSSON L.B., BRANQUINHO M.S., ROSA M.D.B.,1995a).

Vasconcelos *et al.* e Travassos da Rosa *et al.* relataram soro-positividade para IFI IgG anti-*Hantaan* em 45,2% dos contatos de suspeitos de febre hemorrágica no Pará e, em 31,1% dos pacientes hospitalizados com diferentes patologias, em Salvador-(BA) pelos métodos de IFI e ELISA (VASCONCELOS P.F.C. *et al.*,1992; TRAVASSOS DA ROSA E.S. *et al.*,1995).

## 1.2. HISTÓRICO

Entre 1951 e 1954 mais de 3000 tropas norte-americanas estacionaram na zona desmilitarizada de Coreia. Nesta ocasião parte de seus integrantes desenvolveram uma rara doença que não era conhecida pelos médicos; caracterizada por febre, cefaléia, dores abdominais, lombares e torácicas, eritema facial e manifestações hemorrágicas variadas acompanhada de alta letalidade. Cerca de 5 a 10% dos afetados morriam por choque e insuficiência renal. A doença espalhou-se para o sul acometendo militares e a população civil de áreas rurais e urbanas (LEE H.W., LEE P.W.,JOHNSON K.M., 1978). A doença foi denominada Febre Hemorrágica da Coreia (KHF) e, desde essa época, centenas de casos foram descritos, anualmente, em regiões rurais e urbanas com altas taxas de morbidade e letalidade de 5% (OMS,1982, OMS,1985a) a maioria deles ocorrendo entre agricultores (OMS,1983; OMS, 1992a).

Em 1932, doença com semelhante sintomatologia já tinha sido relatada no Vale do Rio Amon na Rússia e, ao mesmo tempo foram reportados casos entre tropas japonesas na Manchúria. Esta doença tomou nomes diferentes entre trabalhadores japoneses e russos e foi extensamente investigada. Foi estudada sua infectividade entre humanos voluntários e notou-se que a mesma podia ser reproduzida em humanos pela inoculação de sangue e urina de pacientes agudamente doentes. No entanto, o agente etiológico não tinha sido ainda detectado. Nas últimas décadas, casos com semelhantes quadros epidemiológicos, clínicos e patológicos foram descritos em ampla área da União Soviética, atingindo desde Oblast Murmansk pelo Norte os Urais pelo Este e estendendo-se até Hungria pelo Oeste e, Checoslováquia, Iugoslávia e Bulgária pelo Sudeste, conhecidos nesta região, como Febre Hemorrágica com Síndrome Renal (HFRS) (OMS,1982; TKACHENKO E.A. *et al.*,1992;

GAN S. *et al.*,1983). Antígenos de *Hantaan* têm sido detectados nos pulmões de 10 diferentes espécies de roedores capturados em diferentes regiões da Rússia. A alta taxa de infecção foi encontrada entre roedores *Rattus norvegicus* (25%) e *Clethrionomys glareolus* (12,8%) e, entretanto, taxas significantes foram também detectadas em variedade de espécies de *Apodemus* e *Microtus* (OMS,1982).

A HFRS já era conhecida na província de Heilongjiang -no nordeste da China- desde 1934-1935, quando médicos das forças militares japonesas relataram casos entre suas tropas e entre moradores dessa região (OMS,1982; OMS,1985a,c). Nesta época, a doença era conhecida como “Nefroso-nefrite hemorrágica”, “Febre hemorrágica com síndrome renal” ou como “Febre Song-go” (GONZALEZ-SCARANO F.& NATHANSON N., 1990). Até 1955 a doença era conhecida por ser amplamente distribuída e envolvia áreas rurais e urbanas, com alta morbidade e letalidade entre os acometidos. Em 1980, cerca de 30.000 casos foram relatados em 23 províncias de regiões próximas a Heilongjiang, com taxas de letalidade de 10 a 15% (OMS,1982; OMS,1983, OMS,1985a,b). Já foram relatadas epidemias na China em distritos urbanos de Hena, Shanxi, Jiangsu e Shandong (McKEE K.T., LEDUC J.W., PETERS C.J.,1991).

Na Noruega, Suécia e Finlândia, casos de HFRS com forma clínica leve foram reconhecidos desde 1934, sendo conhecida localmente como Nefropatia epidêmica. Em 1942 a doença causou seu maior surto entre as tropas da Alemanha e Finlândia estacionadas ao leste deste país. Já, na Escandinávia, as manifestações hemorrágicas da HFRS eram incomuns e cursavam com menor mortalidade (OMS,1982)

No Japão, a doença foi reconhecida inicialmente em 1960, quando um surto ocorreu em uma área delimitada da cidade de Osaka junto à estação ferroviária. A doença continuou a ocorrer por aproximadamente 10 anos e 119 casos foram descritos, sendo o quadro clínico geralmente leve e com baixos índices de letalidade. Posteriormente, foi detectada infecção entre os moradores das imediações dos portos e a doença se dispersou para áreas rurais sendo também observada entre trabalhadores de laboratórios e biotérios (OMS,1982).

No Leste da Europa o maior surto ocorreu na Bósnia em 1967, onde 114 pessoas adoeceram e, entre estas, três foram para o óbito (OMS,1982).

Estudos soro-epidemiológicos, realizados na Finlândia desde 1934, assinalavam formas clínicas leves de HFRS. Estudos posteriores relataram que a incidência de HFRS era quatro vezes maior entre a população rural que na população urbana (OMS,1982).

Inquérito soro-epidemiológico através da reação de IFI, realizado durante um surto da Bélgica de 1992 a 1994, mostrou que a forma de hantavirose europeia pelo vírus *Puumala* foi a mais freqüente em comparação ao vírus *Hantaan* nessa região (NIKLISSON B. *et al.*,1995).

Já nas Américas, estudos realizados em roedores silvestres demonstraram de alta prevalência de anticorpos anti-*Prospect Hill* em região rural de Maryland (EUA) (TSAI T.F. *et al.*,1982; LEE P-W. *et al.*,1985a; TSAI T.F. *et al.*,1985; FORTHAL D.N., BAUER S.P., McCORMICK J.B.,1987). Outros estudos, em colaboração com os EUA foram realizados no Brasil desde 1982 para investigar a presença de anticorpos anti-*Hantaan* em roedores de várias cidades de América do Sul. Comprovou-se a presença desta virose na Argentina (Buenos Aires) e nas cidades de Belém, São Paulo e Recife-Olinda com evidência de ampla distribuição viral, sugerindo alto risco de infecção humana (OMS,1983; LEDUC J.W. *et al.*,1985; OMS,1985b). Também em 1990 nos EUA, dois hantavírus *Seoul* e *Prospect Hill* foram isolados respectivamente de ratos das espécies *Rattus norvegicus* e de *Microtus pennsylvanicus*, porém, ainda sem relatos de doença humana (YANAGIHARA R.,1990; LEVINS R. *et al.*,1993; CDC, 1993c).

Em maio de 1993 os primeiros casos humanos nas Américas foram encontrados, na região de Four Corners, fronteiras dos estados de New México, Arizona, Utah e Colorado, nos Estados Unidos da América (EUA), onde aconteceu surto de doença respiratória aguda caracterizado por edema pulmonar não cardiogênico entre indivíduos previamente saudáveis que apresentavam inicialmente quadro aparentemente gripal e que evoluíam rapidamente para edema pulmonar não-cardiogênico e insuficiência respiratória aguda irreversível. Nestes pacientes após exaustivas investigações, foi isolado o agente etiológico, um novo hantavírus (CDC,1994b; ELLIOTT L.H. *et al.*,1994; DENETCLAW Jr.



W.F. & DENETCLAW T.H.,1994), com apresentação clínica diferente aos hantavírus anteriormente descritos. A doença foi chamada de Síndrome Pulmonar por Hantavírus (HPS). O novo vírus inicialmente conhecido como vírus *Four Corners*, ou *Convict Creek Virus* ou *Muerto Canyon*, foi posteriormente em 1994 denominado vírus “*Sin Nombre*” (ELLIOTT L.H. *et al.*,1994; CDC,1994b; CHILDS J.E. *et al.*,1994; KSI AZEK T.G. *et al.*,1995) e apresentou-se com alta letalidade e com epidemiologia relacionada a roedores selvagens (WENZEL R.P., 1994).

Após o aparecimento dos casos de doença humana em 1993 nos EUA, levantamentos sorológicos foram realizados na população geral da região de Four Corners, revelando a prevalência básica de anticorpos de hantavírus aproximada de 1% e de 23% entre os roedores capturados na periferia onde aconteceram os casos de HPS (CDC,1993h; CDC,1993i).

Estudos retrospectivos realizados em 1994, demonstraram reações sorológicas com IgG positiva para anti-hantavírus “*Sin Nombre*” em soro de um paciente falecido em 1959 com diagnóstico não esclarecido -porém com clínica sugestiva de HPS. Este fato evidenciava a presença de casos humanos de hantavírus nas Américas antes do surto de 1993. Também foi investigada infecção por hantavírus, em tecidos de necropsia de outro paciente falecido em 1978 por doença desconhecida, porém com relato clínico sugestivo de HPS. Neste paciente a presença de hantavírus foi confirmada posteriormente por imunohistoquímica com visualização direta dos antígenos (FRAMPTON J.W. *et al.*,1995). Da mesma forma outros dois casos ocorridos em 1992, com clínica sugestiva de hantavirose, foram diagnosticados através de sorologias IgG positivas para hantavírus, nos soros dos pacientes, 10 meses após da doença (CDC,1993i). Posteriormente, pesquisas soropidemiológicas detectaram anticorpos reagentes a estes vírus em soros de roedores e humanos de diferentes áreas dos EUA (YANAGIHARA R. *et al.*, 1990; CDC, 1993e).

Anticorpos para hantavírus entre humanos de regiões portuárias têm sido descritos (*apud* GONZALEZ-SCARANO F., ENDRES M.J., NATHANSON N. *et al.*,1991; IVERSSON L.B. *et al.*, 1994; TRAVASSOS DA ROSA E.S. *et al.*, 1995) e o achado de infecção entre ratos urbanos e de laboratório têm sido relatados mundialmente (CDC,1993a; YANAGIHARA R. *et al.*,1985). O encontro de vírus relacionados a *Seoul* em

ratos urbanos, particularmente nas regiões dos portos marítimos, através do mundo, fundamenta a inferência que estes animais podem ser a origem de infecção em humanos (GONZALEZ-SCARANO F., ENDRES M.J., NATHANSON N.,1991; IVERSSON L.B. *et al.*, 1994; MILLS J.N. & CHILDS J.E.,1998).

### 1.3. DEFINIÇÃO E TAXINOMIA DOS HANTAVÍRUS

O gênero Hantavirus, pertence à família Bunyaviridae, estabelecida desde 1973 e constitui a maior família de vírus com genoma RNA (BEATY B.J. & CALISHER C.H.,1991; FRUGULHETTI I.C.P.P.,1994; OLIVEIRA H.S.L.,1994).

Os vírus agrupados na família Bunyaviridae são basicamente classificados em relação a forma e sensibilidade do genoma RNA da região extracelular do virion (PRINGLER C.R,1991). Com cerca de 300 vírus nesta família; cinco gêneros são reconhecidos: Bunyavirus, Hantavirus, Nairovirus, Phlebovirus e Uukuvirus (BEATY B.J. & CALISHER C.H.,1991; FRUGULHETTI I.C.P.P.,1994; OLIVEIRA H.S.L.,1994; RAJ P.,1994). Recentemente, o *Study Group of the International Committee on the Taxonomy of Viruses* (ICTV) recomendou reunir os Uukuvirus no gênero Phlebovirus, e estabeleceu um novo gênero chamado Tospovirus (BEATY B.J. & CALISHER C.H.,1991; FRUGULHETTI I.C.P.P.,1994; MILLER M.J., 1995).

Os Bunyaviridae são nomeados tipicamente pelo nome geográfico onde foram originalmente isolados (BEATY B.J. & CALISHER C.H.,1991; FRUGULHETTI I.C.P.P.,1994; MILLER M.J., 1995).

As relações taxonômicas entre os vírus da família Bunyaviridae são revisadas, anualmente, pelo *Subcommittee on Arthropod-borne Viruses* e periodicamente pelo *Bunyaviridae Study Group of ICTV* ( *apud* BEATY B.J. & CALISHER C.H.,1991). Na 43ª Reunião anual do “Subcommittee of American Society of Tropical Medicine and Hygiene” (SIRACA) foi proposta a aprovação da taxinomia dos hantavírus baseados em suas características moleculares com posterior registro dentro do International Catalogue of Arboviruses (SHOPE R.E. *et al.*,1994).

Os vírus da família Bunyaviridae classificados como Arbovírus têm como reservatórios os artrópodes, os do gênero Hantavirus têm como reservatórios os roedores (BEATY B.J. & CALISHER C.H.,1991; ELLIOT L.H. *et al.*,1994), e os do gênero Tospovirus algumas plantas (BEATY B.J. & CALISHER C.H.,1991).

Do ciclo biológico dos Bunyaviridae fazem parte vetores hematófagos (inclusive culicídeos, anofelinos, aracnídeos, argasídeos e ixodídeos), mas outros mosquitos e moscas podem associar-se aos reservatórios, bem como pássaros e mamíferos de portes variados (BEATY B.J. & CALISHER C.H.,1991; FRUGULHETTI I.C.P.P.,1994).

Os reservatórios artrópodes dos Bunyaviridae têm infecção persistente e assintomática. Certamente alguns membros desta família têm transmissão venérea e transovariana para os descendentes, entre os seus reservatórios, demonstrando assim marcada relação reservatório-parasita (BEATY B.J. & CALISHER C.H.,1991; FRUGULHETTI I.C.P.P.,1994; OLIVEIRA H.S.L.,1994).

As doenças em humanos estão associadas a todos os gêneros, exceto os Uukuvírus. Algumas síndromas induzidas por estes vírus compreendem as encefalites e febres hemorrágicas (FRUGULHETTI I.C.P.P.,1994)

O protótipo viral do gênero é o vírus *Hantaan*, conhecido desde os anos 40 em países da Rússia, Manchúria, Europa e Ásia e foi isolado na Coreia em 1978 (LEE H.W., LEE P.W., JOHNSON K.M. 1978; OMS,1982;TKACHENKO E.A. *et al.*,1982; BISHOP D.H.L.,1990). *Hantaan* têm sido também isolado na região nordeste da Bósnia (HUKIC M. *et al.*,1996) e é o agente etiológico da Febre Hemorrágica da Coreia (KHF) ou Febre Hemorrágica com Síndrome Renal (HFRS), identificado pela demonstração de antígenos imunofluorescentes em isolado de tecido pulmonar de ratos silvestres da espécie *Apodemus agrarius coreia*, que são seus reservatórios naturais na zona rural do sul da Coreia próxima ao Rio Hantaan- (GONZALEZ-SCARANO F., ENDRES M.J., NATHANSON N.,1991; LEVY H. & SIMPSON S.Q.,1994).

Posteriormente outros hantavírus foram também isolados de roedores silvestres ou urbanos, relacionados antigenicamente ao *Hantaan*. Estes são os hantavírus *Seoul*, agente da forma leve da HFRS (LEE H W., BAEK L.J., JOHNSON K.M.,1982a; LEE H W,1989), o *Puumala*, agente etiológico da Nefropatia epidêmica (NE) na Europa, e da forma leve de HFRS, conhecida como Nefroso-nefrite epidêmica do Leste da Ásia- (GADJUSEK C.D.,1989), o *Prospect Hill*, que não tem sido associado a doença humana (LEE P W. *et al.*,1985a; YANAGIHARA R. *et al.*,1987; GADJUSEK C.D.,1989; YANAGIHARA R.,1990; BEATY B.J. & CALISHER C.H.,1991; GONZALEZ-SCARANO F., ENDRES M.J. & NATHANSON N.,1991 ), e o vírus *Leakey*, descrito por Baek *et al.*, em 1988 (CHILDS J.E. *et al.*,1994; XIAO S-Y. *et al.*,1994; BUREK K.A. *et al.*,1994). Outros hantavírus como o *Belgrade* (DIGLISIC G. *et al.*,1994), com código genético diferente dos vírus *Hantaan*, *Seoul*, *Puumala* e *Prospect Hill* e quase idêntico ao vírus *Dobrava* (TALLER A.M., *et al.*,1993; DIGLISIC G. *et al.*,1994; AVSIC-ZUPANC T. *et al.*,1995), o vírus *Porogja* (ANTONIADIS A. *et al.*,1989; McKEE K.T., LEDUC J.W., PETERS C.J.,1991), assim como outros vírus, *Thailand 749* -descrito por Elwell *et al.*, em 1985- (XIAO S-Y. *et al.*,1994) o *Thottapalayam* -descrito em 1971- (XIAO S-Y. *et al.*,1994) e o *Tula* vírus -descrito em 1994- (PLYUSNIN A. *et al.*,1994).

Em 1993 e 1994 foi isolado o vírus "*Sin Nombre*" (CDC,1994b; ELLIOTT L.H. *et al.*,1994; KSIASEK T.G. *et al.*,1995; CHILDS J.E. *et al.*,1994), com semelhança genética com o vírus *Prospect Hill* (CDC 1993a; CDC 1993c; BERKELMAN R.L.,1994; CDC 1994a; CHILDS J.E. *et al.*,1994; RUO S.L. *et al.*,1994).

Outros hantavírus relacionados a "*Sin Nombre*" foram descritos nos EUA e nas Américas (CDC, 1993d; CDC, 1993e; CDC, 1993f), tais como: o vírus *Black Creek Canal* (CDC 1994b; CDC 1994c; CDC 1994f; ROLLIN P.E. *et al.*,1995a), o vírus *Bayou* isolado na Louisiana (KHAN A.S. *et al.*,1995b; MORZUNOV S.P. *et al.*,1995; TORREZ-MARTINEZ N. & HJELLE B.,1995), o hantavírus *Rio Mamore* na Bolívia, ainda não relacionado com doença humana (HJELLE B., TORREZ-MARTINEZ N., KOSTER F.T.,1996), o vírus *Andes*, hantavírus relatado na Argentina e Chile (WELLS R.M. *et al.*,1997; TORO J. *et al.*,1998), o vírus *Laguna Negra* relatado na região do Chaco no Paraguai e mais recentemente vírus relacionados ao *Laguna Negra* na Bolívia (JOHNSON

A.M. *et al.*,1997; ESPINOZA R. *et al.*,1998). Outros vírus foram isolados em diferentes regiões da Argentina, os vírus *Lechiguanas*, *Bermejo*, *Pergamino*, *Maciel*, o hantavírus *Oran* e o vírus nomeado Hu39694 (LEVIS S. *et al.*,1998).

## 1.4. OS HANTAVÍRUS

### 1.4.1. Morfologia e estrutura

Os vírus da família Bunyaviridae têm morfologias semelhantes, medindo em média 80 a 120nm. As partículas virais são esféricas ou pleomórficas, dependendo do método usado para fixação (GONZALEZ-SCARANO F. & NATHANSON N.,1990).

No gênero hantavírus, o vírus *Hantaan*, possui envelope lipídeo com projeções de glicoproteínas na superfície externa com diâmetros e coeficientes de sedimentação semelhante a outros bunyavírus, entretanto, algumas propriedades individuais os diferenciam (BISHOP D.H.L.,1990; FRUGULHETTI I.C.P.P.,1994).

Nas varias espécies de hantavírus, o RNA tem um consenso comum na seqüência final de aminoácidos, diferente dos outros gêneros da família (BISHOP D.H.L.,1990). A recombinação genética preferida dos membros do gênero não tem sido determinada (BISHOP D.H.L. ,1990).

Os hantavírus são vírus RNA de cadeia simples e polaridade negativa formando complexos ribonucleoprotéicos circulares (nucleocapsídeo helicoidal) (WHITE J.D. & SHIREY F.G.,1982; MC KEE, LEDUC J.W., PETERS C.J.,1991; OLIVEIRA H.S.L.,1994; FRUGULHETTI I.C.P.P.,1994). Estes vírus apresentam forma esférica ou ovóide de conteúdo granular eletro-denso e possuem projeções na sua superfície com diâmetro aproximado de 80 a 120nm (McKEE K.T; LEDUC J.W., PETERS C.J.,1991; CDC 1993a; WHITE J.D. & SHIREY F.G.,1982; BISHOP D.H.L.,1990).

Os genomas RNA de todos os hantavírus variam entre 6500 a 8500 aminoácidos, constituídos de três segmentos de proteínas estruturais -os nucleocapsídeos-, com tamanhos a seguir: RNA-longo (L:  $>200 \times 10^6$  daltons), médio (M:  $3616 \times 10^6$  daltons) e pequeno (S:  $1696 \times 10^6$  daltons) (BISHOP D.H.L.,1990; HJELLE B. *et al.*, 1995a), L, M e S contém um único RNA, cada qual é complexo com proteína N: (50K-54K) para formar três nucleocapsídeos. O mRNA que corresponde a cada segmento possui única cadeia longa e aberta. Um polipeptídeo (200,000 de massa molecular), representa a RNA polimerase. O segmento L tem cadeia única e pode codificar a transcriptase. A estratégia de codificação do RNA L não foi bem caracterizada (BISHOP D.H.L.,1990; MC KEE K.T., PETERS C.J., 1991; ELLIOTT L.H.,1994).

O segmento M do vírus *Hantaan* é de 3616 bases, codifica G1 (108K-120K) e G2 (52-58K) para o protótipo *Hantaan* que são dois envelopes externos, que possuem atividade hemaglutinante e induzem à inibição da hemaglutinação e neutralizam os anticorpos (GINSBERG H.S.,1988; SCHMALJOHN C.S. & PATTERSON J.L.,1990; FRUGULHETTI I.C.P.P.,1994; GONZALEZ-SCARANO F. & NATHANSON N.,1990; HJELLE B. *et al.*, 1995),. Sequências de aminoácidos homólogos em excesso (98%) foram detectados nas proteínas G1 e G2 de *Hantaan* e em pacientes com KHF. Não foram detectadas proteínas não estruturais neste grupo (MC.KEE K.T., LEDUC J.W., PETERS C.J.,1991; ELLIOTT L.H. *et al.*,1994; HJELLE B. *et al.*,1994; HJELLE B. *et al.*, 1995, 1995a). O RNA S codifica a proteína N (polipeptídeo longo) (GONZALEZ-SCARANO F. & NATHANSON N., 1990).

#### **1.4.2. Propriedades físico-químicas**

Em geral a composição química dos Bunyavírus é de 2% de RNA, 58% de proteínas, 33% de lípidos e 7% de carboidratos (SCHMALJOHN C.S. & PATTERSON J.L., 1990).

O envelope lipídico é sensível a álcool etanol 70%, desoxicolato, éter e clorofórmio. A infectividade é estável em pH de 7.0 a 9.0, mas o vírus é inativado em pH 5.0. A infectividade é rapidamente perdida aos 37°C. Aproximadamente 90% das partículas são inativadas por aquecimento a 56°C por 30 minutos. Suspensões virais podem ser estocadas a -60°C em solução salina tampão com 1% de albumina bovina, por mais de 5 anos (McKEE K.T., LEDUC J.W., PETERS C.J., 1991; OMS, 1982).

### **1.4.3. A replicação viral**

O ciclo de replicação dos vírus da família Bunyaviridae se processa pela adsorção que resulta da interação entre as proteínas virais e receptores da célula hospedeira. A penetração e o desencapamento da partícula viral parecem ocorrer por fagocitose (endocitose), seguida de fusão do envelope viral com as membranas endossomais, em valores baixos de pH, resultando na liberação dos nucleocapsídeos diretamente no citoplasma celular. Na transcrição primária ocorre a síntese do RNA mensageiro genômico complementar pela RNA polimerase associada à partícula viral. Uma vez disponíveis no citoplasma, proteínas N genéricas são transcritas em RNA complementar, por uma RNA polimerase ou transcriptase associada ao virion. A transcrição primária não requer síntese de proteínas. A síntese e encapsulação do RNA viral complementar podem servir como modelo para o RNA genômico ou, em alguns casos, para o mRNA subgenômico;

Na replicação genômica fatores de origem celular ou viral parecem atuar como sinais responsáveis pela mudança da transcrição para replicação;

A transcrição secundária ocorre após a tradução dos transcritos primários e a replicação do genoma, com ampliação da síntese das espécies de mRNA e transcrição em ambos os sentidos;

Há fusão de vesículas citoplasmáticas com a membrana citoplasmática com posterior liberação de vírus maduro (SCHMALJOHN C.S. & PATTERSON J.L., 1990 E FRUGULHETTI I.C.P.P., 1994).

Como resultado da codificação estratégica dos hantavírus, os polipeptídeos G1 e G2 (em alguns gêneros, uma proteína estrutural) são traduzidos na forma de uma poliproteína precursora M, que é posteriormente, clivada. (MC.KEE K.T., LEDUC J.W., PETERS C.J.,1991; FRUGULHETTI I.C.P.P.,1994). O segmento S codifica o nucleocapsídeo protéico longo N (MC.KEE K.T., LEDUC J.W., PETERS C.J.,1991; HJELLE B. *et al.*,1994; HJELLE B. *et al.*, 1995a). A proteína N é único gene produto do segmento S, clonado, sequenciado e expressado. O significado da proteína Ns para os Bunyavírus não é conhecido, embora pareça desempenhar algum papel na replicação viral. Membros do gênero hantavírus aparentemente não codificam o polipeptídeo Ns. O segmento L ainda não está bem estudado. (MC.KEE K.T., LEDUC J.W., PETERS C.J.,1991; FRUGULHETTI I.C.P.P.,1994).

#### 1.4.4. Composição antigênica e determinantes antigênicos

A biologia da família Bunyaviridae é dominada pelo RNA M desde que suas sub-unidades codificam os genes relacionados a muitas das interações com o hospedeiro. Desta forma, a virulência, infecção, tropismo celular, transmissibilidade, neutralização, hemaglutinação e fusão de membrana são as principais propriedades fenotípicas atribuídas aos produtos do RNA M (G1 e G2). No caso do gênero Hantavirus, os anticorpos monoclonais G1 e G2 têm sido usados para definir as relações entre os vírus do gênero (KINGSFORD L.,1991; ELLIOTT L.H. *et al.*,1994) e estão localizados em nove diferentes locais antigênicos sendo dois na proteína G1 e sete na G2 (KINGSFORD L.,1991). Estes poderiam se dividir ainda em 13 regiões, baseadas em reações-cruzadas na imunofluorescência, imuno-hemaglutinação e neutralização por redução em placa. Estas reações são diferentes com cada hantavírus representativo do gênero (*Hantaan*, *Seoul*, *Puumala* e *Prospect Hill*). Dos locais de anticorpos anti-G1, somente um cruza com os vírus *Seoul* e *Puumala* e nove deles tem cruzamento com *Prospect Hill*. Os anticorpos G2 podem ser divididos em dois grupos baseados em suas reações cruzadas. Alguns são tipos-específicos, enquanto uns reagem com um ou dois destes vírus, outros reagem com todos os quatro vírus (KINGSFORD L.,1991).



## **1.4.5. A infecção por hantavírus**

### **1.4.5.1. Nas culturas celulares**

Os eventos iniciais no processo de infecção com membros da família Bunyaviridae, não estão bem definidos. Assim como outros vírus encapsulados, uma ou ambas proteínas integrantes do envelope viral são mediadoras no ataque dos receptores da célula hospedeira (FRUGULHETTI I.C.P.P.,1994).

A replicação dos Bunyaviridae não é tipicamente associada ao efeito citopático em células de animais invertebrados (BEATY B.J. & CALISHER C.H.,1991).

O isolamento de hantavírus em culturas celulares é difícil porém, uma vez adaptados, os vírus crescem bem em várias linhagens celulares, sendo as mais utilizadas a A-549 e as Vero E-6. Nestas linhagens os vírus produzem infecção não citolítica persistente, detectável pela IFI e outras técnicas de visualização de antígenos. O antígeno viral é restrito ao citoplasma e aparece em padrões de pequenos e discretos grânulos (McCORMICK *et al.*,1982; SCHMALJOHN C.S. *et al.*,1983; LEWIS R.M. *et al.*,1989; GONZALEZ-SCARANO F. & NATHANSON N.,1990; McKEE K.T., LEDUC J.W., PETERS C.J.,1991).

### **1.4.5.2. Nos roedores**

Em infecções experimentais em ratos observou-se um período de viremia de 5 a 15 dias após a infecção, com surgimento posterior de anticorpos séricos. A transmissão direta foi observada em ratos susceptíveis, ao serem colocados em cativeiro junto com animais acometidos. Estes são muito infectantes nos primeiros 40 dias após ocorrida a infecção, época em que seus títulos virais são maiores, porém, ficam infectantes silentes e aptos para transmitir a infecção, mesmo com viremia menor, por tempo prolongado (GONZALEZ-SCARANO F., ENDRES M.J., NATHANSON N.,1991).

Durante a fase virêmica o vírus se dissemina através de todo o organismo podendo ser encontrados antígenos específicos nos pulmões, baço e rins. Estes antígenos podem persistir nesses locais provavelmente durante toda a vida. A resposta imune ocorre logo após a viremia, produzindo anticorpos detectáveis (IgM e IgG) na IFI e testes de neutralização positivos, persistindo a IgG por provavelmente o resto da vida, porém, sem diminuir a abundância dos antígenos existentes nos órgãos. A duração e quantidade do vírus nas secreções do animal variam entre as espécies, mas, via de regra, permanecem infectantes por longos períodos (LEDUC J.W., 1987; McKEE K.T., LEDUC J.W., PETERS C.J.,1991).

Animais recém-nascidos têm doença fatal, com resistência à doença aumentando com a idade (KIM G.R. & McKEE Jr. K.T.,1985). Ratos maiores de três semanas, geralmente, sobrevivem à infecção. Podem ser encontrados vírus em todos os tecidos (cérebro, pulmões, rins, e células endoteliais sendo estes os lugares de maior replicação viral). A viremia acaba em aproximadamente 15 dias. Os ratos, então, desenvolvem lesões inflamatórias destrutivas em cérebro, pulmões e fígado morrendo entre duas e três semanas (McKEE K.T. *et al.*,1985; KIM G.R. & McKEE Jr. K.T.,1985; GONZALEZ-SCARANO F., ENDRES M.J., NATHANSON N.,1991; BEATY B.J. & CALISHER C.H., 1991).

Os hantavírus estabelecem infecção persistente não citolítica das células em seus reservatórios naturais (pequenos roedores) achado este que explica a infecção não-patogênica, contínua e assintomática (SCHMALJOHN C.S. & PATTERSON J.L.,1990; CDC,1993a; BUREK K.A. *et al.*,1994). Neles, os vírus podem ser encontrados de forma permanente nos pulmões (SCHMALJOHN C.S. & PATTERSON J.L.,1990; BEATY B.J. & CALISHER C.H.,1991; CDC,1993a; YANAGIHARA R. *et al.*,1985).

As vias respiratórias parecem ser as fontes de infecção mais eficientes para a transmissão das hantavirose entre os reservatórios, particularmente durante os períodos de replicação viral. As excreções e secreções provenientes do reservatório infectado exercem um papel importante na manutenção do ciclo enzootico (LEDUC J.W.,1989; *apud* KIM G.R., LEE Y.T., PARK C.H.,1994; MILLS J.N. & CHILDS J.E., 1998).

Roedores da espécie *Apodemus* (*Apodemus agrarius*) são reservatórios do protótipo do gênero, o vírus *Hantaan* (LEE H.W., LEE P.W., JOHNSON K.M.,1978). Observa-se que o *Apodemus agrarius*, desenvolve infecção assintomática, porém, elevado número de antígenos virais são encontrados em seus órgãos, em especial nos pulmões e rins. Em ratos recém nascidos inoculados com *Hantaan* observou-se hiperatividade após 10 a 12 dias da infecção, eriçamento de todos os pêlos, postura em gatilho, diminuição da motilidade, perda de peso, paresias de membros inferiores e bacia, com morte ocorrendo até o 24<sup>o</sup> dia após da inoculação. Podem ser constatadas alterações em todos os órgãos, porém, são predominantes quatro características patológicas: meningoencefalite difusa com focos simétricos de necrose bilateral, encefalite talâmica, peri-colangiohepatite, pneumonite e hiperplasia dos vasos linfáticos esplênicos. Estas alterações não se observam acompanhadas por alterações bioquímicas renais, hepáticas ou músculo-esqueléticas. As lesões no SNC dos animais são reconhecidas como causas fatais.(McKEE K.T. *et al.*,1985; McKEE K.T., LEDUC J.W., PETERS C.J.,1991).

Além da transmissão horizontal verificou-se a transmissão sexual entre os reservatórios, em especial entre aqueles que estão em cativeiro (CHILDS J.E. *et al.*,1985; BEATY B.J. & CALISHER C.H.,1991; McKEE K.T. LEDUC J.W., PETERS C.J.,1991; CDC 1993d; RUO S.L. *et al.*, 1994). A transmissão intra-uterina foi detectada, embora não reproduzida entre os roedores, e entre os Bunyaviridae a transmissão vertical foi observada como eficiente, contribuindo para a sobrevivência viral durante condições climáticas adversas (BEATY B.J. & CALISHER C.H., 1991; MILLS J.N. & CHILDS J.E., 1998).

Animais infectados podem excretar o vírus em todas as secreções por períodos mais longos, variando de um a dois anos (YANAGIHARA R. *et al.*,1985; OMS,1982; CDC,1993a). Estudos realizados por Lee H.W e Papadimitriou relatam que a infecção crônica entre os roedores da espécie *Apodemus* é maior que entre os *Rattus*, nos quais foi detectada viremia por dois meses e excreção de vírus na saliva e urina por aproximadamente um mês. Esta é a razão aparente em que os autores acreditam visto que o vírus não tem maior extensão do que já apresenta. Entretanto, entre os morcegos, foi observada viremia pulmonar por aproximadamente cinco meses e detectado vírus na saliva e urina por aproximadamente dois meses (PAPADIMITRIOU M.,1995).

Apesar da tendência a infectar animais machos, como observado entre os roedores rurais e silvestres, isto não se verificou entre as espécies urbanas (CHILDS J.E. *et al.*,1985; MILLS J.N. *et al.*,1995). Estudos assinalam que a mordedura entre os roedores se apresenta como importante forma de transmissão em especial entre os machos, que mostram maior soro-positividade que as fêmeas (McKEE K.T., LEDUC J.W., PETERS C.J.,1991; MILLS J.N. *et al.*,1997; MILLS J.N. & CHILDS J.E., 1998).

Os hantavírus não são restritos a um reservatório específico, por isso é possível que um reservatório possa estar infectado por mais de uma espécie de hantavírus ou por uma espécie viral diferente de hantavírus. Não obstante, ainda se desconhece a relação necessária para sobrevivência entre eles (LEE H.W.,1989; BUREK K.A. *et al.*,1994).

Outros roedores podem comportar-se como reservatórios secundários tais como, os coelhos e outras espécies (LEE H.W.,1989; KIM G.R., LEE Y.T., PARK C.H.,1994; NOWOTNY N.,1996).

Vírus relacionados a *Hantaan* foram isolados de roedores silvestres e urbanos (LEE H.W., BAEK L.J., JOHNSON K.M.,1982a; LeDUC J.W.,1987). Apesar de existir em nove espécies de roedores selvagens na área endêmica da Coreia, só o *Apodemus agrarius coreae* se apresenta como reservatório do vírus nessa região (OMS,1982). Roedores *Rattus norvegicus* são os maiores reservatórios de hantavírus em regiões urbanas, porém outros hantavírus já foram isolados de outros roedores (RUO S.L. *et al.*,1994; LEVIS S. *et al.*,1998).

### **1.4.5.3 Nos humanos**

Pequenos mamíferos, especialmente ratos e morcegos mantêm os hantavírus na natureza e são centro principal da epidemiologia na doença humana (MCKEE K.T., LeDUC J.W., PETERS C.J.,1991). Outros prováveis reservatórios alternativos ou secundários de hantavírus são relatados ainda sem comprovada infecção do homem (KIM G.R., LEE Y.T., PARK C.H.,1994). Gatos (*Felis domesticus*) e cães (*Canis familiaris*) não se comportam como reservatórios, mas podem atrair o contato com roedores contaminados (CDC,1993a,b; NOWOTNY N.,1996).

Os hantavírus causam infecção assintomática nos seus reservatórios, já entre os humanos provocam doença de morbidade variável dependendo do vírus envolvido (BUREK K.A. *et al.*,1994; TORO J. *et al.*,1998).

A transmissão para os humanos ocorre por inalação de aerossóis virais de forma direta, indireta ou casual; e, inclusive acidental, por possíveis mordidas de animais infectados (CDC,1993a; GRENDON J.H. & GOLDOFT M.J.,1996). Casos que sugerem transmissão de pessoa-a-pessoa têm sido relatados porém ainda é discutível este tipo de transmissão (WELLS R.M. *et al.*,1997).

#### **1.4.6. Epidemiologia e Epizootiologia**

##### **1.4.6.1. Distribuição geográfica**

Estudos soro-epidemiológicos e relatos em varios países demonstram a presença de anticorpos anti-hantavírus em soros de doentes e ratos de regiões rurais e urbanas assim como entre ratos de laboratórios (OMS,1985a). Hantavírus têm relatos da sua presença na Europa e Ásia, nas regiões da Coréia (LEE H.W., LEE P.W., JOHNSON K.M.,1978, LEE H.W., *et al.*,1979, LEE H.W., BAEK L.J. & JOHNSON K.M.,1982a, LEE H.W. & JOHNSON K.M., 1982b, LEE H.W.,1989, LEE M. *et al.*,1989.), China (LIANG M. *et al.*,1994b; LI Y.L. *et al.*,1995), Samara-Rússia Européia (ALEXEYEV O.A. *et al.*,1996), Balcãs (TALLER A.M. *et al.*,1993), Taiwan (WU T-N. *et al.*,1996), Japão (PETER J.B. *et al.*,1994; KARIWA H. *et al.*,1995), Escandinávia (LÄHDERVITA J.,1989), Suécia (NIKLASSON B. *et al.*,1993), Finlândia, Noruega, Dinamarca, Bélgica, Bosnia (HUKIC M. *et al.*,1996), França (ROLLIN P.E. *et al.*,1995b), Alemanha (KULZER P. *et al.*,1993; ROLLIN P.E. *et al.*,1996; CLEMENT J. *et al.*,1996; SCHREIBER M., LAUE T., WOLFF C.,1996), Escócia (WALKER E., PINKERTON I.W., GRAHAM LL.,1984), Checoslováquia (DANES L. *et al.*,1992), Hungria, Iugoslávia (DIGLISIC G. *et al.*,1994) Romênia, Grécia (ANTONIADIS A. *et al.*,1989), Slovenia (AVSIC-ZUPANC T. *et al.*,1994) e Itália (NUTI M. *et al.*,1993). São descritos também na Índia e Tailândia (Xiao S-Y *et al.*,1994) e em regiões da África (GONZALEZ J.P. *et al.*,1994) no Senegal (SALUZZO J.F. *et al.*,1985), na Nigéria (MARINER J.C., MORRILL J., KSIAZEK T.G.,1995) e no Canadá (CHILDS J.E. *et al.*,1994).

Nos EUA os hantavírus já haviam sido descritos entre roedores selvagens desde 1983 (OMS,1983; LeDUC J.W. *et al.*,1985; OMS,1985b; NERURKAR V.R. *et al.*,1994). Em 1993 são observados infectando humanos no Arizona, Califórnia, Colorado, Idaho, Indiana, Kansas, Lousiana, Wiscosin (áreas portuárias de Green Bay e Superior, e Milwaukee), Minnesota (área portuária de Duluth), Montana, New México, North Dakota, Nevada, Oregon, South Dakota, Florida, Connecticut, New York, Virginia e Texas (TSAI T.F. *et al.*,1985; YANAGIHARA R. *et al.*,1985; YANAGIHARA R. *et al.*,1987; LI D. *et al.*,1993; McKENNA P. *et al.*,1993; WILSON M.L. *et al.*,1993; WENZEL R.P.,1994; LI D. *et al.*,1994; BUREK K.A. *et al.*,1994; SLAMA T.G. & ZON R.,1994; TESH R.B. *et al.*,1994; CDC,1994d; CHAVES-GILES F., VANNER C., LAPOSATA E.,1995; BEATY B.J. *et al.*,1995; MILLS J.N. *et al.*,1997; RAWLINES J.A. *et al.*,1995; ROLLIN P.E. *et al.*,1995a; TURELL M.J. *et al.*,1995; ZEITZ P.S. *et al.*,1995; CDC,1996b.).

Foi descrita a presença de hantavirose na América do Sul (WEISSENBACHER M.C. *et al.*,1990; LEVIS S.C. *et al.*,1995; LOPES N. *et al.*,1996; WELLS R.M. *et al.*,1997a), no Brasil (IVERSSON L.B. *et al.*,1983; LeDUC J.W. *et al.*,1985; VASCONCELOS P.F.C. *et al.*,1992; IVERSSON L.B. *et al.*,1994; IVERSSON L.B., BRANQUINHO M.S., ROSA M.D.B.,1995a; IVERSSON L.B. *et al.*,1995b; RIBEIRO A.F. *et al.*,1995; ROMANO-LIEBER N.S. *et al.*,1995b; TRAVASSOS DA ROSA E.S. *et al.*,1995; ZAPAROLI M.A. *et al.*,1995; TENÓRIO J. *et al.*,1996; MASCARENHAS-BATISTA V.; TORRES-MORALES A.E., PEREIRA-SILVA J.L.,1995), particularmente na Bolívia (HJELLE B., TORREZ-MARTINEZ N., KOSTER F.T.,1996) Argentina (WEISSENBACHER M.C. *et al.*,1990; WELLS R.M. *et al.*,1997; SCHMALJOHN C. & HJELLE B.,1997; LEVIS S. *et al.*,1998), Costa Rica, Paraguai (WILLIAMS R.J.,1997; SCHMALJOHN C. & HJELLE B.,1997; JOHNSON A.M. *et al.*,1997) e Chile (ESPINOZA R. *et al.*,1998).

#### **1.4.6.2.Ambiente**

Os padrões ecológicos dos hantavírus diferem dos outros bunyavírus, e não há evidência da participação de insetos vetores. Cada hantavírus é perpetuado dentro de uma espécie de roedores, pois causam infecção persistente nestes reservatórios (McKEE K.T., LeDUC J.W., PETERS C.J.,1991).

Existem dois picos sazonais nos roedores da espécie *Apodemus*, reservatórios do hantavírus *Hantaan*, relacionados à frequência de infecção (LEE H.W., BAEK L.J., JOHNSON K.M.,1982a; McKEE K.T., LeDUC J.W., PETERS C.J.,1991). Esta sazonalidade foi observada entre os morcegos da Coreia, que possuem incidência sazonal alternante em relação à espécie *Apodemus agrarius*, mantendo assim os vírus nesta região. Ainda é desconhecido o comportamento destes reservatórios em outras latitudes (KIM G.R., LEE Y.T., PARK C.H.,1994). Desta forma populações de ratos da espécie *Apodemus agrarius* (LEE H.W., BAEK L.J., JOHNSON K.M.,1982a) delimitam a extensão geográfica que alcança o vírus *Hantaan* na Ásia e Europa (McKEE K.T., LeDUC J.W., PETERS C.J.,1991). Já o hantavírus Seoul, que apresenta distribuição mundial, espalha-se principalmente em cidades portuárias e urbanas (LEE H.W., BAEK L.J., JOHNSON K.M.,1982a; LeDUC J.W., SMITH G.A., JOHNSON K.M.,1984). Hantavírus *Seoul* tem patogenicidade semelhante a *Hantaan* porém com diferente sazonalidade (GONZALEZ-SCARANO F., ENDRES M.J., NATHANSON N.,1991).

Algumas outras espécies de roedores apresentam ciclos de alta densidade reprodutiva a cada três a quatro anos, intercalados ou sobrepostos a outros reservatórios. Desta maneira, surtos de doença em regiões onde o reservatório principal não está em ciclo de alta reprodução podem aparecer provocados pelo ciclo de alta densidade reprodutiva do outro (NIKLASSON B. *et al.*,1995).

A incidência de surtos e epidemias de hantavirose varia consideravelmente entre regiões endêmicas em relação a mudanças nas populações de roedores (KIM G.R. *et al.*,1994). Estas mudanças estão relacionadas com fatores extrínsecos e intrínsecos entre espécies, competição territorial, fatores climáticos e predação (LeDUC J.W.,1989; PATZ J.A. *et al.*,1996). Os casos ocorridos nos EUA em 1993 e na região sul e sudeste da América do Sul entre 1994 e 1997 sugerem ter ocorrido aumento na população de roedores relacionado à mudanças climáticas que favoreceram o crescimento abundante dos frutos que alimentavam estas espécies. Conseqüentemente houve maior reprodução dos animais, e estas intervenções no ambiente dos reservatórios resultou em mudanças da dinâmica populacional, proliferação e invasão do ambiente humano, levando à infecção (LeDUC J.W.,1989; PATZ J.A.,1996; FARMER P.,1996; LEDERBERG J.,1996; SCHMALJOHN C

& HJELLE B.,1997). Na região norte-americana onde aconteceu o surto de 1993, seis anos de seca , seguidos de primavera extremamente chuvosa, resultou no aumento aproximado de 10 vezes na população de ratos silvestres com conseqüente epidemia (WENZEL R.P.,1994; PATZ J.A. *et al.*,1996).

#### **1.4.6.3. Padrões epidemiológicos**

Fatores ambientais e do ecossistema favoreceram o surgimento de casos de hantavirose em ambientes onde antes não tinham sido relatados (PATZ *et al.*,1996; LEDERBERG J.,1996). Constituiu-se problema de saúde pública em regiões da Europa (CLEMENT J. *et al.*, 1996; CLEMENT J. *et al.*,1996a; SCHREIBER M., LAUE T., WOLFF C.,1996; ROLLIN P.E. *et al.*,1996) e da Ásia (WU T-N. *et al.*,1996) provocando doença esporádica, porém, sob algumas circunstâncias, ocorre na forma epidêmica, associada principalmente com áreas rurais, sendo agora também reconhecida como problema de saúde no Canadá (CHILDS J.E. *et al.*,1994), nos Estados Unidos de América do Norte (CDC, 1996b), e mais recentemente em países da América do Sul (OMS,1982; LeDUC J.W *et al.*,1985; HJELLE B., TORREZ-MARTINEZ N., KOSTER F.T.,1996; SCHMALJOHN C. & HJELLE B.,1997).

#### **São reconhecidas três formas epidemiológicas**

Forma rural: Nas áreas rurais ocorrem a maioria dos casos. Na Coréia a doença acontece através de dois picos sazonais, um pequeno em junho (final da primavera) e um maior entre setembro e outubro (outono). Na Escandinávia os picos acontecem no final do outono e no início do inverno (LeDUC J.W.,1987). Os reservatórios da zona rural da Coréia, China e Rússia, são ratos da espécie *Apodemus*. Picos sazonais coincidem com picos altos na população de roedores de campo infectados e com número maior de infectados. Durante estes períodos que coincidem com plantio e colheita, os roedores saem de seus ninhos para se reproduzirem. Ratas grávidas depositam grandes quantidades de fezes contaminadas na terra (OMS,1982). O tamanho da população de roedores é proporcional às áreas de cultivo de arroz (OMS,1982).



Grupos humanos que moram e trabalham em regiões rurais como fazendeiros, guardas florestais, soldados, caçadores, agricultores, agrônomos, pescadores, residentes e visitantes de áreas rurais são expostos (BEATY B.J. & CALISHER C.H.,1991; CDC,1993a; CDC,1994c). Atividades recreativas no campo são também consideradas de risco para infecção por estes vírus (OMS,1982; LeDUC J.W.,1987; CDC,1993a; RUO S.L. *et al.*,1994). Além desta população rural, exposição aos roedores urbanos é observada entre encanadores, garis de limpeza pública, trabalhadores portuários, estivadores, pescadores, militares e escoteiros (CDC,1993a; CDC,1994a; CDC,1994e; GRENDON J.H. & GOLDOFT M.J.,1996).

Forma urbana: Casos de HFRS foram relatados em regiões urbanas da Coreia e China entre indivíduos que nunca saíram das cidades. O reservatório nestes casos parece ser o rato doméstico *Rattus norvegicus*, que provavelmente se contamina pelo contato com os roedores rurais (OMS,1982). Há casos atribuídos à exposição a morcegos e outros roedores que invadem as casas durante o outono e inverno (McKEE *et al.*,1991).

Atividades de trabalho ligadas a visitas a locais de armazenagens de sementes nos lares, no campo, ou em zonas portuárias podem predispor à contaminação (CDC,1993a). Casos de contaminação entre humanos que, em atividades de lazer, entram na água ou lugares infestados pelos roedores ou suas excretas foram relatados (LeDUC J.W., 1987).

Infecção casual e nos laboratórios: Observou-se a ocorrência de casos entre cientistas expostos a roedores silvestres, seja por transmissão acidental ou por exposição direta ou aérea (QUIMBY F.W.,1987; GONZALEZ-SCARANO F., ENDRES M.J., NATHANSON N.,1991). Descreveram-se contaminações por aspiração de aerossóis contaminados durante limpeza de porões e garagens abandonados (OMS,1982; CDC,1993a).

#### **1.4.6.4.Características dos hospedeiros humanos**

A doença ocorre predominantemente no grupo humano entre os 20 e 50 anos e, com maior frequência no sexo masculino (OMS,1982; BEATY B.J. & CALISHER C.H.,1991). Desta forma, mais de 80% dos pacientes são homens com idades entre os 15 e

35 anos de idade (OMS,1982). A prevalência de anticorpos entre os infectados é maior quando relacionada com a idade e tempo de residência na região geográfica onde se constata circulação dos hantavírus, sendo incomum a ocorrência de casos em crianças (McKEE K.T., LeDUC J.W., PETERS C.J.,1991).

#### 1.4.6.5. Mecanismos de transmissão

A transmissão para o ser humano ocorre quando este se coloca em contacto com animais infectados ou suas excretas. (LEE H.W., LEE P.W., JOHNSON K.M.,1978; TSAI T.F.,1987a; CDC,1994c; ZAKI S.R. *et al.*,1995). Esta transmissão se processa por exposição direta à saliva, urina, secreções brônquicas por excretas dos reservatórios ou por exposição indireta, ingressando como aerossóis, penetrando pelas vias aéreas, por lesões de pele e/ou mucosa conjuntival, (LEE H.W., LEE P.W., JOHNSON K.M.,1978; LEE H.W. & JOHNSON K.M.,1982b; GADJUSEK C.D.,1989; LeDUC J.W. *et al.*,1986; TSAI T.F.,1987b; LEE H.W.,1989; BEATY B.J. & CALISHER C.H.,1991; CDC,1994c; CHILDS J.E. *et al.*,1995; GRENDON J.H. & GOLDOFT M.J.,1996). Verificou-se contaminação por contato casual, através da pele, conjuntivas oculares, ou por via inalatória em pessoal de laboratório e de biotérios (LEE H.W. & JOHNSON K.M.,1982b; OMS,1982; TSAI T.F.,1987b; CDC,1993a; VITEK C.R. *et al.*,1996; GRENDON J.H. & GOLDOFT M.J.,1996), principalmente onde existem roedores contaminados em cativeiro (QUIMBY F.W.,1987; GONZALEZ-SCARANO F., ENDRES M.J., NATHANSON N.,1991). Há transmissão descrita para pessoal que trabalha na captura e no manuseio de ratos na pesquisa médica (OMS,1982) e ainda, por ingestão de água e/ou alimentos contaminados, ou mesmo através da mordedura de roedores ou outros animais infectados, pelo contato direto com pele lesionada ou conjuntivas oculares, assim como pela ingestão de alimentos contaminados (CDC,1993a; CDC,1993f).

Transmissão vertical do vírus Hantaan já foi descrita, com óbito fetal se processando algumas horas após o parto, tendo sido observadas alterações anatomopatológicas e sorológicas características da doença (LEE H.W.,1989; SILBERBERG L. *et al.*,1993; PINI N.C. *et al.*,1998).

A transmissão inter-humana é incomum (BEATY B.J. & CALISHER C.H. *et al.*,1991; CDC,1993a; CDC,1993f; RUO S.L. *et al.*,1994) porém, pode aparecer (VITEK C.R., *et al.*,1996; WELLS R.M. *et al.*,1997; SCHMALJOHN C. & HJELLE B.,1997; WELLS R.M. *et al.*,1997).

Usualmente surgem casos isolados de doença por hantavírus em grupos onde já foi descrita infecção, ou entre grupos de pessoas susceptíveis quando expostas a focos de contaminação. (OMS,1982).

Estudos realizados nos roedores *Apodemus agrarius* não demonstraram evidência de que ectoparasitas destes roedores atuassem como agentes de infecção para os humanos (McKee K.T., LeDUC J.W., PETERS C.J.,1991).

Nos relatos dos casos norte-americanos em 1993, suspeitou-se possível transmissão peridomiciliar, assim como transmissão por exposição ocupacional ou ainda através das atividades recreacionais (OMS,1982; CDC,1993a; CDC,1993c; CDC,1994c; GRENDRON J.H. & GOLDOFT M.J.,1996). Alguns fatores de risco estudados em relação a HPS em áreas rurais dos EUA, determinaram que a presença de grande número de pequenos roedores no peridomicílio e o contacto com roedores nas atividades de agricultura e limpeza de áreas infestadas estavam associadas com o surgimento da doença (ZEITZ P.S. *et al.*,1995). Agricultores trabalhando nos campos, nesses períodos, colocavam-se em contato com estas excretas infectadas, aerossóis inalatórios e inoculação direta por lesões ou cortes da pele (OMS,1982).

Evidências da presença de roedores intradomiciliares ou peridomiciliares devem ser pesquisadas entre os suspeitos de infecção. Informações em relação à ocupação ou profissão como no caso de atividades em espaços fechados como silos, armazéns, garagens, atividades físicas, ginásticas, descanso no campo ao ar livre e ainda exercícios militares (ARMSTRONG L.R. *et al.*, 1993) devem ser também avaliadas. Atividades recreacionais e contato com pessoas que apresentem sintomas semelhantes devem ser investigadas visando esclarecer melhor os antecedentes epidemiológicos dos acometidos (WELLS R.M. *et al.*,1997; ZAKI S.R. *et al.*,1995).

Muitos casos de infecção por hantavírus aconteceram entre indivíduos com baixo nível socioeconômico, com más condições habitacionais e relacionados com atividades no campo, assim como condições de sub-urbanização e acampamentos podem se tornar condições de risco para esta infecção (SCHMALJOHN C. & HJELLE B.,1997)

Observações realizadas em grandes epidemias afastam a probabilidade de que indivíduos previamente infectados sofram de nova infecção por hantavírus (TSAI T.F.,1987b).

#### **1.4.7. Quadro Clínico**

A resposta à doença é basicamente imunológica induzida precocemente pela própria infecção com formação de immuno-complexos no endotélio macro e micro capilar (ENNIS F.A.,1997; TSAI T.F.,1987a; COSGRIFF T.M. & LEWIS R.M.,1989; GUANG M.Y., LIU G.Z., COSGRIFF T.M.,1989; McKEE K.T., LeDUC J.W., PETERS C.J.,1991; COSGRIFF T.M.,1991; KSLAZEK T.G. *et al.*,1995).

**São conhecidas até hoje duas síndromes clínicas provocados por hantavírus:**

1. Febre Hemorrágica com Síndrome Renal

2.Síndrome Pulmonar por Hantavírus.

**1. Febre Hemorrágica com Síndrome Renal (HFRS):** também conhecida como Febre hemorrágica da Coreia (KHF) ou Febre hemorrágica epidêmica (EHF) ou “Nefropatia Epidêmica” (NE) é provocada por diferentes hantavírus (BUTKUS D.E.,1983; TSAI T. F., 1987a, GADJUSEK C.D.,1989; ANTONIADIS A. *et al.*, 1989; LÄHDEVIRTA J., 1989)

As formas Nefropatia epidêmica (NE), forma branda autolimitada, e Febre hemorrágica epidêmica (EHF), mais agressiva, e que tem como característica a alta letalidade (15%), aparentemente são formas polares de apresentação da própria HFRS (TSAI T.F.,1987a; MUSTONEN J. *et al.*,1996).

No curso clínico da **HFERS** são descritas cinco fases:

### **Fase de incubação**

Esta fase ocorre a partir do contato viral, de duas a três semanas, variando de 5 a 42 dias (TSAI T.F., 1987a.;GADJUSEK C.D., 1989).

### **Fase febril**

Esta fase tem duração de três a oito dias. Tem início súbito, semelhante a quadro gripal, com febre alta, calafrios, fraqueza, cefaléia, dor retro-orbital, mal-estar geral, e mialgia generalizada. Esta fase é acompanhada de anorexia, prostração, tonturas, dor lombar, dor abdominal, náuseas e vômitos, podendo aparecer também diarréia, artralgias e tosse. O paciente apresenta-se gravemente comprometido, confuso, inquieto e agitado. A febre alta entre 38,5 a 39°C do início atinge até 40°C no terceiro ou quarto dia de doença. Encontramos também rubor facial, de pescoço e de tórax anterior, coma a face apresentando-se inchada na região periorbitária (TSAI T.F.,1987a, GADJUSEK C.D.,1989; ANTONIADIS A. *et al.*,1989).

O edema retroperitoneal, ou peritoneal, resultante do extravasamento de plasma por aumento da permeabilidade capilar parece responsável também pela dor abdominal e torácica posterior, assim como pelos achados de hipersensibilidade à palpação da área renal (GADJUSEK C.D.,1989).

As conjuntivas se encontram congestas, podendo aparecer hemorragias. A faringe fica hiperemiada podendo ser encontradas petéquias no palato mole. Finas petéquias aparecem também nas axilas, face, tórax anterior e pescoço, ao final desta fase. Linfadenopatias generalizadas e esplenomegalia são achados freqüentes. (TSAI T.F., 1987a, GADJUSEK C.D.,1989; ANTONIADIS A. *et al.*,1989).

Ocasionalmente, nesta fase, alguns pacientes podem apresentar dor abdominal aguda que se confunde com o diagnóstico de abdômen agudo podendo ser levado à exploração cirúrgica desnecessária (TSAI T.F.,1987a). Entre crianças, nesta fase, sintomas semelhantes aos do abdômen agudo são descritos (AHLM C.*et al.*,1994).

Os valores da pressão arterial são inicialmente normais, mas no transcurso da doença aparece hipotensão aguda que anuncia a fase seguinte (TSAI T.F.,1987a, GADJUSEK C.D.,1989; ANTONIADIS A. *et al.*,1989).

### **Fase hipotensiva ou de choque**

Esta fase inicia-se após 72 horas dos primeiros sintomas. Os sintomas da fase febril podem ainda estar presentes quando aparecem os primeiros sinais da fase hipotensiva. Ocorre súbita queda de pressão decorrente do quadro clássico de choque (taquicardia, pulso débil, hipotensão, pele fria e úmida), com síncope, coma e em alguns casos seguido de parada cardíaca. Estes sintomas aparecem no início de defervescência da febre (TSAI T.F.,1987a, GADJUSEK C.D.,1989; ANTONIADIS J. W. *et al.*, 1989).

Na doença leve, a hipotensão reverte em poucas horas; na apresentação moderada a recuperação acontece durante os três primeiros dias com o tratamento intensivo e precoce e, nos casos de doença grave, a hipotensão é irreversível com 30% de óbitos (TSAI T. F.,1987a).

A hipotensão ou choque processa-se pelo déficit efetivo de volume circulatório produzido pela dilatação dos capilares vasculares terminais. Micro-hemorragias são freqüentes neste período, com hematêmese, epistaxe, sangramento pelos pontos de venopunção, sangramento de mucosas e conjuntivas (TSAI T.F.,1987a; GADJUSEK C.D.,1989; ANTONIADIS A. *et al.*,1989). As hemorragias variam de lesões petequiais transitórias a sangramentos maciços, sendo uma manifestação proeminente e importante causa de óbito. Pontilhado hemorrágico na pele e mucosa orofaríngea, mucosa gengival e de faringe posterior, são as principais, seguidas em freqüência, pelas hemorragias gastrointestinais. As lesões petequiais e equimóticas freqüentemente se localizam nas axilas, na região posterior do tórax e nas dobras dos membros. As petéquias são escuras variando de lesões puntiformes até formas lineares e esfoliantes. Ocasionalmente, o sangramento dentro do tecido subcutâneo resulta em formação de grandes hematomas. Lesões conjuntivais aparecem como manchas ou são francamente hemorrágicas. Hemorragias gastrointestinais, respiratórias e urinárias são descritas, podendo ser mínimas ou maciças, ocorrendo as vezes hematêmese, melena, hemoptise e hematúria (GUANG M.Y., LIU G.Z., COSGRIFF T.M.,1989).

Desorientação e coma podem aparecer em pacientes muito comprometidos e deve-se suspeitar, nestes casos, de hemorragias no sistema nervoso central. Na NE o quadro de hipotensão é menos freqüente e os sinais hemorrágicos na maioria dos casos se limitam à epistaxes (TSAI T.F.,1987a; GADJUSEK C.D.,1989; ANTONIADIS A. *et al.*,1989).

Durante o final da fase de choque, entre o quarto e nono dia de início dos sintomas, pode aparecer oligúria com normalização dos valores do hematócrito, uréia e creatinina, marcando o início da fase seguinte (TSAI T.F.,1987a).

### **Fase oligúrica**

Esta fase inicia-se a partir do terceiro ao sétimo dia de doença. Sinais de insuficiência renal aguda aparecem, a proteinúria detectada na fase inicial da doença agora se acentua e surge diminuição do volume urinário acompanhado de aumento dos valores da uréia e creatinina séricas. Os casos variam de leve diminuição do volume urinário à anúria. Hipercalemia e encefalopatia pode complicar a falha renal e a uremia, podendo ser observados náuseas e vômitos associados (TSAI T.F.,1987a; GADJUSEK C.D.,1989; ANTONIADIS A. *et al.*,1989; LÄHDERVITA J.,1989).

Em 40% dos indivíduos os valores pressóricos retornam à normalidade. Em cerca de 60% dos casos os pacientes apresentam hipertensão, provavelmente por seu estado hipervolêmico, pela oligúria ou anúria e pelas alterações no balanço hidro-eletrolítico. Geralmente se observa oligúria entre os pacientes que desenvolveram severa hipotensão na fase anterior. Outras complicações podem surgir, como insuficiência cardíaca congestiva, edema pulmonar e distúrbios eletrolíticos. Cefaléia, alterações de consciência e agitação associadas à alterações metabólicas podem aparecer. (TSAI T.F., 1987a; GADJUSEK C.D.,1989; ANTONIADIS A. *et al.*,1989; LÄHDERVITA J.,1989).

Manifestações hemorrágicas do sistema nervoso central produzem, desde leves alterações mentais e de consciência, até déficit neurológicos associados à síndromes herniárias com hemiparesias secundárias às hemorragias. Hemorragias retroperitoniais podem acontecer após ruptura de rim ou lesões dos vasos peri-renais. Outras estruturas retroperitoniais como as glândulas supra-renais podem apresentar hemorragia com dores

lombares súbitas, abdominais e inguinais e além disso, pode aparecer massa palpável acompanhada de choque com baixo hematócrito como característica. Hemorragias viscerais podem acontecer em qualquer fase até a convalescência (GUANG M.Y., LIU G.Z., COSGRIFF T.M.,1989).

Comprometimento do SNC e edema pulmonar ocorrem nos casos graves. Cerca de 50% dos casos fatais ocorrem nesta fase. A resolução do quadro de hipotensão e o retorno da função renal ocorre espontânea e gradualmente, quando se atinge a segunda semana de doença, com a normalização dos valores da pressão arterial, melhora do volume urinário, dos sintomas de encefalopatia e do choque (TSAI T.F.,1987a; GADJUSEK C.D.,1989; ANTONIADIS A. *et al.*,1989).

#### **Fase diurética**

Aproximadamente entre 7 e 10 dias do início dos sintomas, a fase poliúrica aparece em mais da metade dos pacientes, podendo atingir diurese de até 6 litros diariamente, sendo este fato característico. Esta fase provavelmente é ocasionada pela diminuição da densidade específica urinária, por danos tubulares residuais e pela diminuição da reabsorção tubular. Outras vezes pode ser devido à super-hidratação oferecida ao paciente durante as primeiras fases de doença. Alguns pacientes desenvolvem desequilíbrio eletrolítico e desidratação nesta fase (TSAI T.F.,1987a; GADJUSEK C.D.,1989; ANTONIADIS A. *et al.*,1989).

A vasopresina e a restrição de líquidos têm pouco ou nenhum efeito. A recuperação se inicia aproximadamente 21 dias após o início dos sintomas. Um adequado cuidado de hidratação e balanço hidro-eletrolítico levarão à normalização da diurese (TSAI T.F.,1987a; GADJUSEK C.D.,1989)

#### **Fase de convalescência**

Esta fase, que pode durar até três meses, caracteriza-se pela recuperação progressiva da filtração glomerular, pela recuperação das funções renais, pela normalização do hematócrito e da concentração urinária (TSAI T.F.,1987a; GADJUSEK C.D.,1989; ANTONIADIS A. *et al.*,1989).



Alguns pacientes não apresentam todas as fases descritas e geralmente a recuperação da infecção é completa. Nas crianças, os sintomas iniciais da NE mais comuns são febre ( $>38,5^{\circ}\text{C}$ .), cefaléia e anorexia (AHLM C. et al, 1994). Na NE alguns pacientes adultos apresentam miopia transitória, porém nas crianças aparece raramente borramento da visão (LAUTALA P. & UHARI M., 1991; AHLM C. et al.,1994). Outros pacientes sofrem permanentes seqüelas neurológicas, por hemorragias cerebrais ou insuficiência vascular cerebral (TSAI T.F.,1987a).

Há relatos referindo acometimento neurológico com sinais e sintomas semelhantes aos da síndrome de Guillain-Barré durante a fase de recuperação do comprometimento renal (ESSELINK R.A.J. et al.,1994).

Outra seqüela claramente documentada é a de leve disfunção da função tubular renal e diminuição da capacidade de concentração e acidificação da urina. Esta última pode ser recuperada em alguns meses ou anos após a doença (TSAI T.F.,1987a). Alguns relatos relacionam diagnóstico de doença renal hipertensiva com infecção prévia por hantavírus e desta, com insuficiência renal crônica (CDC,1993c; SMETANA Z. et al.,1994; PETER J.B. et al.,1994). Anormalidades glomerulares achadas nas biópsias dos pacientes ocasionadas por depósito de imunocomplexos, fazem suspeitar de infecção persistente após quatro a cinco anos da doença (TSAI T.F.,1987a).

Outros autores relatam casos em que aparecem complicações tardias de hipertensão e algum grau de insuficiência renal nos pacientes que sofreram da doença que pode se relacionar à coagulação intravascular no rim durante a fase aguda da hantavirose (PAPADIMITRIOU M.,1995; REBIBOU J.M. et al.,1997).

A infecção pelo vírus *Seoul* com clínica semelhante à HFRS apresenta curso mais curto e leve, caracterizado por dor abdominal com hepatomegalia, icterícia, alterações da função hepática e com grande elevação de transaminases e insuficiência renal leve (LEE H.W.,1989; BEATY B.J. , CALISHER C.H.,1991).

**2. Síndrome Pulmonar por Hantavirus (HPS):** Esta forma clínica foi descrita recentemente na América do Norte (CDC, 1993j). Os casos norte-americanos não apresentam comprometimento renal e manifestações hemorrágicas características da forma euroasiática de hantavirose, apesar de ocorrer plaquetopenia (SINNOT IV J.T. et al.,1993;

ZAKI S.R. *et al.*,1995) (Anexo 5). Há semelhança entre as duas formas como a ocorrência de choque e insuficiência cardíaca. Ocorrem leucocitoses com linfócitos atípicos e seqüestros microvasculares (ZAKI S.R. *et al.*,1995). O envolvimento renal é mínimo, e não se observa rash cutâneo e edema peri-orbitário, aumento de sensibilidade na região costovertebral ou hemorragias freqüentemente encontradas na HFRS (DUCHIN J.S. *et al.*,1994). Há entretanto, relatos de pacientes com HFRS na Grécia com envolvimento pulmonar com dispnéia, infiltrado intersticial e atelectasias sub-segmentais (ELISAF M. & SIAMOPOULOS K.C.,1995).

Os pacientes previamente sadios apresentam período de incubação que varia entre cinco dias a quatro semanas, com resposta imune mantida por anos (SINNOT IV J.T. *et al.*,1993; HALLIN G.W. *et al.*,1996; DUCHIN J.S. *et al.*,1994).

O quadro clínico da HPS é caracterizado pela presença de pródromos inespecíficos de febre, mialgias (sendo na região das coxas a queixa mais freqüente), calafrios, conjuntivite, cefaléia e sintomas gastrointestinais (náuseas, vômitos, dor abdominal ou diarreia), que podem durar até sete dias após o período de incubação (neste período os pacientes freqüentemente são inicialmente tratados como quadro gripal ou gastroenterite aguda). O quadro é seguido de tosse não produtiva, que progride em 48 horas para insuficiência respiratória aguda, com ausculta pulmonar que varia de estertores difusos a crepitanes basais, hipotensão e choque por edema pulmonar não cardiogênico. Há conseqüente comprometimento hemodinâmico, que usualmente requer suporte respiratório e tratamento intensivo (CDC, 1993j; LEVY H. & SIMPSON S.Q.,1994; DUCHIN J.S. *et al.*,1994; SIMPSON S.Q. & HALLIN G.W.,1994; MOOLENAAR R.L. *et al.*,1995; KHAN A.S., KSIAZEK T.G., PETERS C.J.,1996a; HALLIN G.W. *et al.*,1996). O comprometimento cardiopulmonar varia de moderada hipoxemia com hemodinâmica estável à falha respiratória com choque, bradicardia e taquicardia ventricular com fibrilação (KHAN A.S., KSIAZEK T.G., PETERS C.J.,1996a). Os casos com hipotensão severa tem pior prognóstico. Os casos graves que sobrevivem mostram edema pulmonar que reverte espontaneamente durante a recuperação. O óbito acontece por edema pulmonar irreversível (DUCHIN J.S. *et al.*,1994). A causa do edema pulmonar não cardiogênico típico na HPS não é conhecida; aparentemente está relacionado à ação direta ação do vírus sobre o

endotélio pulmonar, porém na microscopia eletrônica só são achadas células endoteliais volumosas (HALLIN G.W. *et al.*,1996). A letalidade de 60% a 86% dos acometidos acontece frequentemente no segundo dia da internação ocasionado por insuficiência respiratória aguda e parada cardíaca (SIMPSON S.Q. & HALLIN G.W.,1994; ZAKI S.R. *et al.*,1995).

No primeiro ou segundo dia do início do quadro há sinais de infiltrado lobar unilateral na radiografia de tórax podendo ser ainda questionada a suspeita de HPS (MOOLENAAR R.L. *et al.*,1995). Este padrão de infiltrado intersticial bilateral é frequente entre os acometidos no quarto dia de doença e evolui rapidamente comprometendo os quatro quadrantes pulmonares (LEVY H, & SIMPSON S.Q.,1994; KETAI L.H. *et al.*,1994).

Abundante secreção pulmonar cor âmbar, não purulenta é característica desta síndrome. Em alguns casos há estrias de sangue no aspirado dos pacientes entubados, com alto conteúdo de proteína sem células. O derrame pleural que varia de pequeno a grande volume pode ser extenso ocupando totalmente ambos os campos pulmonares. Este derrame observa-se no momento da internação ou se desenvolve dentro das primeiras seis horas da admissão (LEVY H. & SIMPSON S.Q.,1994; DUCHIN J.S. *et al.*,1994; KHAN A.S., KSIAZEK T.G., PETERS C.J.,1996a; HALLIN G.W. *et al.*,1996).

Outros achados radiológicos precoces são os sinais de edema pulmonar ocasionados por aumento da permeabilidade vascular e imagens bilaterais de linhas de Kerlyn (KHAN A.S., KSIAZEK T.G., PETERS C.J.,1996a). Infiltrados no parênquima pulmonar são observados em muitos pacientes, sem imagem radiológica de alteração da área cardíaca (LEVY H, & SIMPSON S.Q., 1994).

Em casos severos, a síndrome resulta em hipotensão irreversível, choque e óbito, o qual acontece indiferente da oxigenoterapia (KHAN A.S.; KSIAZEK T.G., PETERS C.J.,1996a). Nos pacientes que se recuperam, observa-se melhora da função cardíaca; com ecocardiograma mostrando frações de ejeção de ventrículo esquerdo normais, porém, nos que falecem, verifica-se até 90% da fração de ejeção comprometida. Alguns casos atípicos (KHAN A.S., KSIAZEK T.G., PETERS C.J.,1996a; HALLIN G.W. *et al.*,1996) e casos brandos com pródromos de febre, mialgia, taquicardia, falta de ar ou hipotensão e com

evidência sorológica de infecção aguda são descritos (SIMONSEN L. *et al.*,1994). Da mesma forma, casos agudos, sem infiltrado intersticial são também relatados (KHAN A.S., KSIAZEK T.G., PETERS C.J.,1996a).

O comprometimento renal, observado na HFRS, nesta forma clínica de hantavirose é raro (KHAN A.S. *et al.* 1996b). Relatos recentes de casos chilenos de HPS, falam de insuficiência renal aguda entre os acometidos (TORO J. *et al.*,1998). Quando há recuperação, esta transcorre tão rápida como seu início e sem seqüelas (HALLIN G.W. *et al.*,1996).

O hantavírus *Sin nombre* é especialmente agressivo e de alta letalidade, com clínica basicamente pulmonar ocasionando insuficiência respiratória rapidamente progressiva (STONE R.,1993b; CDC,1994a; CDC,1996a). Observou-se que o vírus *Sin nombre* tem semelhança genética com o vírus *Prospect Hill* e atinge indivíduos previamente saudáveis, de ambos os sexos, diferentes dos outros do seu gênero, os quais atingem preferencialmente o sexo masculino entre os 20 e 50 anos (CDC,1993a; CDC,1993e; PROCHODA K. *et al.*,1993; CDC,1994a; DUCHIN J.S. *et al.* ,1994; WENZEL R.P.,1994).

Relatos de casos relacionados ao hantavírus *Puumala* com quadro clínico de comprometimento pulmonar e sem absoluto comprometimento renal, (não usual com este hantavírus), foram descritos na região sudoeste dos EUA (HJELLE B. *et al.*,1994).

O hantavírus *Bayou*, por sua vez, reconhecido no estado de Louisiana (EUA), como novo hantavírus, geneticamente diferente de *Sin Nombre* e *Black Creek Canal* e outros já descritos (MORZUNOV S.P. *et al.*,1995; CDC,1996a), apresenta clínica relacionada a HPS, mas com comportamento diferente do *Sin Nombre*. Os doentes além de apresentarem sintomas respiratórios, cursam com insuficiência renal grave com presença de proteinúria, oligúria, hipoalbuminemia, alterações de consciência e hipotensão necessitando cuidados intensivos. Apresentam ainda, desenvolvimento de coagulação intravascular disseminada com hemorragias intra-alveolares, compatíveis com a forma de hantavirose européia (HFRS). Os achados de elevação das enzimas pancreáticas, antes não relatadas, são características (KHAN A.S. *et al.*,1995b; SCHMALJOHN C & HJELLE B.,1997).

O hantavírus *Andes* recentemente descrito, apresenta clínica atípica para “*Sin Nombre*”, com pouca tosse o que o diferencia dos casos norte-americanos, além de outras semelhanças com o vírus *Hantaan* como edema de rosto e do pescoço e grande congestão conjuntival (WELLS, R.M. *et al.*, 1997).

Toda doença febril ( $\geq 38^{\circ}\text{C}$ ) em indivíduo previamente sadio, caracterizado pelo desenvolvimento inexplicável de síndrome de insuficiência respiratória aguda ou, infiltrado pulmonar intersticial, durante os primeiros dias de doença, com comprometimento respiratório que necessite oxigenoterapia é definido pelo CDC como caso suspeito de HPS. São também assim considerados os indivíduos que apresentem doença respiratória inexplicável com óbito e achados anatomopatológicos mostrando edema pulmonar não-cardiogênico sem causa específica identificável do óbito (KHAN A.S. *et al.*, 1996b; CDC 1993g).

Finalmente, o CDC define como caso confirmado de HPS, todo caso suspeito que apresente sorologia específica para hantavírus (presença de IgM ou IgG), PCR ou imuno-histoquímica dos tecidos de necropsia positivos (CDC 1993g).

### **Indicadores de mortalidade**

O grau e duração do quadro febril, da mesma forma que os níveis de leucócitos foram relacionados como indicadores da gravidade da doença (COSGRIFF T.M., 1991). O aumento dos valores do hematócrito e da desidrogenase láctica, (LDH) e o tempo de tromboplastina parcial aumentado são três achados laboratoriais que podem ser relacionados como indicadores de gravidade. Outros achados, como diminuição dos valores de albumina sérica, prolongamento do tempo de protrombina e diminuição do número de plaquetas são freqüentemente notados (DUCHIN J.S. *et al.*, 1994). Valores elevados de aspartato amino transferase (AST) foram observados nos casos de pior prognóstico (HALLIN G.W. *et al.*, 1996).

A hipotensão é fator de piora na insuficiência renal, enquanto se observa grave compromisso renal acontecendo em pacientes que não desenvolveram hipotensão grave ou choque (PAPADIMITRIOU M., 1995).

Levantou-se suspeita de que valores inferiores de colesterol e aumento dos valores de triglicéridos poderiam ser considerados como indicadores de severidade de doença nas hantavirose (CLEMENT J. *et al.*,1995). Estudos indicam possível relação da elevação da IgE como indicador de doença entre os infectados da forma europeia de HFRS (ALEXEYEV O.A. *et al.*,1994).

Antecedentes epidemiológicos de doenças crônicas (hipotireoidismo e asma entre outras), gravidez, diabetes, anemia falciforme doenças auto-imunes e alergias e desnutrição são assinalados como maiores fatores de risco para infecção por hantavírus (LÄHDERVITA J.,1989; ZEITZ P.S. *et al.*,1995; HALLIN G.W. *et al.*,1996).

Ainda, casos de formas agudas assintomáticas com presença de IgM, e de formas leves são descritos e, até de indivíduos com antígenos IgG anti-hantavirus sem antecedente de qualquer queixa de doença anterior, têm sido relatados (TORRES-MORALES A.E. *et al.*,1997; TORO J. *et al.*,1998; MASCARENHAS-BATISTA V. *et al.*,1998).

## **Laboratório**

### **Laboratório na HFRS**

Os exames hematológicos na fase inicial da doença mostram leucócitos normais ou pouco elevados, porém, do terceiro ao quarto dia, o nível de leucócitos aumenta para valores entre 20.000 a 40.000 cels/mm<sup>3</sup> com desvio até metamielócitos. O hematócrito aumenta precedendo a fase hipotensiva e albuminúria leve é observada precocemente na fase febril (TSAI T.F., 1987a; ESPINOZA R. *et al.*,1998).

Valores de uréia e creatinina elevados com hematúria e hemoglobinúria e diminuição da densidade urinária, são descritos ainda no final da fase febril (PAPADIMITRIOU M., 1995). Observou-se que estes achados coincidem com o aparecimento dos anticorpos anti-*Haantan* sugerindo resposta imune precoce (YOSHIMATSU K. *et al.*,1997).

Valores plaquetários podem apresentar-se discretamente diminuídos, alcançando valores muito baixos durante os primeiros dias de doença (TSAI T.F., 1987a; HALLIN G.W. *et al.*, 1996). Trombocitopenia é mais freqüente entre crianças, porém, é menor a freqüência de hemorragias neste grupo etário (AHLM C. *et al.*, 1994). Na fase hipotensiva a trombocitopenia está relacionada à coagulação intravascular disseminada, associada a múltiplos defeitos dos fatores da coagulação, hipofibrinogenemia e acúmulo de produtos de degradação de fibrina. No final da fase hipotensiva observa-se normalização dos valores de hematócrito, uréia e creatinina (PAPADIMITRIOU M., 1995; ZAKI S.R. *et al.*, 1995).

Na fase oligúrica o quadro é em linhas gerais, do paciente oligúrico com hemoconcentração de uréia e creatinina. Hipercalemia, hiponatremia e hipocalcemia podem aparecer, e ocasionalmente acidose metabólica (TSAI T.F., 1987a).

### **Laboratório na HPS**

Elevação precoce do hematócrito com valores entre 45 e 58% têm sido descritos (DUCHIN J.S. *et al.*, 1994; SIMPSON S.Q. & HALLIN G.W., 1994; MOOLENAAR R.L. *et al.*, 1995; KHAN A.S., KSIAZEK T.G., PETERS C.J., 1996a; ESPINOZA R. *et al.*, 1998). A tríade característica com trombocitopenia, leucocitose com neutrofilia e desvio à esquerda e linfócitos atípicos foi descrita em todos os pacientes (LEVY H. & SIMPSON S.Q., 1994; DUCHIN J.S. *et al.*, 1994; ZAKI S.R. *et al.*, 1995; KHAN A.S.; KSIAZEK T.G., PETERS C.J., 1996a). Isto, em conjunto com marcada elevação da LDH, com moderada elevação da AST e aumento dos tempos de protrombina e de tromboplastina parcial, são relatados como fortes marcadores diagnósticos indiretos (SIMPSON S.Q. & HALLIN G.W., 1994; DUCHIN J.S. *et al.*, 1994; MOOLENAAR R.L. *et al.*, 1995). O aumento na concentração de nitrogênio urinário e elevação dos valores da creatinina sérica com diminuição dos valores de albumina, também, já foi relatado entre os doentes (DUCHIN J.S. *et al.*, 1994; MOOLENAAR R.L. *et al.*, 1995). O exame de urina pode mostrar hematúria leve (DUCHIN J.S. *et al.*, 1994).

São descritas alterações laboratoriais comuns à HFRS e à HPS como: leucocitose com aumento de mielócitos, linfocitose atípica, hemoconcentração, plaquetopenia, diminuição da proteína sérica, e proteinúria, assim como elevação de desidrogenase láctica e aminotransferases. A elevação da DHL indica lise celular inespecífica, porém, a elevação do hematócrito e aumento do tempo parcial de tromboplastina podem ser mais diretamente relacionados com a própria fisiopatologia da hantavirose (DUCHIN J.S. *et al.*,1994).

Estudos de Moolenaar *et al.* (1995) analisaram pacientes acometidos por HPS visando diferenciá-la do quadro de SARA e encontraram exames laboratoriais apresentando plaquetopenia, hematócrito elevado e níveis de bicarbonato sérico diminuído em 80% dos casos (MOOLENAAR R.L. *et al.*,1995). Na infecção pelo hantavírus *Bayou* são descritas elevação de enzimas pancreáticas e exames laboratoriais compatíveis com insuficiência renal (SCHMALJOHN C.S. & HJELLE B.,1997).

### **Diagnóstico diferencial**

O diagnóstico diferencial deverá ser feito nas fases precoces da doença com outras febres virais, pois os sintomas desta fase lembram um quadro gripal. Infecção renal, dores lombares e costovertebrais, acompanhados de congestão conjuntival e irritação meníngea podem sugerir leptospirose (TSAI T.F.,1987a; DAVIES E.A. *et al.*,1988; PAPADIMITRIOU M.,1995). Com o evoluir da doença pode aparecer oligúria e simular pielonefrite aguda. O quadro de hipotensão pode também sugerir sépsis. É característico da HFRS que a fase hipotensiva apareça logo após da defervescência da febre.

A ocorrência de insuficiência renal, com quadro agudo de febre pode sugerir leptospirose, infecção estreptocócica, toxoplasmose ou até outras doenças virais como caxumba e mononucleose infecciosa (TSAI T.F.,1987a; DAVIES E.A. *et al.*,1988). Também na fase inicial devem ser consideradas as pneumonias atípicas (por *Mycoplasma*, *P.carinni*) e as mais raramente adquiridas como: Rickettsioses, Tularemia, Legioneloses, Meningococemias, ou outras febres hemorrágicas virais (DUCHIN J.S. *et al.*,1994; AUWAERTER P.G. *et al.*,1996). Outras doenças ainda podem ser incluídas no diagnóstico diferencial como a febre do dengue, as hepatites, a insuficiência renal aguda induzida por



drogas anti-inflamatórias não esteróides (PAPADIMITRIOU M.,1995) e o envenenamento por agrotóxicos (LEE H.W.,1989; SIMPSON S.Q. & HALLEN G.W., 1994; DUCHIN J.S. *et al.*,1994).

#### 1.4.8. Diagnóstico laboratorial específico

O diagnóstico específico deverá ser feito pelo quadro clínico, associado a uma boa história epidemiológica, pesquisando antecedentes de exposição á roedores ou outros animais, pesquisando a ocorrência de outros casos semelhantes no âmbito familiar ou vizinhança, viagens e estada em áreas endêmicas (LEE H.W., 1989; SINNOTT IV J.T. *et al.*,1993; CDC,1993k; CDC,1994e).

O diagnóstico etiológico de hantavirose baseia-se em diversos testes laboratoriais, como a imunofluorescência indireta (IFI) descrita por Kitamura *et al.* (1983), a inibição da hemaglutinação (HI), a hemaglutinação por imune-aderência (IAHA) descrito por Ito e Tagaya (1966), a técnica de ELISA (MEEGAN J.M. & LeDUC J.W.,1988; HARLOW E. & LANE D.,1988; ZOELLER L. *et al.*,1993; PAPADIMITRIOU M.,1995) e pelo teste de reação em cadeia da polimerase (PCR) descrito por Nichol *et al.* (1993) (CHU Y-K. *et al.*,1994; ROLLIN P.E. *et al.*,1995a).

A técnica de imunofluorescência indireta utilizada para medir os níveis de títulos de anticorpos IgG em soros pareados (SINNOTT IV J.T. *et al.*,1993) é o mais usado para estudos soro epidemiológicos da infecção e é utilizada para a detecção de IgM no diagnóstico precoce (PAPADIMITRIOU M.,1995).

Títulos de anticorpos IgM podem também ser detectados pela técnica de ELISA, sendo este método mais sensível que o teste de imunofluorescência porém, ambas técnicas são simples e rápidas para o diagnóstico de hantavirose (LEE H.W.,1989; SINNOTT IV J.T. *et al.*,1993). A concordância entre resultados realizados pelas técnicas de IFI e ELISA indicam relação entre as espécies virais. Assim o hantavírus *Hantaan* demonstra maior relação com o vírus *Seoul*, enquanto que o hantavírus *Prospect Hill* relaciona-se mais com o vírus *Sin Nombre* (ROLLIN P.E. *et al.*,1995a).

A técnica de IAHA tem sido utilizada em estudos soro-epidemiológicos, comportando-se com eficiência semelhante à IFI, detectando antígenos virais, possíveis diferenças antigênicas entre sorotipos virais e apresenta maior facilidade para realizar-se titulações em grandes números de soros, porém, a IFI amostra maior sensibilidade (SUGIYAMA K. *et al.*,1984).

A HI se mostra com sensibilidade e especificidade semelhante a IFI, com a vantagem de não ser necessário o uso de microscópio de fluorescência para sua leitura ( TSAI T.F. *et al.*,1984).

A técnica de neutralização por redução em placa (PRN) em células Vero E6 é utilizada para identificação de sorotipos virais quando estes são conhecidos. Trata-se de método tipo específico, porém caro e demorado e não pode ser usado para a rotina diagnóstica (LEE P-W. *et al.*,1985b; LEE H.W.,1989; CHU Y-K. *et al.*,1995).

A PCR, amplifica segmentos do genoma viral, e reconhece semelhança dos sorotipos esclarecendo as relações virais entre o reservatório e o paciente. É o método mais sensível porém de menos acessibilidade (LEE P-W. *et al.*,1985b; SINNOTT IV J.T. *et al.*,1993; CDC,1993k).

O teste de inibição da hemaglutinação (HI) é método que diferencia espécies mediante detecção de diferenças antigênicas virais, porém, não é tão rápido e sensível quanto o ELISA. O fato de apresentar algum perigo durante a manipulação e preparo do antígeno, tem feito que com seu uso não seja tão freqüente e seja preferido o uso da IFI para diagnóstico de infecção (OKUNO Y. *et al.*,1986).

O curso da doença pode ser acompanhado com a sorologia, através da elevação dos títulos de anticorpos na IFI, nas amostras de sangue coletadas com intervalos de uma semana. Anticorpos neutralizantes aparecem durante a primeira semana dos sintomas e alcança o pico maior durante o final da segunda semana, podendo persistir até 34 anos ou mais. Anticorpos virais específicos podem ser detectados mesmo entre pacientes com doença leve ou sub-clínica (LEE H.W.; LEE P.W., JOHNSON K.M., 1978; LEE H.W.,1989; COSGRIFF T.M.,1991; TORO J. *et al.*,1998). Títulos IgG podem persistir no ELISA, PRN E IFI por muitos anos após doença (LEE H.W.,1989; COSGRIFF T.M.,1991).

Os hantavírus não são facilmente isolados, e demonstraram crescimento difícil nas culturas celulares (SINNOTT IV J.T. *et al.*,1993). Kits de aglutinação de partículas de alta densidade muito simples e rápidos, estão sendo desenvolvidos, assim como técnicas pelo método de Western Blot que ainda não comercializados (PAPADIMITRIOU M.,1995).

#### **1.4.9. Controle e profilaxia**

A eliminação de roedores dos ambientes do homem é a base da prevenção. Medidas específicas para redução do risco de transmissão inclui a prevenção da entrada de roedores nos edifícios e casas, removendo-se restos de alimentos e outros potenciais focos de atração dos roedores (CDC,1993a; WELLS R.M. *et al.*,1997). Deve-se evitar o contato direto com roedores e seus ninhos. Barreiras de proteção em casas e armazéns de alimentos e grãos devem ser criados para evitar a entrada de roedores (CDC, 1993a).

Limpeza em áreas infestadas deve ser realizada após ventilação e desinfecção realizadas com proteção e grande precaução. Co-habitação em locais fechados e abertos com roedores infectados, deve ser evitada, tanto entre o pessoal que mora em áreas rurais como entre aqueles que visitam de forma esporádica ou recreacional estas áreas (CDC,1993a; CDC,1994b; ZEITZ P.S. *et al.*,1995; WELLS R.M. *et al.*,1997).

Nas áreas de risco, torna-se necessário evitar as sobras de alimentos ou fazê-la em lugares hermeticamente fechados; lavar os pratos e utensílios imediatamente após o uso; manter os lugares de entulho limpos e em ordem; fechar quaisquer pontos de entrada da casa com cimento; levantar barreiras altas de tijolos ou cimento ao redor das casa e depósitos de grãos; armazenar grãos e alimentos em recipientes metálicos e totalmente fechados; não deixar pratos de alimento para os animais domésticos, expostos ao ar livre; evitar habitar perto de depósitos de entulhos, carros abandonados e outros que possam servir de ninhos para roedores. Eliminar roedores só com pessoal especializado e manter medidas de proteção universal como colocar desinfetante na carcaça do animal. Uma vez colocado no depósito, fechá-lo totalmente, e depois disso deve-se enterrá-lo em lugar profundo longe da casa-habitação e comunicar aos serviços de saúde mais próximos (CDC, 1993a).

Os hantavírus são sensíveis a desinfetantes (hipoclorito, detergentes e desinfetantes domésticos comuns), álcool etílico a 70%, desoxicolato, éter e clorofórmio. O tempo de sobrevivência do vírus fora do reservatório não é descrito (McKEE K.T., LeDUC J.W., PETERS C.J.,1991; CDC,1993a). Mantém infectividade estável em pH 7.0 a 9.0, mas é inativado em pH 5.0. A infectividade é rapidamente perdida a 37°C. Cerca de 90% da infectividade das partículas são perdidas por aquecimento à 56°C por 30 minutos. Suspensões virais podem ser estocadas a -60°C em solução salina isotônica, com 1% de albumina bovina por mais de 5 anos (CDC, 1993a).

Manipulação de roedores e de amostras obtidas dos infectados, assim como do material anatomopatológico e na passagem nas linhas celulares deverão ser realizadas com medidas de proteção (OMS, 1982; CDC, 1994e; YNTERLIAN C.G.,1995). Animais de laboratório deverão ser isolados em ambientes protegidos da contaminação com outros roedores, e, as colônias deverão ser testadas regularmente para constatar qualquer infecção (OMS, 1982; CDC,1994e).

Variações regionais do quadro clínico e observações das diferentes expressões clínicas nas diferentes raças, grupos étnicos e faixa etária, bem como diferenças quanto a forma de exposição, tipo de contaminação e persistência viral no reservatório, deverão ser observadas em estudos posteriores, visando melhor conhecimento do comportamento destes vírus (CDC,1993e; BEIGUELMAN B.,1994; CDC,1994a).

Os padrões nesta doença dependem do tipo viral, espécie do roedor reservatório, meio ambiente e de comportamentos humanos (CDC,1993a; BERKELMAN R.L.,1994; WELLS R.M. *et al.*,1997). Como os dados epidemiológicos da doença variam de país à país e de região à região e dependem de uma variedade de fatores há necessidade de um enfoque multidisciplinar envolvendo clínicos, epidemiologistas, zoologistas e pessoal de laboratórios para o combate desta doença (YANAGIHARA R. *et al.*,1985, CDC,1993a; WELLS R.M. *et al.*,1997).

#### 1.4.10. Hantavírus no Brasil

Foi realizado um amplo inquérito sorológico através do mundo, conduzido por Le Duc entre 1981 e 1983.(LeDUC J.W. *et al.*,1985). Em roedores peridomésticos, evidenciou-se a presença de anticorpos anti-*Hantaan* na área urbana de Belém, São Paulo, Recife-Olinda e na cidade Buenos Aires em, respectivamente, 56%, 14%, 6% e 11% dos roedores examinados (LeDUC J.W. *et al.*,1985; OMS,1985b; IVERSSON L.B.,1983; IVERSSON L.B. *et al.*,1994). Inquéritos sorológicos posteriores realizados por LeDUC *et al.*, com roedores da área urbana de Belém notaram 55%(22/50) de soropositividade para o vírus *Hantaan* pelo método de Imunofluorescência Indireta (IFI) (OMS,1983; IVERSSON L.B.,1983). Foi detectada também a presença de anticorpos anti-hantavírus no soro de um roedor de Pernambuco (OMS,1983). Um vírus antigenicamente relacionado ao hantavírus *Girard Point*, vírus diferente do protótipo *Hantaan*, isolado de ratos domésticos capturados nos EUA, foi isolado de roedores (*Rattus norvegicus*), capturados na cidade de Belém. Este se constituiu no primeiro vírus do gênero Hantavirus isolado na América do Sul, baseado em observações prévias que indicavam a ampla distribuição dos hantavírus entre roedores urbanos (LeDUC J.W. *et al.*,1985; IVERSSON L.B. *et al.*,1994).

Em 1981, no Pará, Travassos da Rosa em comunicação pessoal (*apud* IVERSSON L.B.,1983), relata a primeira observação no Brasil sobre o vírus *Hantaan* em humanos, quando foram testados soros de 500 pessoas residentes em áreas onde ocorreu a doença sistêmica atribuída ao bunyavírus *Oropouche*. Os soros foram testados pela técnica de IFI para o vírus *Hantaan* e *Oropouche* onde foram observados 35(7%) soros com reação monotípica para o vírus *Hantaan* (IVERSSON L.B.,1983; OMS,1983; IVERSSON L.B. *et al.*, 1994).

Em 1986, continuando as investigações de 1981-83, LeDuc e pesquisadores do Instituto Evandro Chagas e da Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo fizeram estudos soro-epidemiológicos em Belém, Manaus, São Paulo e Olinda. O estudo foi dirigido a grupos populacionais com risco maior de contacto com roedores, e em grupo de contactantes de casos com suspeita de febre hemorrágica em Manaus, assim como em pacientes internados com suspeita de leptospirose no Hospital Emílio Ribas de São Paulo (IVERSSON L.B. *et al.*,1994). Observou-se nesse estudo que, no estado de São Paulo,

8/409(1,9%) pacientes do Hospital Emílio Ribas com suspeita de leptospirose, eram positivos para hantavírus Hantaan e Puumala pela técnica de ELISA Ig G (IVERSSON L.B. *et al.*,1994). Na mesma investigação, em moradores de área rural e florestal do Vale de Ribeira e da Ilha de Amparo, São Paulo, encontraram-se 16(12,4%) indivíduos com a presença de anticorpos anti-hantavírus (IVERSSON L.B. *et al.*,1994). Em 190 portuários de Paranaguá-Paraná 8(4,2%) foram IgG positivos para os hantavírus *Hantaan* e *Puumala* por ELISA (IVERSSON L.B. *et al.*,1994). Os soros positivos foram testados pela técnica de neutralização, resultando três dos soros coletados no Vale do Ribeira e dois do Hospital Emílio Ribas positivos para os hantavírus *Seoul*, *Hantaan* e *Puumala* (IVERSSON L.B. *et al.*,1994). Este trabalho iniciado em fevereiro de 1986 e os resultados globais das investigações conduzidas nos EUA, Argentina e Brasil foram apresentados por LeDuc no *II International Symposium on Tropical Arboviruses and Haemorrhagic Fevers*, realizado em Belém, Pará, em novembro de 1991 (OMS,1992b; IVERSSON L.B. *et al.*,1994).

Continuando as pesquisas iniciadas por LeDuc em 1986-1990, foi realizada investigação posterior em 297 soros de portuários de Paranaguá-Paraná, nos que foram detectados 5,1% de positividade para anticorpos IgG anti-hantavírus *Hantaan* e/ou *Puumala* pelo método de ELISA (IVERSSON L.B. *et al.*,1995b).

Em estudo realizado em 1990 na região de Jujutiba, município do Estado de São Paulo, em 60 soros coletados para um estudo sobre malária, foram encontrados anticorpos anti-hantavírus em 18(30%), com fração IgG, pelo método de ELISA (IVERSSON L.B., BRANQUINHO M.S., ROSA M.D.B.,1995a).

Posteriormente, em 1993, foram relatados três casos de doença respiratória por hantavírus na mesma região paulista. Os soros destes pacientes foram testados pelo método de ELISA para hantavírus *Hantaan* IgG e IgM; assim como também foram testados seus 49 comunicantes (entre 5 meses a 65 anos de idade) nos quais se detectaram 4(8,1%) indivíduos com anticorpos anti-hantavírus *Hantaan* pelo ELISA IgG ou IgM; 2(4%) tinham anticorpos anti-IgG positivos para o hantavírus *Sin Nombre* (IVERSSON L.B., BRANQUINHO M.S., ROSA M.D.B.,1995a).

Estudos realizados em 1990, na área da estação ecológica de Juréia-Itatins, do Vale do Ribeira, São Paulo, em 181 soros de moradores que foram testados por IFI anti-*Hantaan* IgG, encontraram 3(1,7%) indivíduos soropositivos, posteriormente confirmados por ELISA anti-*Hantaan* (ROMANO-LIEBER N. *et al.*, 1995a,b).

Inquérito sorológico foi realizado em 1991, entre familiares e vizinhos de indivíduos falecidos em Manaus-Amazonas por suspeita de febre hemorrágica. Foram coletados 84 soros e testados para febre amarela; hepatites B e delta, assim como, para leptospirose, que resultaram negativos. Os testes realizados para pesquisa de *Hantaan*, por IFI, resultaram positivos em 38(45,2%) que foram confirmados posteriormente pelo método de ELISA para hantavírus *Hantaan* e *Puumala*. Nestes seis soros foi confirmada a positividade (quatro para o hantavírus *Hantaan* e dois para o hantavírus *Puumala*) (VASCONCELOS P.F.C. *et al.*, 1992). Continuando as investigações, com testes de IFI para *Hantaan*, em 48 amostras controles de doadores de sangue da cidade de Manaus e 48 soros procedentes de Tucuruí-Pará encontraram-se resultados positivos em 26(54,3%) e 5(10,4%) respectivamente (VASCONCELOS P.F.C. *et al.*, 1992).

Outro estudo, realizado na cidade de Salvador-Bahia em 1993, objetivou pesquisar a frequência de anticorpos anti-hantavírus em 119 pacientes internados no Hospital Couto Maia (Referência de Doenças Infecciosas e Parasitárias). Estas amostras foram testadas pelos métodos de ELISA e IFI. Dos 119 soros examinados 37(31,1%) resultaram positivos para hantavírus pelos métodos de ELISA e IFI IgG, ou ambos. Apenas 3(8,1%) pacientes, entre os soropositivos, tinham 50 ou mais anos de idade e 6(16,2%) eram crianças com idade  $\leq 10$  anos (TRAVASSOS DA ROSA E.S. *et al.*, 1995).

Na cidade de Belém-Pará, foram testadas amostras sanguíneas de 17 pacientes internados entre abril e agosto de 1995, por suspeita de leptospirose. Nestas, realizou-se a pesquisa para anti-hantavírus *Hantaan* por IFI e também a reação de soro-aglutinação para leptospira, resultando 7(41,1%) soros IFI IgM positivos e IgG negativos para hantavírus *Hantaan*. Posteriormente, em segunda amostra sanguínea, colhida em apenas dois deles, verificou-se soroconversão com IgG positiva pela IFI anti-hantavírus, e, também neles constatou-se sorologia positiva para leptospirose. O curso clínico de ambos pacientes foi grave, porém sem óbito. Comprovou-se assim a dupla infecção de hantavírus e leptospira neste estudo (CRESCENTE J.A.B. *et al.*, 1996).

Também em Belém-Pará foi feita a revisão de prontuários e exame de soros de 83 pacientes internados entre janeiro de 1993 a setembro de 1995, com suspeita diagnóstica de leptospirose, no Hospital Universitário João de Barros Barreto. Os soros foram testados pelos métodos de ELISA para hantavírus *Hantaan*, *Puumala*, *Seoul* e *Dobrava*, resultando 4(4,8%) IgG positivos e 2(2,4%) IgM positivos para o vírus *Hantaan*. Os quatro casos ELISA IgG positivos apresentaram sorologia negativa para leptospirose (MEDEIROS R. *et al.*,1996).

Em Recife-Pernambuco, Tenório *et al.*(1996), relataram dois casos de doentes internados, nos quais foram encontradas sorologias positivas para hantavírus *Hantaan* pelos métodos de ELISA IgM e IFI para hantavírus *Puumala*. Ambos os pacientes relatados, tiveram evolução favorável e alta hospitalar (TENÓRIO J. *et al.*,1996).

Estudo realizado em 1995 entre crianças assintomáticas de 5 a 17 anos de idade, provenientes de escolas da periferia da cidade de Salvador-Bahia, demonstrou sorologicamente a ocorrência de infecção subclínica precoce por hantavírus nesta população (MASCARENHAS-BATISTA A.V. *et al.*,1998)

No Brasil, todavia, há a necessidade de se conhecer melhor o perfil da hantavirose na população geral, em especial seu comportamento nos indivíduos expostos a risco de infecção e estudar-se associações com outras doenças e variáveis biológicas, demográficas, sócio-econômicas e ecológicas.

O nosso estudo busca conhecer e relacionar as investigações epidemiológicas e a apresentação clínica das hantavirose na cidade de Salvador-Bahia, visando esclarecer suas interações com outras doenças e com a saúde pública daquela região.



## ***2. OBJETIVOS***

Este estudo tem por objetivos:

1. Estimar a frequência da infecção por Hantavirus na população de indivíduos adultos da cidade de Salvador (BA);
2. Correlacionar a soropositividade com as variáveis epidemiológicas e clínicas pesquisadas.

### ***3. CASUÍSTICA E MÉTODOS***

### **3.1. POPULAÇÃO**

#### **3.1.1. População de referência**

Indivíduos adultos do sexo masculino, residentes na cidade do Salvador -Bahia.

#### **3.1.2. População do estudo**

A. funcionários da limpeza pública (garis), vinculados à Empresa de Limpeza Urbana do Salvador (LIMPURB);

B. doadores de sangue da Fundação de Hematologia e Hemoterapia da Bahia (HEMOBA).

### **3.2. INQUÉRITO SOROEPIDEMIOLÓGICO**

#### **3.2.1. Planejamento e modelo do estudo**

##### **Das populações de estudo**

A. Na LIMPURB após conversações prévias ao início do estudo, foi apresentado o projeto de investigação. Posteriormente, a LIMPURB encaminhou consentimento formal para a realização do trabalho. Na época do estudo 13 de março à 19 de maio de 1995, a LIMPURB tinha 3400 garis ativos, além de pessoal administrativo e de apoio às ações da empresa.

Foi realizada entrevista e coleta de amostra de sangue de 255(51.4%) garis do sexo masculino trabalhadores da empresa. Das 46 entrevistas realizadas no serviço de atendimento médico e 209 na região administrativa “Gerência X”, localizada em bairro da periferia de Salvador.

B. No HEMOBA, após os primeiros contatos com a diretoria, a estratégia do estudo foi planejada, sem interferência no fluxo de atendimento de rotina dos doadores de sangue. O HEMOBA recebe, aproximadamente 47 mil doadores de sangue voluntários não remunerados por ano (156 doadores por dia), encaminhados dos diferentes hospitais, públicos e privados, da cidade do Salvador. De 31 de maio à 15 de julho de 1995, época do estudo, o HEMOBA teve 5930 doadores, sendo 84,7% (n=5028) do sexo masculino (Santana A./HEMOBA, informação pessoal, 1997).

Foram realizadas entrevista e coleta de amostra de sangue de 241(48.6%) doadores de sangue do sexo masculino.

Nos 496 indivíduos amostrados de ambos os grupos era realizada entrevista padronizada após explicação do caráter da pesquisa, orientação em relação a hantavirose e sua prevenção, mediante consentimento informado e anuência em participar. A seguir era colhida uma amostra de sangue. No caso dos doadores de sangue era aproveitada uma amostra coletada durante a doação.

### **Do n amostral**

O cálculo do número(n) amostral mínimo, foi baseado no estudo preliminar de TRAVASSOS DA ROSA *et al.* em 1995, realizado em soros de 119 pacientes internados no Hospital Couto Maia -hospital de referência de doenças infecciosas e parasitárias- da cidade do Salvador, da Secretaria de Saúde do Estado da Bahia. Neste estudo foi achado 31,1% de soro-positivos para IgG antihantavírus *Hantaan-KHF* (protótipo) pelos métodos de Imunofluorescência Indireta (IFI) e Enzyme Linked Immuno Sorbent Assays (ELISA). Desta forma, o n amostral mínimo foi calculado em 323 indivíduos, considerando o valor de  $p=0,30$ ,  $d=5\%$ ,  $N=2.304.234$  habitantes (população de Salvador em 1995, segundo IBGE) e com  $Z\alpha=1,96$  através do teste de Cochran W.G. (1953) (COCHRAN W.G., 1953; TAVARES-NETO J.,1992).

### **Modelo do estudo**

Estudo transversal (Seccional ou de Prevalência).

### **Hipoteses**

$H_0$ : A frequência de indivíduos expostos a roedores com anticorpos anti-Hantaan = A frequência de indivíduos não-expostos a roedores com anticorpos anti-Hantavírus.

$H_1$ : A frequência de indivíduos expostos a roedores com anticorpos anti-Hantaan  $\neq$  A frequência de indivíduos não-expostos a roedores com anticorpos anti-Hantavírus.

### **Critérios de inclusão**

- a. garis do sexo masculino, com idades entre 18 a 65 anos, em contacto direto com a coleta ou destino do lixo urbano;
- b. doadores de sangue sem história ocupacional de trabalho em serviços de limpeza urbana, em locais de armazenamento de cereais ou com outras atividades de risco para a exposição a roedores do gênero *Rattus sp.*

### **Critérios de exclusão**

- a. garis do sexo feminino;
- b. garis em atividades administrativas, licenciados e/ou aposentados;
- c. doadores de sangue sem história ocupacional precisa ou com história de exposição a roedores.
- d. indivíduos menores de 18 ou maiores de 65 anos de idade;
- e. indivíduos não residentes em Salvador.

### **Questionário - padrão**

O questionário padronizado (Anexo 1) foi elaborado com base nas características demográficas, inclusive as preditivas do nível sócio-econômico. As variáveis-respostas, incluídas no questionário foram as associadas ao contacto direto e indireto com roedores (*Rattus sp.*), bem como, às relativas a antecedentes patológicos do indivíduo associados a hantavirose e leptospirose.

O questionário-padrão, antes de ser aplicado, foi testado em 36 visitantes de pacientes do sexo masculino do Hospital Couto Maia, visando esclarecer as dificuldades de interpretação do entrevistador ou entrevistado; o tempo médio de duração da entrevista; e treinamento do entrevistador sobre os termos populares da região. O tempo médio de preenchimento do questionário foi estimado em 15 minutos.

### **Coleta das amostras sanguíneas**

Observado os critérios de inclusão e exclusão o questionário padrão era preenchido, exclusivamente, pela autora. Em seguida, de cada indivíduo, era coletado 10 (dez) ml de sangue, com "vacutainer" sem anti-coagulante.

Após retração do coágulo, as amostras foram centrifugadas (2500 rpm/10minutos) e os soros separados e colocados em microtubos "ependorff" de 1,5 ml, distribuídos em três alíquotas, que foram armazenadas em "freezers" à -20°C.

Todos os soros foram testados no Instituto Evandro Chagas (IEC)/ Fundação Nacional de Saúde (FNS), pela Autora, sob a supervisão das Dras. Elisabeth S. Travassos da Rosa e Amélia P. A. Travassos da Rosa.

## **3.3. PROCEDIMENTOS LABORATORIAIS**

### **3.3.1. Imunofluorescência Indireta (IFI)**

#### **SOLUÇÕES UTILIZADAS**

##### **A. Solução PBS (Phosphate Buffered Saline) pH 7,4**

NaCl (Cloreto de Sódio cristal PA-ACS-ISO-MERCK®).....48,0gr

KCl (Cloreto de Potássio PA-ACS-REAGEN®PM:74,56 .....1,2gr

KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>(Fosfato de Potássio.Monobásico primário FISHER SCIENT.CO.®..1,2gr

Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>.12H<sub>2</sub>O(Fosfato dissódico 12 Hidrato,MERCK®).....17,4gr

A solução foi preparada em quantidade suficiente para seis litros de água bidestilada, extraída de aparelho de filtro "Mili Q".

B. Glicerina Tamponada pH 8,0

Glicerina neutra.....9volumes.

PBS pH 8,0.....1volume.

### **MATERIAL BIOLÓGICO UTILIZADO**

A. Lâminas para IFI com células VERO (VERO P28) com Vírus Hantaan (KHF TC-57-81; A-549 P15) VERO P-2, LOT 99 21/01/86, infectadas com hantavírus *Hantaan* (KHF) protótipo, em lâminas para IFI. Fixadas com acetona. THE SALK INSTITUTE. Swifwater, USA.

B. Soro controle-positivo para IgG-*Hantaan* (KHF), fornecido pelo USAMRID (Howard Alston).

C. Soro controle-negativo para IgG-*Hantaan* KHF, soro conhecido de investigação anterior realizada no IEC (1996) para hantavírus (soro 240).

D. Conjugado Fluoline G.(BIOLAB®). Globulina Anti-IgG humana marcada com isotiocianato de fluoresceína (“Fluorescein labelled anti-human IgG globulin”.)

### **MATERIAIS NÃO-BIOLÓGICOS**

a. Pipeta com dispensador único, 5-50ul (BOECO®-Germany).

b. Pipeta com dispensador múltiplo, 5-200ul (ORGANON-TEKNIKA®).

c. Ponteiros das respectivas pipetas.

d. Lamínulas para microscópio Microscope COVER GLASS 24 x 60mm (CHASE®).

e. Microscópio de fluorescência (ZEISS AXIOPHOT®).

f. Placas de microtitulação de poliestireno.



## TÉCNICA DA IMUNOFLUORESCÊNCIA (IFI)

(LEE P.W.,1989, e segundo recomendações de Dr. J.LeDuc baseadas em estudos de Lee & Lee).

- a. Diluir cada soro em PBS (pH 7,4) a 1/32 (5ul. do soro teste em 155ul. de PBS em cada "well" das placas de microtitulação utilizadas somente para diluição);
- b. A seguir, colocar 10 ul da diluição, acima, em cada "spot-slide" das lâminas IFI;
- c. Deixar as lâminas em câmara úmida, e incubar em estufa de 37°C por 30 minutos;
- d. Retirar as lâminas e aspirar de cada "spot-slide" o excesso de líquido (soro-diluído);
- e. Colocar as lâminas no copo de Koplín. Realizar uma lavagem rápida com PBS (pH 7,4) seguida de outra lavagem em PBS (pH 7,4), durante 10 minutos, finalizando com uma outra lavagem rápida com água destilada;
- f. Retirar as lâminas do copo e deixá-las secando no meio ambiente.
- g. Diluir o Conjugado Fluoline (BIOLAB®) em PBS (pH 7,4) na diluição de 1/80;
- h. Colocar 10ul desta diluição em cada "spot-slide" das lâminas IFI, já secas;
- i. Incubar as lâminas em câmara úmida, em estufa de 37°C por 30 minutos;
- j. Retirar as lâminas e proceder conforme a etapas e e f;
- k. Secar as lâminas, e colocar em cada "spot-slide" uma gota da glicerina tamponada pH 8,0;
- l. Cobrir cada lâmina com lamínula, previamente limpa e seca;

- m. Observar no microscópio de epifluorescência; filtro excitador BP 450-490 Divisor cromático FT 510; Filtro barreira; LP 520; Objetiva 40X e Ocular 10X;
- n. Examinar cada “spot-slide”, comparando a intensidade da fluorescência com a observada nos “spots-slides” do soro controle-positivo. A cor considerada como coloração específica é amarela-esverdeada brilhante, sendo uma fluorescência granular intracitoplasmática.

### CRITÉRIOS DE LEITURA

Sem fluorescência (0).....	Negativo
Até 1% de focos fluorescentes.....	Positivo +/-
De >1% á 25% de focos fluorescentes.....	Positivo +
De >25% á 50% de focos fluorescentes.....	Positivo ++
De >50% á 75% de focos fluorescentes.....	Positivo +++
De >75% á 100% de focos fluorescentes.....	Positivo++++

### 3.3.2. ELISA (“Enzyme Linked Immuno Sorbent Assays”)

#### REAGENTES BIOLÓGICOS UTILIZADOS

#### Antígenos e controles para hantavírus “*Sin nombre*” (MCV)

- A. Antígeno Lote N°.SPR293 MCV (Recombinant NC antigen). Division of viral and rickettsial diseases National Center for Infectious Diseases-Atlanta, Georgia USA.

- B. Controle-negativo do Antígeno Lote N°.SPR292. Division of viral and rickettsial diseases National Center for Infectious Diseases-Atlanta, Georgia USA.
- C. Controle-positivo, Plasma humano (Lote 703149). HPS Plasma Convalescente. Division of viral and rickettsial diseases National Center for Infectious Diseases-Atlanta, Georgia USA.

**Antígenos e controles para hantavírus *Seoul* (Protótipo)**

- A. Antígeno SPR 214 *Seoul* (Protótipo), em células VERO E6, lisado celular. Division of viral and rickettsial diseases National Center for Infectious Diseases-Atlanta, Georgia USA.
- B. Controle-negativo do Antígeno SPR 279 Normal E6, lisado celular. Division of viral and rickettsial diseases National Center for Infectious Diseases-Atlanta, Georgia USA.
- C. Soro controle-positivo para IgG-*Hantaan* (KHF), fornecido pelo USAMRID (Howard Alston).

**Reagentes biológicos comuns para ambos os hantavírus**

- Conjugado - Anti-human IgG conjugate- SIGMA (Soro de cabra anti-IgG Humana conjugado a peroxidase).
- Controles-negativos para IgG KHF(Protótipo), soros (051, 240, 242, 259) conhecidos de pesquisa anterior (1996).

**SOLUÇÕES UTILIZADAS**

**SOLUÇÃO PBS (Phosphate Buffered Saline) pH7,4 ver item 3.3.1.**

**SOLUÇÃO PARA LAVAGEM PBS Tween 20 (0,1%)**

- PBS(pH7,4).....2000ml
- Tween 20 (Polyoxyethylene sorbitan monolaurate BIO-RAD® BioRad Laboratories).....2ml

## **SOLUÇÃO DILUENTE DO SORO**

- PBS Tween 20 (0,1%).....200ml
- Leite Desnatado “MOLICO” ® (Skim Milk) 5%.....10gr
- Thimerosal 1:10000 (SIGMA®).....0,02gr

## **SUBSTRATO**

Solução A.-

ABTS (2.2'-azino-di-(3-ethyl-benzthiazoline sulfonate)) in buffer containing Cacodylic acid - Kirkergaard & Perry Laboratories, Maryland-USA).....20ml

Solução B.-

Peroxidase.(H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>)- Kirkergaard & Perry Laboratories, Maryland-USA.....20ml

Ambas as soluções misturadas, no momento do teste, em iguais proporções, na quantidade suficiente para o número de placas testadas.

## **MATERIAL NÃO-BIOLÓGICO UTILIZADO**

- a. Placas de microtitulação de polivinil para ELISA (microtiter plates)-Dynatech Laboratories, Inc.
- b. Pipeta monocal,5-50ul (BOECO®-Germany).
- c. Pipeta multicanal,5-200ul (ORGANON-TEKNIKA®).
- d. Ponteiras para as respectivas pipetas.
- e. Espectrofotômetro LABSYSTEM Multiskan plus, type 314, (Labsystems Oy. Helsinki). Ligado a impressora EPSON FX-1170.

f. Tubos para diluir soros (Titertube microtubes-Racked BIO-RAD).

g. Lavador de placas (Nunc-Immuno Wash 12).

### **TÉCNICA DE ELISA**

(Harlow & Lane,1988), segundo recomendações de Dr.T.G. Ksiazek. Diagnostic section special pathogens branch. Division of Viral and Rickettsial diseases. National Center for Infectious Diseases; COLIGAN J.E. *et al.*,1994).

#### **a1. Para o hantavírus “Sin nombre”(MCV)**

- Diluir o antígeno MCV (Lote No.SPR 293) em PBS (pH 7,4) na diluição de 1:2000.
- Colocar 100 ul, desta diluição, em cada “well” da placa de microtitulação com pipeta multicanal, nas fileiras A/C/E/G com exceção do BLANK;
- Diluir o Controle-negativo (C-) do Antígeno para MCV (Lote No SPR 292) em PBS pH 7,4 na diluição de 1/2000; e
- Colocar 100 µl, desta diluição em cada “well” da placa de microtitulação com pipeta multicanal, nas fileiras B/F/F/H com exceção do BLANK.

#### **a2.Para o hantavírus Seoul (Protótipo)**

- Diluir o antígeno de lisado celular protótipo *Seoul* SPR 214, em PBS pH 7,4 na diluição de 1:1000;
- Colocar 100 ul, desta diluição, em cada “well” da placa de microtitulação , nas fileiras A/C/E/G, com exceção do BLANK;
- Preparar o controle-negativo (C-)do Antígeno para *Seoul* (SPR 279) em PBS pH 7,4 na diluição de 1:1000;
- Colocar 100 ul, desta diluição, em cada “well” da placa de microtitulação, nas fileiras B/D/F/H, com exceção do BLANK;

- b. Colocar as placas em câmara úmida a 4°C “overnight” (ou pelo menos por um tempo mínimo de 18 horas);
- c. Proceder à lavagem com a solução PBS-Tween, dispensando-a com lavador automático; cada placa deverá ser lavada por 3 vezes- batendo as placas, de modo a tirar os restos do líquido, após a segunda e a terceira lavagem;
- d. Diluir (1:100) cada soro teste (5 ul de cada soro) com a solução diluente do soro (0,495 ul);
- e. Colocar 100 ul, da diluição em cada “well” da placa de microtitulação de modo que coloque a amostra com o antígeno e com o controle de Ag. Os soros controles-negativos (quatro no total) são colocados nas fileiras G/H posições 6/7/8/9, respectivamente, e os dois controles-positivos nas fileiras G/H posições 10/11, seguidas do BLANK; diluídos e dispensados da mesma forma que os soros teste;
- f. Colocar as placas em câmara úmida e levá-las a estufa, a 37°C, por uma (1) hora;
- g. Tirar as placas da estufa e proceder à lavagem com a solução PBS-Tween, dispensada por lavador automático; cada placa deverá ser lavada por três vezes, batendo as placas de modo a tirar os restos do líquido após a segunda e a terceira lavagem;
- h. Preparar o conjugado (Anti-IgG Humano), diluindo-o a 1:8000 na solução diluente do soro;
- i. Colocar 100 ul, da diluição do conjugado em cada “well” das placas de microtitulação;
- j. Colocar as placas em câmara úmida e levá-las a estufa de 37°C por uma (1) hora;

- k. Tirar as placas da estufa e proceder à lavagem com a solução PBS-Tween dispensada por lavador; cada placa deverá ser lavada por três vezes, batendo as placas de modo a tirar restos do líquido na segunda e terceira lavagem;
- l. Preparar o Substrato (Solução A e Solução B) em partes iguais (para nosso caso foi usado 20ml) de cada solução;
- m. Dispensando 100 ul em cada “well” das placas inclusive no BLANK;
- n. Colocar as placas em câmara úmida e levá-las a estufa de 37°C, por 30 minutos;
- o. Retirar as placas da estufa e realizar rapidamente a leitura visual das placas, anotando-a nos protocolos, e levar as placas para leitura espectrofotométrica usando o filtro de 405 nm.
- p. As densidades óticas obtidas foram corrigidas subtraindo-se o valor da leitura da densidade ótica (D.O.) da amostra com o antígeno do valor da D.O. da amostra com o controle do antígeno:

$$\text{D.O. amostra + antígeno} - \text{D.O. amostra + controle do antígeno} = \text{D.O. corrigida.}$$

Para o teste com hantavírus “*Sin Nombre*” (MCV) foi considerado um CUT-OFF de 0,2., (Recomendação do Dr.T.G. Ksiasek). Valores maiores que o CUT-OFF foram considerados POSITIVOS e menores NEGATIVOS.

Para o teste com hantavírus *Seoul*, os valores corrigidos das densidades óticas dos soros controles negativos foram acumulados e usados para calcular a média e o desvio padrão. Um valor igual a média dos negativos mais três desvios padrões representou o CUT-OFF, assim:

$$\text{nm (média dos negativos)} + 3.\text{dp(desvio padrão)} = \text{CUT-OFF}$$

As amostras com D.O. corrigida, com valores maiores que o valor do CUT-OFF foram consideradas POSITIVAS as menores NEGATIVAS. Foram considerados inconclusivos os exames realizados pela técnica de ELISA que apresentaram valores de leitura de densidade ótica da amostra perto do valor do CUT-OFF.

Toda amostra POSITIVA foi estendida a diluição até 1:400 e submetida a um novo teste.

Todos os soros amostrados foram submetidos a teste de IFI IgG para anti-hantavírus Hantaan (protótipo) e teste de ELISA IgG anti-hantavírus “*Sin Nombre*” e *Seoul*.

### 3.4. ANÁLISE ESTATÍSTICA

Para realização da análise estatística algumas das variáveis necessitaram ser recodificadas.

Desta forma a variável grupo racial a qual inicialmente na entrevista padrão foi classificada segundo variante da classificação de KRIEGER H. *et al.* (1965) em brancos, mulatos (que incluíam mulatos claro, mulato médio e mulato escuro) e negros, foram posteriormente reagrupados, os grupos de mulatos e negros foram classificados em não brancos (Tabela 1).

O nível socioeconômico (NSE) foi calculado pela associação de 20 variáveis dicotomizadas da entrevista padrão, nelas foi outorgado score = 0 para as que indicavam menor nível socioeconômico e valor = 1, para as indicadoras de melhor NSE. A somatória obtida foi ainda dividido em três níveis, outorgou-se valores para cada nível: = 0 interpretado como NSE baixo, =1 interpretado como NSE médio e =2 ao NSE alto. (Anexo 2).

A variável Distrito Sanitário de residência foi codificada segundo dados da Secretaria de Saúde da Bahia (-SESAB-), em 12 distritos sanitários (D.S.). Foi feita distribuição segundo nível de qualidade ambiental e econômica do distrito sanitário (Na.), realizada pelo cálculo da média do lixo coletado em cada distrito, em relação ao lixo esperado por pessoa/dia (0,0005 TON), segundo dados da Empresa Limpurb, conforme a população recenseada em cada bairro (Fonte: Secretaria Estadual de Saúde/ Assessoria Técnica do CIS, 1995), (Anexo 3). Baseados nestes dados foram considerados os D.S. 03 São Caetano/Valéria; 09 Cabula/Beiru; 10 Pau da Lima; 11 Cajazeiras e 12 Sub-Ferrovário



da cidade de Salvador como de menor Na. e, os D.S. 01 Centro Histórico; 02 Itapagipe; 04 Liberdade; 05 Brotas; 06 Barra/ R.Vermelho; 07 Boca do Rio e 08 Itapoan como de maior Na.

Para o cálculo do NSE foram outorgados no escore valores = 0 para os D.S. de menor Na. (D.S 03; 09;10;11 e 12) e, valor = 1 para os D.S. de maior Na. (D.S. 01,02,04,05,06,07 e 08) (Tabela 1).

A variável ocupação atual e ocupações anteriores, foram classificadas segundo classificação de GONÇALVES,J.S.R.C. (1985) em ocupações não-qualificadas (ocupações primárias não especializadas); ocupações semi-qualificadas (ocupações primárias especializadas); ocupações qualificadas (ocupações secundárias e terciárias).

Foram consideradas:

ocupações primárias: as ocupações vinculadas a serviços agropecuários e serviços básicos nas comunidades urbanas e com qualificação não formal divididas em não especializadas e especializadas com treinamento em serviço -ajudantes de bar, de restaurante, de pedreiro, de marceneiro, de camião, de gráfica de cozinha entre outros; atendente de açougue, arrumadores de armazéns de alimentos, de mercadorias, auxiliares de topografia, de farmácia, de limpeza, de almoxarife, de refeitórios entre outros, ascensorista, ambulantes e camelôs de lanches, de bijuterias, administrativo de lanchonete, zeladores de supermercado, de prédios, de bancos, empresas, entre outros, baleiro, borracheiro, cavaleiro, cobrador de ônibus, cortadores de cana, de grama entre outros, doméstico, faxineiro, vaqueiro, empacotador e embalador de alimentos, de carnes, e outros, frentista de posto de gasolina, sapateiro, artesão de decoração de vime, de cobre, barman, bombeiro de salvamento, ferreiro, eletricitista, etc-;

ocupações secundárias: aquelas ocupações com qualificação formal não associada aos trabalhos agropecuários -bancário, corretor de imóveis, cantor de banda, contador, cabeleireiro, cabo do exército, desenhista, encanador, fazendeiro, fiscal de comércio, faturista, emissor de passagens, fuzileiro naval, gráfico, etc-; e,

ocupações terciárias: as ocupações com formação universitária e/ou socioeconomicamente diferenciadas -ator, geólogo, gerente de empresa, economista, engenheiro eletricitista, engenheiro civil, analista de sistemas, analista químico, arquiteto, advogado, médico ortopedista, professor, proprietário de hotel, entre outros-.

Para análise estatística da variável ocupação em associação com NSE. foram outorgados os seguintes valores no escore: = 0 para ocupações não-qualificadas onde também foram incluídos desempregados, garis e estudantes, valor =1 para semi-qualificadas, e valor =2 para ocupações qualificadas (Anexo 2)

O tempo de exposição profissional foi obtido relacionando as variáveis de ocupação atual por tempo de exercício dessa atividade. Foi considerada a ocupação de gari como profissão de risco para aquisição de infecção por hantavírus e outras ocupações foram consideradas sem risco para esta infecção.

O tempo de exposição profissional anterior foi calculada pela associação das respostas às variáveis das três últimas ocupações anteriores, nas que foi outorgado valor semelhante à ocupação atual. Considerou-se escore com valor = 1 para gari e valor = 0 para outras ocupações, e o risco profissional de ocupações anteriores teve o escore valor = 1 se gari e valor = 0 para outras ocupações.

A variável número de co-habitantes por quarto habitação, foi calculada em relação a número de quartos declarados na entrevista por domicílio e por número de pessoas maiores de 12 anos e menores de 12 anos que co-habitavam no domicílio. Considerou-se, para o análise com NSE valor = 1 para os domicílios com menos de 4 pessoas por quarto, e valor = 0 para aqueles que resultaram com mais de 4 pessoas por quarto.

Para analisar os exames de IFI IgG para vírus *Hantaan* foram outorgados:

valores = 0 para imuno-fluorescência negativa e = 1 para imunofluorescência positiva.

Para os exames de ELISA IgG para vírus "*Sin Nombre*" e *Seoul* foram outorgados:

valores = 0 para resultado de ELISA negativo, =1 para resultados positivos e, =2 para resultados inconclusivos.

Os resultados realizados pela técnica de ELISA que apresentaram valor de densidade ótica da amostra com valores muito próximos ao CUT-OFF foram considerados INCONCLUSIVOS.

Os soros que resultaram positivos e concordantes por IFI IgG para hantavírus *Hantaan* e ELISA para hantavírus "*Sin Nombre*" ou *Seoul* (protótipo), foram submetidos a teste de HI (imuno-hemaglutinação) para o vírus *Oropouche* -bunyavírus do grupo Simbu-agente da Febre de Oropouche, que amostra reação monotípica com os hantavírus (Travassos da Rosa A.P. comunicação pessoal).

Em colaboração com pesquisadores da Fundação Oswaldo Cruz do Rio de Janeiro, foram realizadas pesquisas sorológicas mediante prova sorológica de microaglutinação para leptospirose. Foi considerado positivo o valor de microaglutinação 1/200, baseado em recomendações da OMS e estudos de Galton M.M. *et al.* (CORRÊA M.O.A., HYAKUTAKE S., AZEVEDO R., 1972; PINTO A.A. *et al.*, 1974; *apud* CORRÊA M.O.A., 1975) E estudos anteriores CORRÊA M.O.A. (1975); CRUZ M.L.S., ANDRADE J., PEREIRA M.M. (1994). Desta forma os exames de microaglutinação para leptospirose foram considerados negativos para os valores de microaglutinação < de 1/200, positivos para os valores de microaglutinação > de 1/200 e 1/400 e positivos fortes para os valores de microaglutinação > de 1/400.

A análise das variáveis obtidas mediante os dados do questionário padrão, foram realizadas através do programa "Statistical Package for the Social Science" (SPSS-versão 10, 1993) da Universidade de Londres, cedido pela Universidade de Brasília. Foram utilizados os seguintes testes na análise estatística: o teste "t de Student" para a variável idade, o teste de qui-quadrado ( $\chi^2$ ) = qui-quadrado de Pearson para as variáveis quantitativas dos grupos estudados com os resultados sorológicos e nível socioeconômico, sendo que o teste exato de Fisher foi utilizado quando o valor esperado foi menor que cinco. O valor do teste estatístico foi considerado significativo quando a probabilidade p do erro I foi < 0,05.

## ***4. RESULTADOS***

## **4.1. CARACTERÍSTICAS DA POPULAÇÃO ESTUDADA**

### **Idade**

As idades dos 496 indivíduos estudados variaram entre os 18 e 64 anos, com média de 33,00 e mediana de 32 anos (d.p.= ±8,33) (Tabela 1).

### **Grupo Racial**

Somente 50 dos amostrados eram brancos, 317 mulatos e 129 negros. Para fins de análise estatística foram reagrupados em 50(10,1%) brancos e 446(89,9%) não brancos, destes 317/446(71,1%) mulatos e 129/446(28,9%) negros (Tabela 1).

### **Naturalidade**

301/496(60,7%) dos entrevistados relataram ser naturais da cidade de Salvador; 170/496(34,3%) naturais de outras cidades da Bahia; 16/496(3,2%) de outras cidades da região Nordeste, 8/496(1,6%) de cidades da região sudeste do Brasil e apenas 1/496(0,2%) não brasileiro (Tabela 1).

### **Distrito Sanitário de residência e qualidade sanitária ambiental**

Na distribuição dos 496 entrevistados por distrito sanitário (DS) de residência observou-se que o maior número dos entrevistados 284(57,2%) moravam nos distritos sanitários considerados de menor qualidade ambiental (Tabela 1).

### **Profissão ou Ocupação**

A ocupação atual os amostrados teve a seguinte distribuição: 313/496(63,1%) indivíduos não-qualificados (desempregados, estudantes, com ocupação primária não-especializada ou *garis*); 63/496(12,7%) semi-qualificados (com ocupação primária especializada) e 120/496(24,2%) eram qualificados (com ocupações secundárias ou terciárias) (Tabela 1).

## •Variáveis independentes da população estudada em geral

### **Escolaridade**

Entre os 496 amostrados verificou-se escolaridade mínima variando de 0 a 25 anos de estudo. Entre os pesquisados 240/496(48,4%) declararam 0 a 5 anos de estudos, 137/496(27,6%) > de 5 a 10 anos, 100(20,1%) >10 a 15 anos, 16/496(3,2%) >15 a 20 anos e 3/496(0,6%) >20 a 25 anos anos de estudo. A média estatística foi de 6,85 (d.p.± 4,45) anos de estudo.

Observando-se que a maior freqüência dos pesquisados tinham apenas de 0 a 5 anos de estudo.

### **Tempo de ocupação atual**

19/496(3,8%) dos indivíduos amostrados relataram tempo de até 1 ano na ocupação atual, 146(29,4%) > 1 até 5 anos, 146(29,4%) >5 até 10 anos e 185(37,1%) relataram > de 10 anos na ocupação atual. A média estatística de anos de ocupação atual foi de 9,17(d.p.± 6,40).

### **Ocupações anteriores de risco profissional para infecção por hantavírus**

Em relação às três últimas ocupações exercidas anteriormente, 20/496(4%) dos entrevistados relataram antecedentes de risco profissional. Destes, 3/20(15%) referiram de 1 a 5 anos de ocupações de risco anterior, 6/20(30%) >5 a 10 anos, 7/20(35%) >10 a 15 anos e 4/20(20%) > de 15 anos de história ocupacional de risco. Os outros 476/496(96%) não relataram estes antecedentes. A relação entre as ocupações anteriores de risco demonstrou associação estatística significativa ( $X^2= 24,49$ , Teste de Fisher,  $p<0,0000495$ ).

### **Antecedentes de residência anterior em área rural**

Entre os entrevistados, 365/496(73,6%) relataram não ter morado anteriormente em área rural; 1/496(0,2%) não soube informar; 19/496(3,8%) tinham morado em área rural entre 1 a 5 anos; 21/496(4,2%) entre >5 até 10 anos e 90/496(18,2%) mais de 10 anos, a media de anos foi 3,9 (d.p. ± 8,49). Observou-se que a maioria dos amostrados negou ter morado em área rural.

### •Variáveis relacionadas a risco de infecção domiciliar e peri-domiciliar

O domicílio próprio foi declarado por 419(84,5%) dos 496 amostrados.

Em relação ao tipo de material da vivenda, 20/496(4%) declararam material descartável ou adobe, 476/496(96%) vivenda de tijolo e entre estes 350/476 (73,5%) de tijolo revestido e 126/476(26,5%) de tijolo sem revestimento.

Quando relacionado o número de pessoas cohabitantes declarado por domicílio e número de quarto habitação, resultou que 47/496(9,4%) moravam a razão de uma pessoa por quarto, 183/496(36,9%) duas pessoas por quarto, 189/496(38,1%) até quatro pessoas por quarto e em 77/496(15,5%) mais de 4 a 12 pessoas por quarto. A maior frequência de co-habitação foi observada de até quatro pessoas por quarto.

Entre os entrevistados 169/496(34,1%) relataram morar em ruas com esgoto aberto ou valas e, 180/496(36,3%) disseram morar em ruas não asfaltadas.

A presença de ratos dentro da casa, quintal ou na área de serviço foi declarada por 347(7%) dos entrevistados.

A presença de ratos na rua foi declarada por 404(81,5%) dos entrevistados.

## 4.2. CARACTERÍSTICAS DOS GRUPOS DE ESTUDO (GARIS E DOADORES DE SANGUE)

### Idade

A idade média entre os garis foi de 35,52 (d.p.  $\pm$  7,94) anos e entre os doadores de sangue de 30,33 (d.p. $\pm$  7,90) anos, sendo que observou-se maior idade no grupo dos garis com associação estatística significativa ( $p < 0,001$ ) (Tabela 2).

### **Grupo Racial**

17/255(6,7%) dos garis e 33/241(13,7%) dos doadores de sangue eram brancos; 151/255(59,2%) garis e 166/241(68,9%) doadores de sangue eram mulatos e 87/255(34,1%) garis e 42/241(17,4%) doadores de sangue eram negros. Na análise estatística estes grupos raciais foram dicotomizados em brancos e não-brancos (mulatos e negros), desta forma resultaram 238/255(93,3%) indivíduos não-brancos entre os garis e 208/241(86,3%) não-brancos entre os doadores de sangue. Observando-se que em ambos os grupos de estudo frequências raciais estatisticamente não significante ( $p=0,10$ ) (Tabela 2).

### **Naturalidade**

Entre os garis, 154/255(60,4%) relataram ser naturais da cidade de Salvador; 90/255(35,3%) naturais de outras cidades da Bahia; 10/255(3,9%) de outras cidades da região Nordeste e apenas 1/255(0,3%) relatou ser natural de cidades da região Sudeste.

Entre os doadores de sangue, 147/241(61%) relataram ser naturais da cidade de Salvador; 80/241(33,2%) naturais de outras cidades da Bahia; 6/241(2,5%) de outras cidades da região Nordeste; 7/241(2,9%) de cidades da região Sudeste e, apenas 1/241(0,4%) não era brasileiro. Observou-se que em ambos os grupos a maior frequência foi no grupo de indivíduos naturais da cidade de Salvador e outras cidades da Bahia (Tabela 2).

### **Profissão ou Ocupação atual.-**

Todos os 255 garis exerciam ocupação não-qualificada.

Entre os 241 doadores de sangue a maioria 120/241(49,8%) exercia ocupação qualificada (Tabela 2).

### **Tempo de ocupação atual e risco profissional para infecção por hantavírus**

Entre os gari amostrados que realizavam ocupação atual de risco, 4/255(1,6%) declaravam até 1 ano como gari, 24/255(9,4%) > de 1 ano a 5 anos, 97/255(38,0%) > de 5 a 10 anos, 64/255(25,1%) > de 10 a 15 anos e, 66/255(25,8%) > de 15 anos nesta atividade. A exposição e risco profissional foi diretamente relacionado ao tempo da ocupação atual dos amostrados.



## •Variáveis independentes dos 2 grupos de estudo

### Antecedentes domiciliares e peridomiciliares de risco por grupos de estudo

Interrogados pelo antecedente de ter tido alguma pessoa co-habitante que precisou internação hospitalar por falta de ar e febre, que não eram quadro de asma, 76/496(15,3%) responderam afirmativamente, entre estes 21/241(8,7%) doadores de sangue e 55/255(21,6%) garis.

A associação destas variáveis se amostraram com significância estatística ( $X^2=15,78$ ,  $p < 0,0001$ ).

### 4.3. RESULTADOS SOROLÓGICOS

Resultados pela técnica de Imunofluorescência Indireta (IFI) para detecção de IgG anti-hantavírus *Hantaan KHF* (Protótipo).

Entre os 496 amostrados, 361(72,8%) foram não-reagentes e 135(27,2%) reagentes para a IgG anti-*Hantaan* (Tabela 3).

Resultados pela técnica de ELISA (Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay) para detecção de IgG para hantavírus "*Sin Nombre*" (antígeno recombinante).

492/496(99,2%) indivíduos resultaram soro-negativos, 3(0,6%) foram inconclusivos e, apenas 1(0,2%) foi soro-reagente (Tabela 3).

Resultados pela técnica de ELISA para detecção de Ig G para hantavírus *Seoul* (Protótipo) antígeno de lise celular.

492/496(99,2%) entrevistados resultaram não-reagentes, 2(0,4%) indivíduos resultaram soros inconclusivos e 2(0,4%) foram reagentes (Tabelas 3).

Observou-se que os soros reagentes pelos testes de ELISA anti-hantavírus “*Sin Nombre*” e nos testes ELISA anti-hantavírus *Seoul* (Protótipo), também o foram para o teste IFI anti-hantavírus *Hantaan* (Protótipo).

#### **4.3.1. Associação de variáveis por grupos de estudo segundo resultados do teste de IFI IgG anti *Hantaan*.**

Dos 496 amostrados testados pela IFI IgG anti-*Hantaan*, 135(27,2%) resultaram reagentes, 46/135(34%) eram garis e 89/135(66%) doadores de sangue. A frequência maior de reagentes foi observada no grupo de doadores. Enquanto que a associação estatística entre as variáveis foi altamente significativa ( $X^2 = 22,31$ ,  $p < 0,00001$ ).

##### **Idade**

A idade mínima encontrada entre os IFI reagentes foi de 22 anos entre os garis e de 18 anos entre os doadores de sangue e a idade máxima foi de 56 anos entre os garis e de 50 anos entre os doadores de sangue. A idade média no grupo de garis foi de 34,6 (d.p.  $\pm$  7,25) e de 29,7 (d.p.  $\pm$  7,22) no grupo de doadores de sangue.

135/496 resultaram IFI reagentes, entre os que 46(9,3%) eram garis e 89(17,9%) eram doadores de sangue, a distribuição de idades foi:

4/46(8,7%) garis e 33/89(37%) doadores possuíam entre 18 a 25 anos

16/46(34,8%) garis e 31/89(34,8%) doadores > de 25 a 33 anos

21/46(45,6%) garis e 18/89(20,2%) doadores > de 33 a 41 anos

5/46(10,9%) garis e 7/89(7,9%) doadores > de 41 anos

Observando-se que nas faixas etárias de 18 a 25 anos, > de 33 a 41 anos e > de 41 anos, diferenças estatísticas de ( $X^2 = 3,96$ ,  $p > 0,04$ ), ( $X^2 = 2,08$ ,  $p > 0,14$ ) e ( $X^2 = 4,49$ ,  $p > 0,03$ ) respectivamente entre os grupos ressaltando que, entre os indivíduos com grupo de idades > de 25 a 33 anos observou-se associação estatística muito significativa ( $X^2 = 8,91$ ,  $p < 0,002$ ).

### **Tempo de residência em área rural**

Entre os 135 indivíduos IFI reagentes 106(78,5%) nunca tinham morado em área rural. Entre os que declararam ter morado em área rural corresponderam a 6(4,4%) entre 1 a 5 anos, 5(3,7%) por tempo > de 5 a 10 anos, e, 5(3,7%), 6(4,4%), 7(5,2%) relataram ter morado tempo > de 10 a 15 anos, > de 15 a 20 anos e > de 20 a 42 anos respectivamente. Observou-se que a frequência maior dos IFI reagentes declaravam nunca ter morado em área rural.

### **Tempo de ocupação atual de risco profissional para infecção por hantavírus**

Entre os IFI reagentes, 46/135(34,1%) relatavam exposição a risco profissional, 1/135(0,7%) referiu até 1 ano como gari, 5/135(3,7%) referiram > de 1 a 5 anos, 24/135(17,8%) > de 5 a 10 anos, 4/135(3%) > de 10 a 15 anos e 12/135(9%) > de 15 anos de exposição profissional como gari.

89/135(65,9%) indivíduos IFI reagentes pertenciam ao grupo de doadores de sangue e não eram expostos a risco profissional.

A associação destas variáveis se mostrou com estatística significativa ( $X^2=29,09$ ,  $p<0,0001$ ).

### **•Variáveis relacionadas a risco de infecção domiciliar e peridomiciliar**

Entre os IFI IgG anti-*Hantaan* reagentes:

46/135(34,1%) relatavam ter trabalhado diretamente com lixo e, 89/135(65,9%) negavam esta atividade ( $X^2=22,31$ ,  $p<0,00001$ ).

## **4.3.2. Associação de variáveis por grupos de estudo segundo soro-positividade para o teste ELISA IgG anti “*Sin Nombre*”**

### **Idade**

Entre os indivíduos testados por ELISA IgG anti-“*Sin Nombre*”, resultou apenas um amostrado soro-reagente, com idade de 28 anos pertencente ao grupo de doadores de sangue e, dois amostrados que resultaram inconclusivos, entre estes um com 29 anos e outro com 38 anos ambos do grupo de doadores de sangue.

### **Tempo de residência em área rural**

Entre os reagentes pelo ELISA IgG para “*Sin Nombre*”, os três indivíduos inconclusivos e o único soro-reagente, declararam nunca ter morado em área rural.

#### **• Variáveis relacionadas a risco de infecção domiciliar e peridomiciliar**

Entre os reagentes e inconclusivos por ELISA IgG anti-hantavírus “*Sin Nombre*” observamos que, se bem nenhuma das variáveis a seguir se mostrou com estatística significativa a <5%, observou-se que as mesmas apresentam-se com maior associação entre aquelas relacionadas com risco de infecção domiciliar e peridomiciliar e, assinalam que nesta amostra o contato ocupacional e de co-habitante não foi o possível determinante de risco para infecção pelo hantavírus “*Sin Nombre*”:

1/496(0,2%) soro-reagente e entre os 3 inconclusivos, 2/3(66,7%) negaram ter exercido atividade em locais onde eram criados ratos ou outros animais e, 1/3(33,3%) relatou ter exercido esta atividade, ( $X^2=2,53$ , Teste de Fisher,  $p=0,164$ ).

1/496(0,2%) soro-reagente e entre os 3 inconclusivos, 1/3(33,3%) negava ter alguma pessoa em casa que já tinha sido internada no hospital por falta de ar e febre, mas que não era quadro de asma e, 2/3(66,7%) declararam ter havido, este fato. ( $X^2=3,74$ , Teste de Fisher,  $p=0,113$ ).

### **4.3.3. Associação de variáveis por grupos de estudo segundo soro-positividade para o teste ELISA IgG anti *Seoul* (protótipo)**

#### **Idade**

Entre os indivíduos testados por ELISA IgG anti-*Seoul*, resultaram dois indivíduos reagentes, com idades de 26 e 24 anos, ambos do grupo de garís e dois indivíduos resultaram inconclusivos ambos do grupo de doadores de sangue, com idades de 23 e 34 anos.

• **Variáveis relacionadas a risco de infecção domiciliar e peridomiciliar**

Entre os reagentes e inconclusivos por ELISA IgG anti-hantavírus *Seoul* (Protótipo):

Os 2/496(0,4%) soro-reagentes e 1/2(0,5%) entre os inconclusivos relataram ter exercido atividade em locais onde eram criados ratos ou outros animais e, 1/2(0,5%) inconclusivo negou esta atividade. A associação estatística entre as variáveis foi significante ( $X^2=9,87$ , Teste de Fisher,  $p < 0,023$ ).

As variáveis a seguir, ainda que não se amostram com estatística significante o trabalho na limpeza de valas, esgotos e diretamente com lixo assim como o tempo de exposição por risco profissional, amostram-se com maior associação e sugerem fortemente a epidemiologia das hantaviroses.

Os 2/496 (0,4%) indivíduos soro-reagentes e 2/496(0,4%) entre os que resultaram inconclusivos declararam nunca ter morado em área rural, já 1/2 (0,5%) inconclusivo declarou ter morado 6 anos em área rural.

2/496(0,4%) reagentes relatavam ter trabalhado na limpeza de valas ou esgotos e, 2/496(0,4%) inconclusivos negaram esta atividade ( $X^2=4,53$ , Teste de Fisher,  $p = 0,130$ ).

2/496(0,4%) reagentes relataram ter trabalhado diretamente com lixo e, 2/496(0,4%) inconclusivos negavam esta atividade ( $X^2=4,00$ , Teste de Fisher,  $p = 0,180$ ).

2/496(0,4%) reagentes declararam exposição ocupacional, destes 1/2(0,5%) declarou ter 1 a 5 anos de trabalho como gari e 1/2(0,5%) mais 5 a 10 anos. Os 2/496(0,4%) inconclusivos declaravam não ter tido de ocupação anterior de risco ( $X^2=13,00$ , Teste de Fisher,  $p = 0,236$ ).

A observação das variáveis de risco domiciliar e peridomiciliar, apesar de não se amostrar com associação significante, foi relatada entre os reagentes por ELISA anti-“*Sin Nombre*” e anti-*Seoul*, sugerindo fortemente o risco de infecção domiciliar e peridomiciliar em ambos os grupos.

#### 4.4. ASSOCIAÇÃO SOROLÓGICA E NÍVEL SOCIOECONÔMICO

O nível socioeconômico (NSE) dos 496 amostrados resultou na associação de 20 variáveis (Anexo 8), o escore total resultou com valor mínimo de 5,28 e valor máximo 44,50, com média de 25,78 (d.p.± 7,73).

Para os fins de análise estatística foram divididos em três grupos segundo escore obtido: entre 5,28 e 18,35 considerado como valor 0 NSE baixo

entre >18,35 e 31,43 considerado como valor 1 NSE médio

e escore >31,43 considerado como valor 2 NSE alto

##### • Distribuição do NSE por grupos de estudo.-

O valor médio de escore de NSE no grupo de garís foi encontrado em 156,53 e entre os doadores de sangue foi encontrado em 345,82. Observou-se entre os doadores maior NSE.

Quando observada a distribuição do NSE por grupo de estudo observou-se que entre os 255(51,4%) garís: 79/255(31%) pertenciam a NSE baixo; 170/255(66,7%) NSE médio e, 6/255(2,3%) NSE alto.

Entre os 241(48,6%) doadores de sangue: 8/241(3,3%) pertenciam a NSE baixo; 115/241(47,7%) NSE médio e, 118/241(49%) NSE alto.

Observou-se que entre os garís a freqüência maior foi no grupo de NSE médio e entre os doadores a maior freqüência no NSE alto. Porém, observa-se tendência de distribuição de NSE médio em ambos os grupos de estudo.

A associação entre estas variáveis amostrou-se com significância estatística ( $X^2=169,45$ ,  $p < 0,00001$ ).

Entre aqueles que apresentavam resultado com NSE baixo, 79 eram garís e entre eles, 60 moravam em D.S. com Na. menor e, 19 em D.S. com Na. maior. Entre os 8 doadores de sangue, 7 moravam em D.S. de Na. menor e apenas 1 morava em D.S. de Na. maior.

Entre aqueles que apresentavam resultado com NSE médio, 170 eram garis e, entre eles 113 moravam em D.S. com Na. menor e, 57 moravam em D.S. com Na. maior. Entre os 115 doadores de sangue com NSE médio, 64 moravam em D.S. com Na. menor e 51 em D.S. com Na. maior.

Entre aqueles que apresentavam resultado com NSE alto, 6 eram garis e, entre eles, 4 moravam em D.S. com Na. menor e 2 em D.S. com Na. maior. Entre os 118 doadores de sangue com NSE alto, 37 moravam em D.S. com Na. menor e 81 moravam em D.S. com Na. maior (Tabela 4).

• **NSE nos indivíduos segundo resultados do teste IFI anti-*Hantaan***

Foi encontrado o escore médio dos IFI não-reagentes em 236.18 pontos e entre os IFI reagentes em 281.45 pontos.

Entre os 361(72,8%) IFI não-reagentes:

74/361(20,5%) pertenciam a NSE baixo; 203/361(56,2%) NSE médio e, 84/361(23,3%) NSE alto.

Entre os 135(27,2%) IFI reagentes:

13/135(9,6%) pertenciam a NSE baixo; 82/135(60,7%) NSE médio e, 40/135(29,6%) NSE alto ( $X^2 = 8,55$ ,  $p < 0,01387$ ).

Observa-se que em ambos os grupos o NSE médio foi o de maior frequência (Tabela 4).

• **NSE nos indivíduos segundo resultados dos testes ELISA anti-“*Sin Nombre*” e anti-*Seoul***

Quando comparados NSE com os resultados da avaliação laboratorial dos soros coletados pela técnica de ELISA para detecção de IgG para hantavírus “*Sin Nombre*”, foram observados:

1/496(0,2%) soro-reagente pertencia a NSE médio e entre os três inconclusivos, 2/3(66,7%) pertenciam a NSE baixo e 1/3(33,3%) a NSE médio. ( $X^2 = 1,67$ , Teste de Fisher,  $p = 0,671$ ) (Tabela 4).

Quando comparados NSE com os resultados da avaliação laboratorial dos soros coletados pela técnica de ELISA para detecção de IgG para hantavírus *Seoul* (protótipo), foram observados:

2/496(0,4%) reagentes e 1/2 (0,5%) entre os dois que resultaram inconclusivos pertenciam ao NSE médio, já 1/2(0,5%) dos inconclusivos foi de NSE alto. ( $X^2= 2,22$ , Teste de Fisher,  $p= 0,879$ ) (Tabela 4).

A associação entre as variáveis de NSE e resultados do teste ELISA para ambos os vírus não se amostraram significantes, porém, apresentam valores de associação próximos.

#### **4.5. OUTROS EXAMES REALIZADOS NOS SOROS AMOSTRADOS**

##### **4.5.1. Imuno-Hemaglutinação (HI) para bunyavírus *Oropouche***

Os soros que resultaram positivos e concordantes por IFI IgG para hantavírus *Hantaan* e ELISA para hantavírus "*Sin Nombre*" ou *Seoul* (protótipo), foram submetidos a teste de HI (imuno-hemaglutinação) para o vírus *Oropouche*, resultando todos soro negativos para este teste.

##### **4.5.2. Microaglutinação para leptospirose**

Foram realizadas pesquisas mediante sorologia de microaglutinação para leptospirose em 438(88,3%) soros dos 496 entrevistados, 11,7% não puderam ser testados por não haver soro suficiente para o teste.

Entre os 438 soros testados, 58/438(13,2%) resultaram soro-positivos para leptospirose (consideramos positivos títulos de 1:200 e títulos maiores). Destes, 28/58(48,3%) resultaram com títulos de 1:200; 22/58(37,9%) com títulos de 1:400 e 8/58(13,8%) com títulos >1:400.



Observou-se que entre estes 58/438 soro-positivos para leptospirose, 10(2,28%) com títulos de 1:200 resultaram também positivos no teste de IFI para IgG anti-hantavírus *Hantaan* (Tabela 5).

Entretanto, observamos naqueles que resultaram com títulos de microaglutinação 1:400 e >1:400 para leptospirose, não foi observado nenhum soro também positivo para IFI IgG anti-*Hantaan* nem para os ELISA anti-“*Sin Nombre*” e anti-*Seoul* (Tabela 5).

Entre os 58 reagentes para leptospirose observou-se que, alguns apresentavam microaglutinação para mais de um sorovar de leptospira, desta forma foram encontrados 35 sorovar *icterohaemorrhagiae*, 11 sorovar *copenhageni*, 14 sorovar *sentot*, 4 sorovar *patoc*, 3 sorovar *panama*; 8 sorovar *djasiman*, 1 *canicola* e 1 *castelloni*. Entre estes devemos ressaltar que 50 pertenciam ao grupo dos garis e 8 ao grupo de doadores de sangue (Tabela 6).

## ***5. DISCUSSÃO***

Esta pesquisa foi desenvolvida na cidade de Salvador, no estado da Bahia, localizada no Nordeste brasileiro, e é considerada a terceira maior capital do Brasil. É uma cidade litorânea, portuária, turística e cosmopolita, com população de aproximadamente 2.304.000 habitantes. Sua geografia apresenta áreas altas e baixas com morros onde se aglutinam prédios, residências e pequenas favelas. São poucos os bairros onde as diferentes classes sociais não convivem. Desta forma, misturam-se grandes residências nobres com sofisticados serviços sanitários, com construções simples, de adobe, ou ainda de material descartável geralmente sem serviço sanitário. A cidade, de modo geral, apresenta graves deficiências em sua infra-estrutura sanitária e urbana.

Nos bairros periféricos, entre populações de nível sócio-econômico mais baixo, podem ser observados esgotos abertos e ruas sem asfalto, com torneiras de água comunitária. Em algumas épocas do ano, a água é racionada em horários predeterminados pois não há pressão suficiente para abastecer toda a rede.

A cidade tem sua economia baseada no comércio em especial de frutas e produtos do mar e no turismo. O ambiente ecológico é rico em vegetação e o clima é quente e úmido favorecido pela beira mar.

Esta conjunção de aspectos, onde se relacionam os diferentes grupos com as constantes mudanças climatológicas e do ecossistema acaba favorecendo a proliferação de vetores e reservatórios de variadas patologias, com o conseqüente aparecimento de doenças. Desta forma existem na região estudada, as condições para o retorno de doenças consideradas controladas, mutação dos agentes de doenças conhecidas, aparecimento de doenças endêmicas e, ainda, o surgimento de doenças novas favorecidas pela globalização e que são denominadas doenças emergentes (LEDERBERG J., 1996; FARMER P., 1996; PATZ J.A. *et al.*, 1996).

Entre as doenças consideradas emergentes, as hantavirozes, cujos reservatórios são pequenos roedores, são favorecidas pelo intercâmbio de produtos e pelo intercâmbio humano em regiões onde antes eram desconhecidas.

Recomendações da OMS(1982) e investigações realizadas por LeDuc J.W. *et al.* nas Américas e Brasil (1985), assim como os relatos de Travassos da Rosa E.S. *et al.*(1995), e Vasconcelos P.F.C. *et al.*(1992) descrevem o achado sorológico que demonstra a presença de anticorpos anti-hantavírus nos roedores coletados em áreas rurais e urbanas no Brasil. Os casos descritos na literatura internacional apontam em sua maioria também, para as zonas rurais (LEE H.W., LEE P.W., JOHNSON K.M., 1978; LEE H.W., BAEK L.J., JOHNSON K.M., 1982a; OMS,1982; LeDUC J.W., SMITH G.A., JOHNSON K.M.,1984, LeDUC J.W. *et al.*,1985; RUO S.L. *et al.*,1994).

Estudo de Travassos da Rosa E.S. *et al.*,(1995) realizado em Salvador encontrou soropositividade de 31,1% em população de pacientes atendidos por outras patologias e sem suspeita de hantavirose provenientes de Hospital de referência para doenças infecciosas. Seguindo esta linha de pesquisa outros estudos foram desenvolvidos por Mascarenhas-Batista *et al.*,(1998) em populações susceptíveis, como crianças escolares de 5 a 10 anos encontrando soropositividade de 13,2%.

Nesta pesquisa foram estudados 255 trabalhadores da limpeza pública da cidade de Salvador, da empresa LIMPURB. A empresa é constituída pelas denominadas gerências (setores administrativos distribuídos na cidade), que são ponto de saída e chegada dos caminhões de coleta de lixo. São também locais de descanso e de reunião dos garis, e possuem um gerente ou chefe administrativo do setor. As atividades entre os garis são divididas em coleta de lixo casa por casa, coleta de lixo no “garujo”, coleta de lixo na caçamba, coleta de lixo especial, gari de capinação e jardinagem. Os garis são contratados por prévia entrevista e sem concurso e pertencem em sua maioria a nível socioeconômico médio e baixo.

Foram amostrados também 241 doadores de sangue do Centro de Hematologia e Hemoterapia da Bahia (HEMOBA), como grupo de comparação. O HEMOBA é o principal banco de sangue e de tratamento do estado, recebe doação de sangue proveniente do Hospital Geral de Salvador e de outros hospitais da cidade de Salvador, com fluxo anual aproximado de 47.000 doadores voluntários.

Nos testes foi utilizada diluição do soro 1/32 por ser esta de maior segurança de soropositividade quando comparada com a diluição 1/16, proposta por Lee P.W. (1989), evitando assim número elevado de falso-positivos. Em ambos os testes realizados (IFI e ELISA) todas as amostras positivas foram re-testadas para confirmar a positividade. No teste de IFI IgG anti-*Hantaan* foi ainda considerada como leitura positiva, as amostras com campos fluorescentes >1 a 25%. Porém, em estudos sorológicos de população sempre é possível a presença de falso-positivos.

Observou-se que o único soropositivo para o teste de ELISA anti-"*Sin Nombre*" era doador de sangue, enquanto para o vírus *Seoul* os dois indivíduos que resultaram positivos eram garis. Relatos da literatura relacionam as hantaviroses com contato com roedores infectados, porém não apontam diferenças entre atividade de risco preponderante para um vírus ou outro. Observou-se nesta pesquisa que, entre os positivos para hantavírus "*Sin Nombre*" e os positivos para o vírus *Seoul*, as variáveis comuns foram: tipo de moradia, observação de roedores dentro e fora do domicílio e o trabalho direto com a terra, apontando as deficientes condições ambientais de ambos os grupos estudados.

Observou-se no grupo de garis maior idade média (35,52 anos) que nos doadores de sangue (30,33 anos). A idade mais freqüente entre os soro-reagentes foi entre os 25 a 33 anos. Estes achados são concordantes com os relatos da literatura que descrevem que o grupo humano mais atingido pela infecção por hantavírus são os homens na idade entre 20 a 50 anos e, entre eles, 80% entre os 15 a 35 anos de idade (OMS,1982; BEATY B.J. & CALISHER C.H.,1991; HALLIN G.W. *et al.*,1996). Relatos do CDC assinalam idade média de 34 anos sendo também o sexo masculino o mais acometido pela infecção, semelhantes aos encontrados nesta investigação (CDC, 1993j; NIKLASSON B. *et al.*,1993; SIMONSEN L. *et al.*,1994). McKee *et al.* observaram ainda maior prevalência de anticorpos quando relacionada com a idade (McKEE K.T., LeDUC J.W., PETERS C.J.,1991; NIKLASSON B. *et al.*,1993). Outros estudos observam maior infecção relacionada com maior idade, em especial, em regiões endêmicas, sem evidências de diferenças quando considerado o sexo (RUO S.L. *et al.*,1994). Nesta pesquisa observamos que o maior número de soro-reagentes em ambos os grupos situou-se na faixa etária maior de 25 a 33 anos. Alguns relatos já assinalam freqüência limite do sexo feminino em relação ao sexo masculino e este fato

poderia estar relacionado aos hábitos culturais nessas populações estudadas (ZEITZ P.S. *et al.*,1995; SIMONSEN L. *et al.*,1994). Em grupo de pacientes estudados no surto de 1993 nos EUA, a idade média encontrada entre os atingidos foi de 31 anos e, entre eles, 50% eram do sexo masculino e 50% do feminino (HALLIN G.W. *et al.*,1996). Esta pesquisa foi realizada exclusivamente em homens, sendo que o maior número de garís pertencem ao sexo masculino.

Quando analisou-se o grupo racial, nesta investigação, encontramos 89,9% de não brancos (mulatos, negros e mestiços) e isto pode ser explicado porque nesta região a maior população é de não brancos, concordando com descrições da literatura (AZEVEDO E.S.,1980). Já foi assinalado que no Brasil os indivíduos da raça negra e mulatos apresentam piores indicadores sociais comparados com os de grupo racial branco (GONÇALVES J.S.R.C.,1985). Estes resultados são concordantes com estudos realizados durante o surto de 1993 nos EUA, onde, no grupo racial não branco, foi relatada 97% de frequência de soro-reagentes (SIMONSEN L. *et al.*,1994). Da mesma forma outros estudos norte-americanos também apresentam maior soro-positividade entre os não brancos, estes relatos podem estar relacionados à que a epidemia de HPS, em 1993, acometeu indivíduos de tribos indígenas de Four Corners-EUA (CHILDS J.E. *et al.*,1995; ZEITZ P.S. *et al.*,1995).

Entre os garís 60,4% declararam ser naturais de Salvador e 39,5% de outras cidades da Bahia, outras cidades da região Nordeste e outras regiões e, entre os doadores de sangue, 61% eram naturais de Salvador, 38,6% de outras cidades da Bahia, outras cidades do Nordeste e outras regiões do Brasil e 0,4% de outro país. Estes fatos sugerem que provavelmente a infecção pelo hantavírus tenha acontecido dentro na própria cidade de Salvador. Estas suspeitas baseadas nas respostas da entrevista aplicada nos 496 amostrados, os que quando interrogados sobre residência anterior em áreas rurais: 73,6% negaram este antecedente, também, 106(78,5%) dos IFI reagentes, dois ELISA soro-reagentes anti-*Seoul* e o único soro-positivo ELISA anti-*Sin Nombre* negaram ter morado anteriormente em área rural. Relatos de McKee K.T. *et al.* (1991) e Ruo S.L. *et al.* (1994), observaram a ocorrência de maior infecção por hantavírus diretamente relacionada ao tempo de residência em especial em regiões endêmicas. Da mesma forma, investigações prévias realizadas por Travassos Da

Rosa, E.S. *et al.*(1995) e por Mascarenhas-Batista A.V. *et al.*(1998) já assinalavam presença de hantavírus na região de Salvador, sustentam estas inferências.

A ocupação não qualificada foi a de maior frequência em geral entre os 496 amostrados (63,1%). Analisados por grupos de estudo, os garis considerados no grupo de não qualificados, já os doadores de sangue apresentaram maior frequência (49,8%) de ocupações qualificadas.

O risco profissional anterior foi investigado pelo tempo exercido na ocupação de risco, do total de garis 4% relataram ocupação anterior de risco. Entre os IFI reagentes 46/135(34,1%) relataram exposição a risco profissional e, entre estes: 2,2% referiam até 1 ano como gari; 10,9% referiam mais de 1 até 5 anos de exposição; 52,2% mais de 5 a 10 anos de exposição; 8,7% mais de 10 até 15 anos e 26,18% mais de 15 anos de exposição profissional. Esta associação se mostrou estatisticamente significativa, revelando que a prevalência de infecção aumenta em relação direta com o tempo de exposição ocupacional. Estes achados concordam com os relatos da literatura que assinalam como profissões de risco aquelas que estão relacionadas, de alguma forma, com o contato direto, indireto ou casual com os reservatórios dos hantavírus.

Alguns estudos mencionam maior ocorrência de infecção por hantavírus, entre os trabalhadores florestais e outras ocupações rurais e, em muitos casos, entre militares em atividades no campo ou entre residentes ou visitantes de áreas rurais para turismo ou lazer (OMS,1982; McKEE K.T., LEDUC J.W., PETERS C.J.,1991; BEATY B.J. & CALISHER C.H.,1991; CDC,1993a; CDC, 1994c).

Os dados encontrados nesta investigação concordam, também, com os relatos da literatura que observaram maior risco ocupacional nos casos de maior tempo de exposição, em especial nas regiões endêmicas (ARMSTRONG L.R. *et al.*,1993; RUO S.L. *et al.*,1994).

A presença de ratos dentro de casa, assim como no quintal, e área de serviço, foi referida por 70% dos nossos entrevistados. Já entre os 135 IFI soro-reagentes 30,4% referiram este fato. Apesar de não ter sido observada associação de variáveis entre os grupos com significância estatística, o único ELISA positivo para "Sin Nombre" e os dois ELISA positivos para Seoul também confirmaram estes antecedentes. Entre os 496 amostrados, 404(81,5%) relataram ter observado ratos na rua onde moram, e entre os IFI positivos, 79,3% confirmaram este fato. Da mesma forma, foi confirmado entre os positivos para ELISA anti-"*Sin Nombre*" e anti-*Seoul*. A associação entre as variáveis não se amostrou significativa. Entretanto, cabe ressaltar que os achados desta investigação coincidem com relatos da literatura, que descrevem esta situação epidemiológica como determinante para infecção por hantavírus. A abundância de roedores em algumas regiões tem sido amplamente relacionados aos surtos de hantavirose como ocorrido na Suécia entre 1959 a 1975 com elevado número de casos de NE (*apud* CHILDS, J.E. *et al.*, 1995). Posteriormente, na Suécia e na Rússia Européia, foram relacionadas estas observações com as epidemias de hantavirose (NIKLISSON, B. *et al.*, 1993). Da mesma forma, Brummer-Korvenkontio (1982), na Finlândia, relacionou epidemias de NE com abundância da população de roedores da região (*apud* CHILDS, J.E. *et al.*, 1995). Os reservatórios são encontrados em diversos habitats, invadindo estruturas e moradias, onde a contaminação com suas excretas está presente (ZEITZ P.S. *et al.*, 1995).

Foi avaliado o nível socioeconômico (NSE) dos amostrados e encontrado o NSE médio como o mais freqüente entre os garis e NSE alto predominando entre os doadores de sangue. Porém, entre os que resultaram soro-reagentes por IFI e ELISA, em ambos os grupos de estudo, ocorreu predominância de NSE médio. A associação entre as variáveis de NSE entre ambos os grupos apresentou significância estatística ( $p < 0,00001$ ).

Dentro da avaliação do NSE dos grupos, a variável nível de qualidade sanitária ambiental menor foi encontrada em 284/496(57,3%) dos amostrados. Entre os dois grupos estudados observou-se que, no grupo dos garis 177/255(69,4%) e no grupo dos doadores de sangue 107/241(44,4%), relataram residir em bairros com qualidade ambiental menor. Os relatos da literatura com relação a nível socioeconômico são poucos. Muitos dos casos de infecção por hantavirus observaram-se entre indivíduos com nível socioeconômico baixo,



com precárias condições habitacionais e relacionados com atividades recreacionais no campo (SCHMALJOHN C.S. & HJELLE B.,1997). Pelo exposto, é possível observar a dificuldade de caracterizar-se os marcadores de NSE na população estudada no tocante ao tipo de urbanização e pelas deficiências sanitárias já relatadas da cidade de Salvador. Estes dados, porém, assinalam as semelhanças entre ambas as populações estudadas, oferecendo-nos melhor visualização da realidade ambiental do grupo amostrado.

As características comuns, observadas entre os indivíduos ELISA reagentes para os hantavírus testados, apontaram condições de ambientes doméstico e peridoméstico, concordantes com relatos da literatura. Armstrong L.R. *et al.* assinalam que, evidências de roedores intradomiciliares ou peridomiciliares devem ser pesquisadas entre os suspeitos de infecção por hantavírus. Devem buscar-se informações em relação à ocupação ou profissão e de atividades em espaços fechados como silos, armazéns, garagens, bem como ginástica e descanso no campo ao ar livre e ainda exercícios militares (ARMSTRONG L.R. *et al.*,1993). Estudo feito por Korpela H. & Lähdevirta J. encontrou que a exposição domiciliar muito próxima com os roedores infectados levam a maior risco de infecção por hantavírus (*apud* TSAI T.F.,1987b). Ksiazek T.G. *et al.* assinalam que entre os pacientes que sofreram HPS, múltiplos casos de infecção são observados associados a contato com reservatórios no domicílio e peridomicílio, ou a uma única moradia, como nos primeiros casos de doença humana relatados nos EUA. Pacientes cujos achados clínicos e epidemiológicos não aparentavam estar relacionados ao comprometimento respiratório que sofriam, demonstraram mais tarde epidemiologia rica para hantavirose com achados comuns de presença de roedores intradomiciliares (KSIAZEK,T.G. *et al.*,1995). Estudos realizados em área rural, assinalam fatores determinantes de risco entre os acometidos de doença, encontrando relação entre número de roedores intradomiciliares e peridomiciliares com infecção por hantavírus. Além disso, apontam que, no contato constante com os roedores, os indivíduos expostos, praticamente assistem ao nascimento de várias famílias de roedores, durante a convivência, aumentando desta forma, o risco de infecção e doença (ZEITZ P.S. *et al.*,1995). Alguns autores relataram alto nível de infestação de roedores no peridomicílio dos casos (NIKLASSON B.; *et al.*,1993; CHILDS J.E. *et al.*,1994; CHILDS J.E. *et al.*,1995). Estes fatos são concordantes com os achados de nosso estudo que mostra o contato

domiciliar e peridomiciliar, tanto como o contato profissional, parece envolver um risco maior de infecção.

Nossa pesquisa foi realizada em população de adultos com ocupação de risco, em região portuária e urbana. Observa-se que a maior parte apresenta baixo nível de escolaridade, limitadas condições de saneamento básico e de ambiente peridomiciliar e que, apesar de possuir NSE médio, sustenta a observação que relaciona estes fatores com infecção pregressa por hantavírus na referida população.

Antecedentes epidemiológicos de risco, como o contato direto com a terra foi relatado em 361(72,8%) dos amostrados. Entre 95/135(70,4%) IFI reagentes, o único ELISA positivo para hantavírus "*Sin Nombre*" e nos dois indivíduos ELISA positivos para hantavírus *Seoul* houve relatos de este fato.

Foi relatado trabalho direto com lixo nos dois ELISA reagentes para vírus *Seoul*.

Antecedente de trabalho na limpeza de valas e esgotos foi relatado por 186/496(37,5%) dos pesquisados, também em 49/135(36,3%) IFI reagentes e nos dois soropositivos para ELISA anti-*Seoul*.

História de trabalho no desmatamento de áreas foi relatado por 231/496(46,6%) dos amostrados, em 56/135(41,5%) dos IFI soropositivos e um dos reagentes para ELISA anti-*Seoul*.

Trabalho em depósitos de sementes ou alimentos foi relatado entre 45/135(33,3%) IFI reagentes.

Antecedente de trabalho em locais onde eram criados ratos e outros animais foi relatado por 24/135(17,8%) IFI reagentes e nos dois soro-positivos para ELISA anti-*Seoul*.

Estes resultados, apesar de não amostrar-se com valores de associação significativa, sugerem fortemente a epidemiologia de hantavirose na população estudada. Os antecedentes apresentam concordância com outros estudos em relação ao risco de infecção, onde devem ser avaliadas a ocupação, as atividades em espaços fechados (silos, armazéns e garagens), atividades físicas, descanso no campo ao ar livre ou ainda exercícios militares

(ARMSTRONG L.R. *et al.*,1993). Recomendações do CDC (1994e) referem que período aparentemente curto de contato direto com aerossóis de excretas de roedores são determinantes para infecção por hantavírus. Verificou-se que, indivíduos expostos por período curto a doentes de hantavírus não apresentaram infecção, em comparação ao observado entre os indivíduos que tiveram tempo prolongado de exposição com infectados. Esta observação relacionada ao contato inter-humano, parece semelhante à contaminação que acontece entre roedores (WELLS.R.M. *et al.*,1997).

O diagnóstico de hantavírus em uma população pode se tornar obscuro pelo fato de existirem formas moderadas, leves e assintomáticas, ocasionando discrepância entre os achados soro-epidemiológicos de prevalência alta com poucas descrições de casos clínicos. Em 1954 já se assinalava valores de prevalência de 1,6% entre doadores de sangue com menos de 30 casos de HFRS sendo identificadas em oito anos de observação, sugerindo assim que a doença não é suspeitada e, portanto, não diagnosticada. Considerou-se que 30% dos casos pertencem à forma leve, 50% à formas moderadas e 20% apresentam curso clínico grave (LEE H.W.,1989; *apud* PAPADIMITRIOU M.,1995).

Os achados desta investigação assinalam provável circulação dos Hantavirus sugerido pela prevalência encontrada pela IFI nesta população. Os resultados pouco concordantes dos testes de IFI com os exames de ELISA que mostra nosso estudo, nos sugere que, isto pode ser devido ao fato do teste IFI apresentar um alto índice de falso-positivos ou a inexistência do hantavírus na região. Porém, a circulação dos hantavírus, demonstra-se pelos resultados obtidos nos três ELISA soro-reagentes (um para hantavírus “*Sin Nombre*” e dois para hantavírus *Seoul*). Da mesma forma, os resultados do estudo de Mascarenhas-Batista. V. *et al.*(1998) com taxa de prevalência de 13,2%, entre crianças de 5 a 10 anos de idade, pelo teste de IFI IgG anti-*Hantaan* e com baixa concordância para o teste de ELISA anti-“*Sin Nombre*”, semelhante ao encontrado nesta investigação, nos assinala circulação do hantavírus na região.

Sugere-se assim, que podem estar acontecendo quadros sub-clínicos ou assintomáticos da doença. Levanta a possível circulação de outros hantavírus como o vírus *Bayou* com clínica semelhante à leptospirose ou hantavírus relacionados com clínica de HPS e HFRS (KHAN A.S. *et al.*,1995b; SCHMALJOHN C. & HJELLE B.,1997). Outro

hantavírus sugerido é o vírus *Andes*, relacionado ao HPS, porém, com achados clínicos atípicos da HPS clássica com congestão conjuntival, edema de rosto, pescoço e cabeça e menos tosse que o descrito entre os casos norte-americanos, o mesmo ainda, com maior proximidade geográfica (WELLS R.M., *et al.*,1997). Também, podem ser sugeridos outros hantavírus, mais relacionados a *Hantaan*, ou ainda, um novo hantavírus próprio da região pode estar circulando. Esta suspeita se baseia na observação dos dados obtidos nos entrevistados onde 73,4% negavam ter morado antes em zona rural, 90,5% negavam ter morado em cidades de outros estados e 99,4% negavam ter morado em outros países e entre os IFI soro-positivos, 78,5% relataram nunca ter morado fora da área urbana da cidade.

Estudos realizados em outras regiões do Brasil, entre doadores de sangue com soropositividade de 54,3% e 10,4%, assinalam presença de infecção sub-clínica (VASCONCELOS P.F.C. *et al.*,1992). Outros autores descreveram, o achado de 1,3% de casos de infecção leve ou branda por HPS (SIMONSEN L. *et al.*,1994). Estudo realizado na Finlândia, revelou que a freqüência de soro-reagentes durante os últimos anos, tem sido no mínimo de 2%, e considera ser 10 a 20 vezes maior o número de casos sub-clínicos ou não diagnosticados (LÄHDEVIRTA J.,1989). Relatos de estudos sorológicos nos EUA com achado de anti-hantavírus são descritos desde 1982 porém, até 1993 não houve relatos de casos de doença, destacando também a suspeita das formas assintomáticas e/ou sub-clínicas (DUCHIN J.S. *et al.*, 1994).

Existe uma certa confusão diagnóstica da hantavirose com leptospiroses e rickettsioses, observada na Coreia especialmente em épocas de surtos em regiões endêmicas. No surto de 1981 notou-se maior mortalidade entre os casos de hantaviroses, até que foi demonstrado que houve casos de leptospiroses e rickettsioses não diagnosticados. As formas leves e moderadas de HFRS podem ser confundidas com gripe ou "hepatites", em especial os casos em que o comprometimento renal é menor. Recomenda-se que nas áreas onde os casos de hantavirose sejam raros sejam investigadas leptospirose e rickettsioses (LEE,H.W.,1989). Em outro estudo foi encontrada soro-positividade para hantavírus, pela técnica de IFI, em 4/268 indivíduos com suspeita de Febre das Montanhas Rochosas, em 2/194 com suspeita de Febre do Colorado, em 1/353 com suspeita de quadro gripal. Os relatos demonstram que pode existir baixa prevalência na população geral mesmo em

regiões endêmicas de hantavírose. Estudos da Bélgica relatam prevalência de 2,2% entre os doadores de sangue, 0,7% entre os renais crônicos e de hemodiálise e 3,8% entre os suspeitos de leptospirose (LEE H.W., LEE P-W, JOHNSON K.M.,1978; YANAGIHARA R. *et al.*, 1985).

Estes relatos tornam-se mais relevantes no Brasil, onde a leptospirose é endêmica em algumas regiões e cuja clínica e epidemiologia se superpõe a das hantavíroses. Estudos de Amato-Neto V., Tcherniacovski I., Baldy J.L.S.(1972), Santa Rosa C.A. *et al.*,(1973), Silva J.J.P. *et al.*(1976) e Farr W.R.(1995) encontraram clínica de leptospirose clássica que pode ser confundida com formas precoces de hantavírose. São as chamadas de novas feições clínicas da leptospirose, com predominância de quadros de angústia respiratória do adulto que cursam com hemoptises maciças e sem icterícia mencionado por Gonçalves A.J.R. *et al.*(1993), Jardim B.N.M. *et al.*(1995). Estudo de Zaki S.R. & Shieh W-J.(1996) assinala ainda, estes sintomas sem compromisso renal.

Estudo entre crianças assinala como frequentes nessa população as formas assintomáticas e inespecíficas que incluem rash cutâneo e colecistite acalculosa, levando à confusão diagnóstica com casos de dengue (CRUZ,M.L.S., ANDRADE J., PEREIRA M.M., 1994).

A leptospirose, assim como as hantavíroses, ocorrem em trabalhadores da limpeza pública, trabalhadores de canais e está associada a piores condições de vida e ao contato com animais (LIMA D.P.C. & SANTA ROSA C.A.,1974; ALMEIDA L.P. *et al.*,1994; TAVARES-NETO J. *et al.*,1996). Na região de Salvador, no ano de 1994, quando da realização desta investigação, foram notificados 204 casos de leptospirose com 18 óbitos na capital e 229 casos com 38 óbitos no estado.

Baseados nestes estudos foram realizados testes anti-leptospira nos soros desta pesquisa e observamos que 58/438(13,2%) apresentaram sorologia positiva para leptospirose pelo método de microaglutinação e entre estes 58, 10(17,2%) se mostraram soro-reagentes para leptospirose e para IFI anti-Hantaan. Entre os que resultaram soro-positivos por ELISA anti-“Sin Nombre” e anti-Seoul não foi constatada microaglutinação positiva para leptospirose. Estudos realizados por Vasconcelos P.F.C. *et al.* (1992), testando soros

suspeitos de leptospirose e soros de doadores de sangue encontraram anticorpos anti-hantavírus. Crescente *et al.*(1996) descrevem co-infecção de hantavírus e leptospirose em casos internados por suspeita de leptospirose. Nuti M. *et al.*(1993) encontraram presença de anticorpos anti-leptospira em regiões dos Alpes italianos com frequência de 10% a 12%, com positividade para anticorpos anti-Hantaan variando de 0,7 a 7,1% pelas técnicas de IFI e ELISA com diluição de 1/16 (NUTI M. *et al.*,1993). Os resultados encontrados nesta pesquisa e os estudos acima mencionados sugerem (além da ocorrência de leptospiroses sub-clínica ou assintomática) a possível ocorrência de co-infecção nos reservatórios. Consideramos que estudos mais aprofundados devam ser desenvolvidos. Estes achados reforçam a necessidade das hantavirozes entrarem no diagnóstico diferencial de doenças como a leptospirose, dengue e hepatite, bastante conhecidas na região.

Os achados encontrados na cidade de Salvador (BA), sugerem a presença do hantavírus como infecção disseminada na população em geral, com provável forma sub-clínica ou assintomática de apresentação. Esta doença pode estar sendo confundida com outras doenças mais frequentes na região.

Na cidade de Salvador poucos casos agudos suspeitos de hantavirose foram detectados até 1996. Apenas 1 paciente com sorologia IgM positiva pela IFI, porém com ELISA para "Sin Nombre" negativa, e 2 casos suspeitos cujos soros foram positivos fracos para IgM pela IFI e não-reagentes pelo ELISA. Os surtos de leptospirose que se observam anualmente em Salvador, mostram aproximadamente 10% de mortalidade, e se observa, a cada ano maior agressividade da doença, com maior comprometimento respiratório e com número crescente de casos hemorrágicos.

Estes fatos, somados aos resultados desta investigação, ressaltam a necessidade de realizarem-se estudos epidemiológicos, nas regiões onde é alta a as condições ambientais e socioeconômicas se mostrem propícias para o aparecimento de surtos ou epidemias de hantavirozes. Nas regiões onde a frequência de outras doenças com reservatórios comuns com a hantavirose, devem ser intensificadas a vigilância epidemiológica. Assim casos de febres não esclarecidas, quadros de doenças atípicas sugestivas de hantavirozes e ainda de outras febres hemorrágicas devem ser investigados, buscando diagnosticar-se corretamente os mesmos pelas sorologias específicas e estudos histopatológicos, de modo a caracterizar o

perfil clínico e epidemiológico destas doenças em cada região. Estudos sorológicos grupo e espécie específicos, da população de reservatórios, são necessários para delimitar-se os tipos virais que possam existir ou ainda para a detecção de novos hantavírus relacionados que tenham surgido nessas regiões, e ainda procurando a co-infecção com doenças como a leptospiroses, visando definir-se quais são os reservatórios os agentes envolvidos, em especial nas regiões de baixo NSE. Este trabalho também, aponta o risco que o fator ambiental domiciliar e peridomiciliar oferece para esta infecção, bem como para outras doenças infecciosas, inclusive emergentes. Assinala da mesma forma as inter-relações que existem entre nível socioeconômico e risco de infecção. Estudos sorológicos, podem ser iniciados, entre as populações de outros possíveis reservatórios como gatos e cachorros. Assim se fecharia a cadeia epidemiológica da hantavirose nesta população.

A necessidade de diagnosticar o tipo ou tipos de hantavírus circulantes na região, baseia-se nas considerações da OMS (1983) que referem que, em uma mesma região podem ser encontradas duas formas clínicas distintas da doença e, dado que a eventual associação de vírus de região-a-região podem mudar sua apresentação clínica.

Desta forma, variações regionais do quadro clínico e observações das diferentes expressões clínicas nas diferentes raças, grupos étnicos e faixa etária, bem como, diferenças quanto a forma de exposição, tipo de contaminação e persistência viral no reservatório, deverão ser observadas em estudos posteriores, visando melhor conhecimento do comportamento destes vírus (CDC, 1993e; BEIGUELMAN B., 1994; CDC, 1994a).

Em relação ao interesse médico-social desta investigação, o estudo revela de forma preocupante, a necessidade urgente de melhoria do saneamento ambiental, de forma constante e vigilante, aspecto fundamental nas grandes cidades, em especial as que reúnem características semelhantes a cidade de Salvador (BA) visando melhorar as condições de saúde pública desta população. Também assinala a necessidade de proteger os trabalhadores que, de alguma forma, realizam atividades de maior risco para aquisição das hantavirose ou de outras doenças com epidemiologia semelhante.

Como uma auto-crítica a esta investigação, entendemos que poderia ter sido melhor apurada em nível epidemiológico, com a pesquisa dos roedores domiciliares e peridomiciliares dos entrevistados que resultaram soro-reagentes. Também poderia ter sido realizadas a investigação sorológica dos familiares, co-habitantes e vizinhos dos pacientes que resultaram soro-reagentes, esclarecendo assim se ocorreu infecção domiciliar, peridomiciliar ou profissional.

Em nível laboratorial, sentimos a necessidade de usar outros antígenos virais visando esclarecer a espécie de hantavírus envolvido, os cruzamentos virais ou, ainda a presença de novos hantavírus.

Finalmente consideramos ser necessária e imprescindível a realização de estudos semelhantes à este, em outras regiões para que, a partir da comparação dos resultados obtidos, possamos traçar os perfis epidemiológicos das infecções por hantavírus no Brasil.



## **6. CONCLUSÃO**

1. Existe circulação dos hantavírus na cidade de Salvador (BA);
2. Observou-se frequência baixa de infecção pelos vírus “*Sin Nombre*” e *Seoul*;
3. A prevalência encontrada pela IFI nesta investigação, assinala a circulação de vírus provavelmente relacionado a *Hantaan* e diferente dos hantavírus testados “*Sin Nombre*” e *Seoul*;
4. O nível socioeconômico mostrou-se como variável determinante de risco para infecção por hantavírus;
5. As contaminações domiciliares e peridomiciliares aparecem como determinantes de risco em ambas as populações estudadas;
6. O risco de contaminação ocupacional, relacionado diretamente com o tempo de exercício profissional, mostrou ser fator determinante de risco entre os garis, porém, não explica a contaminação observada entre os doadores de sangue;
7. Os resultados do teste de microaglutinação para leptospirose, entre os amostrados, assinalam provável co-infecção com os hantavírus;
8. Há necessidade de pesquisa sistemática de hantavírus nos pacientes com suspeita de leptospirose.

1  
2  
3  
4  
5  
6  
7  
8  
9  
10  
11  
12  
13  
14  
15  
16  
17  
18  
19  
20  
21  
22  
23  
24  
25  
26  
27  
28  
29  
30  
31  
32  
33  
34  
35  
36  
37  
38  
39  
40  
41  
42  
43  
44  
45  
46  
47  
48  
49  
50  
51  
52  
53  
54  
55  
56  
57  
58  
59  
60  
61  
62  
63  
64  
65  
66  
67  
68  
69  
70  
71  
72  
73  
74  
75  
76  
77  
78  
79  
80  
81  
82  
83  
84  
85  
86  
87  
88  
89  
90  
91  
92  
93  
94  
95  
96  
97  
98  
99  
100  
101  
102  
103  
104  
105  
106  
107  
108  
109  
110  
111  
112  
113  
114  
115  
116  
117  
118  
119  
120  
121  
122  
123  
124  
125  
126  
127  
128  
129  
130  
131  
132  
133  
134  
135  
136  
137  
138  
139  
140  
141  
142  
143  
144  
145  
146  
147  
148  
149  
150  
151  
152  
153  
154  
155  
156  
157  
158  
159  
160  
161  
162  
163  
164  
165  
166  
167  
168  
169  
170  
171  
172  
173  
174  
175  
176  
177  
178  
179  
180  
181  
182  
183  
184  
185  
186  
187  
188  
189  
190  
191  
192  
193  
194  
195  
196  
197  
198  
199  
200  
201  
202  
203  
204  
205  
206  
207  
208  
209  
210  
211  
212  
213  
214  
215  
216  
217  
218  
219  
220  
221  
222  
223  
224  
225  
226  
227  
228  
229  
230  
231  
232  
233  
234  
235  
236  
237  
238  
239  
240  
241  
242  
243  
244  
245  
246  
247  
248  
249  
250  
251  
252  
253  
254  
255  
256  
257  
258  
259  
260  
261  
262  
263  
264  
265  
266  
267  
268  
269  
270  
271  
272  
273  
274  
275  
276  
277  
278  
279  
280  
281  
282  
283  
284  
285  
286  
287  
288  
289  
290  
291  
292  
293  
294  
295  
296  
297  
298  
299  
300  
301  
302  
303  
304  
305  
306  
307  
308  
309  
310  
311  
312  
313  
314  
315  
316  
317  
318  
319  
320  
321  
322  
323  
324  
325  
326  
327  
328  
329  
330  
331  
332  
333  
334  
335  
336  
337  
338  
339  
340  
341  
342  
343  
344  
345  
346  
347  
348  
349  
350  
351  
352  
353  
354  
355  
356  
357  
358  
359  
360  
361  
362  
363  
364  
365  
366  
367  
368  
369  
370  
371  
372  
373  
374  
375  
376  
377  
378  
379  
380  
381  
382  
383  
384  
385  
386  
387  
388  
389  
390  
391  
392  
393  
394  
395  
396  
397  
398  
399  
400  
401  
402  
403  
404  
405  
406  
407  
408  
409  
410  
411  
412  
413  
414  
415  
416  
417  
418  
419  
420  
421  
422  
423  
424  
425  
426  
427  
428  
429  
430  
431  
432  
433  
434  
435  
436  
437  
438  
439  
440  
441  
442  
443  
444  
445  
446  
447  
448  
449  
450  
451  
452  
453  
454  
455  
456  
457  
458  
459  
460  
461  
462  
463  
464  
465  
466  
467  
468  
469  
470  
471  
472  
473  
474  
475  
476  
477  
478  
479  
480  
481  
482  
483  
484  
485  
486  
487  
488  
489  
490  
491  
492  
493  
494  
495  
496  
497  
498  
499  
500  
501  
502  
503  
504  
505  
506  
507  
508  
509  
510  
511  
512  
513  
514  
515  
516  
517  
518  
519  
520  
521  
522  
523  
524  
525  
526  
527  
528  
529  
530  
531  
532  
533  
534  
535  
536  
537  
538  
539  
540  
541  
542  
543  
544  
545  
546  
547  
548  
549  
550  
551  
552  
553  
554  
555  
556  
557  
558  
559  
560  
561  
562  
563  
564  
565  
566  
567  
568  
569  
570  
571  
572  
573  
574  
575  
576  
577  
578  
579  
580  
581  
582  
583  
584  
585  
586  
587  
588  
589  
590  
591  
592  
593  
594  
595  
596  
597  
598  
599  
600  
601  
602  
603  
604  
605  
606  
607  
608  
609  
610  
611  
612  
613  
614  
615  
616  
617  
618  
619  
620  
621  
622  
623  
624  
625  
626  
627  
628  
629  
630  
631  
632  
633  
634  
635  
636  
637  
638  
639  
640  
641  
642  
643  
644  
645  
646  
647  
648  
649  
650  
651  
652  
653  
654  
655  
656  
657  
658  
659  
660  
661  
662  
663  
664  
665  
666  
667  
668  
669  
670  
671  
672  
673  
674  
675  
676  
677  
678  
679  
680  
681  
682  
683  
684  
685  
686  
687  
688  
689  
690  
691  
692  
693  
694  
695  
696  
697  
698  
699  
700  
701  
702  
703  
704  
705  
706  
707  
708  
709  
710  
711  
712  
713  
714  
715  
716  
717  
718  
719  
720  
721  
722  
723  
724  
725  
726  
727  
728  
729  
730  
731  
732  
733  
734  
735  
736  
737  
738  
739  
740  
741  
742  
743  
744  
745  
746  
747  
748  
749  
750  
751  
752  
753  
754  
755  
756  
757  
758  
759  
760  
761  
762  
763  
764  
765  
766  
767  
768  
769  
770  
771  
772  
773  
774  
775  
776  
777  
778  
779  
780  
781  
782  
783  
784  
785  
786  
787  
788  
789  
790  
791  
792  
793  
794  
795  
796  
797  
798  
799  
800  
801  
802  
803  
804  
805  
806  
807  
808  
809  
810  
811  
812  
813  
814  
815  
816  
817  
818  
819  
820  
821  
822  
823  
824  
825  
826  
827  
828  
829  
830  
831  
832  
833  
834  
835  
836  
837  
838  
839  
840  
841  
842  
843  
844  
845  
846  
847  
848  
849  
850  
851  
852  
853  
854  
855  
856  
857  
858  
859  
860  
861  
862  
863  
864  
865  
866  
867  
868  
869  
870  
871  
872  
873  
874  
875  
876  
877  
878  
879  
880  
881  
882  
883  
884  
885  
886  
887  
888  
889  
890  
891  
892  
893  
894  
895  
896  
897  
898  
899  
900  
901  
902  
903  
904  
905  
906  
907  
908  
909  
910  
911  
912  
913  
914  
915  
916  
917  
918  
919  
920  
921  
922  
923  
924  
925  
926  
927  
928  
929  
930  
931  
932  
933  
934  
935  
936  
937  
938  
939  
940  
941  
942  
943  
944  
945  
946  
947  
948  
949  
950  
951  
952  
953  
954  
955  
956  
957  
958  
959  
960  
961  
962  
963  
964  
965  
966  
967  
968  
969  
970  
971  
972  
973  
974  
975  
976  
977  
978  
979  
980  
981  
982  
983  
984  
985  
986  
987  
988  
989  
990  
991  
992  
993  
994  
995  
996  
997  
998  
999  
1000

## ***7. SUMMARY***

The hantaviruses are considered emergent diseases. Climate, multiple human determinants, biological, economical and environmental factors influence its emergency and dissemination. The interaction of this factors explain its presence in the Americas.

Their host are mainly the rodents. Man transmission happens by direct, indirect or incidental exposure to secretion or excretion of these animals among other not so frequent mechanisms.

Thus peasants, plumbers, street-cleaners, wharf laborers, fishermen, military personnel, scouts and individuals with outdoors recreational activities are considered to be under risk of being infected.

In Brazil, there is a necessity of knowing better the epidemiology of the hantavirus, specially in population exposed to the risk of infection.

This research was developed in Salvador capital of Bahia state, Brazil, which is a port, touristic and cosmopolitan city.

The objectives are:

1. Estimate the frequency of infection by hantavirus in the adults population.
2. Associate the infected people to epidemiological factors and the clinics researched.

The methodology and casuistic used were the following:

Transversal study (sectional or the prevalence)

Being sampled:

255 street-cleaners from Salvador-Bahia and,

241 blood donors as a group of comparison.

In all of them was applied a pattern interview with the aim to research epidemiological antecedents to this particular infection and afterwards was collected a blood sample.

The sampled serum was tested by IFI IgG for anti-hantavirus *Hantaan* (prototype) and the ELISA test IgG anti-hantavirus "*Sin Nombre*" (recombined antigen) and *Seoul* (prototype) (antigen of cellular lysis).

On the interpretation of IFI, was considered positive the sample  $>1$  a 25% of fluorescent focus per field.

On the interpretation of ELISA tests, figures higher than the cut-off were positive and the lower negative.

They were not conclusive by ELISA technic, figures of low optical density sample were close to the cut-off value.

It was found that the age range of the population varied from 18 to 64 years old.

The observed prevalence was 27.22%(135/496) of anti-*Hantaan* antibodies by the test of IFI IgG anti-*Hantaan* (dilution 1:32). Among them, 46(9.27%) were street-cleaners and 89(17.94%) blood donors.

ELISA tests for "*Sin Nombre*" was found a prevalence of 0.02% and ELISA tests for *Seoul* prevalence was 0.04%. It was observed that the only serum reactor for ELISA anti-"*Sin Nombre*" was a donor. Although for the *Seoul* virus the two positives were street cleaners.

Out of 496 samples, 438(88.3%) were tested for micro-agglutination for leptospirosis. It was considered positive micro-agglutination with titles  $\geq 1/200$  :

Out of 438 tested 58(13.24%) resulted positive for leptospirosis.

Twenty eighth of them (28/58) 48.27% positive for the title of 1/200; 22/58(37.93%) for titles of 1/400 and 8/58(13,79%) for titles  $>1/400$ .

It was observed 5(8.62) positive for titles of 1/200 for leptospirosis and 5(8.62%) positive for titles of 1/400, which resulted also positive by the IFI IgG anti-*Hantaan*.

The sorovars most easily found were *sentot* and *icterohaemorrhagiae*.

The conclusions are:

1. There is a circulation of hantaviruses in Salvador city;
2. It was observed a low frequency of infection by the "*Sin Nombre*" and *Seoul* virus;
3. The prevalence found by the IFI in this investigation, signalize a circulation of the virus probably related to *Hantaan* and different from other hantavirus tested "*Sin Nombre*" and *Seoul*;
4. The social-economic level showed determinant for the risk of contamination by hantavirus;
5. The domestic contamination and peri-domestic showed to be determinants of risk for both studied population;
6. The risk of employment-related contamination is direct related to the time of professional practice, it was observed to be determinant among street-cleaners. Although don't explain the contamination among blood donors.
7. The results of micro-agglutination for leptospirosis among the sampled population signalized a probable co-infection by hantavirus;

There is a need of a sistematic research of the hantavirus among patients with suspicious of infection by leptospirosis.

251

## **8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

- AHLM,C.; SETTERGREN,B.; GOTHEFORS,L.; JUTO,P.- Nephropathia epidemica (hemorrhagic fever with renal syndrome) in children: clinical characteristics. **Pediatr.Infect.Dis.J.**,13:45-49,1994.
- ALEXEYEV,O.A.; AHLM,C.; BILLHEDEN,J.; SETTERGREN,B; WADELL,G; JUTO,P.- Elevated levels of total and *Puumala* virus specific immunoglobulin E in the Scandinavian type of hemorrhagic fever with renal syndrome. **Clin.Diagn.Lab.Immunol.**, 1:269-272,1994.
- ALEXEYEV,O.A.; ELGH,F.; ZHESTHOV,A.V.; WADELL,G.; JUTO,P.- *Hantaan* and *Puumala* virus antibodies in blood donors in Samara, an HFRS-endemic region in European Russia. **Lancet**,347:1483,1996.
- ALMEIDA,L.P.; MARTINS,L.F.S.; BROD,C.S.; GERMANO,P.M.L.- Levantamento soropidemiológico de leptospirose em trabalhadores do serviço de saneamento ambiental em localidade urbana da região sul do Brasil. **Rev.Saúde Pública**,28: 76-81,1994.
- AMATO-NETO,V.; TCHERNIACOVSKI,I.; BALDY J.L.S.- Pneumonia intersticial devida à leptospirose: relato de um caso. **Rev.Inst.Med.Trop.São Paulo**,14:334-337,1972.
- ANTONIADIS,A.; LeDUC,D.W.; ACRITIDIS,N.; ALEXIOU-DANIEL,S.; KYPARISSI,A.; SAVIOLAKIS,G.A.- Hemorrhagic fever with renal syndrome in Greece: Clinical and laboratory characteristics. **Rev.Infect.Dis.**,II(Suppl.4):S891-896,1989.
- ARMSTRONG,L.R.; KHABBAZ,R.F.; CHILDS,J.E.; ROLLIN,P.E.; MARTIN,M.L.; CLARKE,M.; HOLMAN,R.C.; PETERS,C.J.; KSIAZEK,T.G.- Occupational exposure to hantavirus in mammalogists and rodent workers. *IN*: Program and Abstracts of the Joint Annual Meeting of the American Society of Tropical Medicine and Hygiene and the American Society of Parasitologist. The Hyatt Regency,Atlanta,Georgia. October 31-November 4,1993. Abstracts. Atlanta,Georgia. **Am.J.Trop.Med.Hyg.**,49:94,1993.



- AUWAERTER,P.G.; OLDACH,D.; MUNDY,L.M.; BURTON,A.; WARNER,M.L.; VANCE,E.; MOORE,R.D.; ROSSI,C.A.- Hantavirus serologies in patients hospitalized with community-acquired pneumonia. **Lancet**,**173**:237-239,1996.
- AVSIC-ZUPANC,T.; POLJAK,M.; LAVRENCAK,J.; KRYSTUFEK,B.; TRILAR,T.- Study of molecular epidemiology of hantavirus infection in small mammals by polymerase chain reaction. *IN*: Program and Abstracts of the Joint Annual Meeting of the American Society of Tropical Medicine and Hygiene and the American Society of Parasitologist. The Hyatt Regency,Atlanta,Georgia. October 31-November 4,1993. Abstracts. Atlanta,Georgia. **Am.J.Trop.Med.Hyg.**,**49**:195,1993.
- AVSIC-ZUPANC,T.; POLJAK,M.; FURLAN,P.; KAPS,R.; XIAO,S.; LeDUC,J.W.- Isolation of a strain of *Hantaan* virus from a fatal case of Hemorrhagic Fever with Renal Syndrome in Slovenia. **Am.J.Trop.Med.Hyg.**,**51**:393-400,1994.
- AVSIC-ZUPANC,T.; TONEY,A.; ANDERSON,K.; CHU,Y-K.; SCHMALJOHN,C.- Genetic and antigenic properties of *Dobrava* virus : a unique member of the Hantavirus genus, family Bunyaviridae. **J.Gen.Virol.**,**76**:2801-2808,1995.
- AZEVEDO,E.S.- Subgroup studies of black admixture within a mixed population of Bahia, Brazil. **Ann.Hum.Genet.**,**44**:55-60,1980.
- BEATY,B.J. & CALISHER,C.H.- *Bunyaviridae*. Natural history. *IN*: Kolakofsky,D.(ed.). **Current Topics in Microbiology and Immunology.**, Berlin, Springer-Verlag, 1991. p.27-35, 66-68.
- BEATY,B.J.; CALISHER,C.H.; SWEENEY,W.; CANESTOR,P.K.M.; DAVIS,T.; MILLS,J.N.- Preliminary results of longitudinal studies of *Sin Nombre* hantavirus in diverse ecosystems in Colorado,1994-95. *IN*: Program and Abstracts of the 44th. annual meeting of the American Society of Tropical Medicine and Hygiene. Hyatt Regency. San Antonio, Texas. November 17-21,1995. Abstracts. San Antonio, Texas. **Am.J.Trop.Med.Hyg.**,**53**:231,1995.

- BEEBE, J.L.- Emerging infections: Hantavirus disease outbreak. **Clin. Microb. Newsletter.**, 16:73-76, 1994.
- BEIGUELMAN, B.- Moléstias infecciosas e seleção natural. *IV*: Beiguelman B.(ed.). **Dinâmica dos genes nas famílias e nas populações**. Ribeirão Preto-S.P., Revista Brasileira de Genética, 1994. p.363-369.
- BERKELMAN, R.L.- Emerging infectious diseases in the United States, 1993. **J. Infect. Dis.**, 170:272-277, 1994.
- BISHOP, D.H.L.- *Bunyaviridae* and their replication-Part I. *IV*: Fields B.N., Knipe D.M.(ed.). **Virology**. New York, Raven Press, 1990. p.1160-1161.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Fundação Nacional de Saúde. Centro Nacional de Epidemiologia-CENEPI.- Hantavírus.- Ano III,(3/4), F.N.S., 1994. p.37-47(Informe epidemiológico do SUS.).
- BUREK, K.A.; ROSSI, C.A.; LeDUC, J.W.; YUILL, T.M.- Serologic and virologic evidence of a Prospect Hill-like hantavirus in Wisconsin and Minnesota. **Am. J. Trop. Med. Hyg.**, 51:286-294, 1994.
- BUTKUS, D.E.- Epidemic Hemorrhagic Fever with Renal Syndrome. **Arch. Intern. Med.**, 143:2299-2300, 1983.
- CDC- Hantavirus infection-Southwestern United States: Interim recommendations for risk reduction. **M.M.W.R.**, 42:1-12, 1993a.
- CDC- Update: Outbreak of hantavirus infection - Southwestern United States, 1993. **M.M.W.R.**, 42:477-79, 1993b.
- CDC- Update: Hantavirus infection - United States, 1993. **M.M.W.R.**, 42:517-519, 1993c.
- CDC- Update: Hantavirus disease - southwestern - United States, 1993. **M.M.W.R.**, 42:570-571, 1993d.
- CDC- Update: Hantavirus disease - United States, 1993. **M.M.W.R.**, 42:612-614, 1993e.

- CDC-Update:Hantavirus - associated illness - North Dakota,1993.**M.M.W.R.**,42:707,1993f.
- CDC- Update: Hantavirus Pulmonary Syndrome - United States,1993.**M.M.W.R.**,42: 816-820,1993g.
- CDC- Update: Outbreak of hantavirus infection - Southwestern United States,1993.**M.M.W.R.**,42:441-443,1993h.
- CDC- Update : Outbreak of Hantavirus infection - Southwestern United States,1993.**M.M.W.R.**,42:495-497,1993i.
- CDC- Outbreak of Acute illness - Southwestern United States,1993. **M.M.W.R.**,42:421-424,1993j.
- CDC- Progress in the development of Hantavirus diagnostic assays - United States **M.M.W.R.**,42:770-771,1993k.
- CDC- Addressing emerging infectious disease threats : a prevention strategy for the United States. **M.M.W.R.**,43(RR-5):1-18,1994a.
- CDC- Hantavirus Pulmonary Syndrome - Northeastern United States,1994. **M.M.W.R.**,43:548-551,555-556,1994b.
- CDC- Hantavirus Pulmonary Syndrome - United States,1993. **M.M.W.R.**,43:45-48,1994c.
- CDC- Hantavirus Pulmonary Syndrome - Virginia,1993. **M.M.W.R.**,43:876-877,1994d.
- CDC- Laboratory management of agents associated with Hantavirus Pulmonary Syndrome: Interim Biosafety Guidelines. **M.M.W.R.**,43(RR-7):1-7,1994e.
- CDC- Newly identified hantavirus - Florida,1994. **M.M.W.R.**,43:99-105,1994f.
- CDC- Hantavirus Pulmonary Syndrome - United States, 1995 and 1996.**JAMA**,275: 1395-1397,1996a.
- CDC- Addressing emerging infectious disease threats. A prevention Strategy for the United States. **U.S.Department of health & Human Services**,1996b.

- CHAVES-GILES,F.; VANNER,C.; LAPOSATA,E.- Phylogenetically distinct hantavirus implicated in a case of Hantavirus Pulmonary Syndrome in the Northeastern United States. **J.Med.Virol.**,**46**:21-27,1995.
- CHILDS,J.E.; KORCH,G.W.; SMITH,G.A.; TERRY,A.D.; LeDUC,J.W.- Geographical distribution and age related prevalence of antibody to Hantaan-like virus in rat populations of Baltimore, Maryland, U.S.A. **Am.J.Trop.Med.Hyg.**,**34**:385-387,1985.
- CHILDS,J.E.; KSIAZEK,T.G.; SPIROPOULOU,C.F.; KREBS,J.W.; MORZUNOV,S.; MAUPIN,G.O.; GAGE,K.L.; ROLLIN,P.E.; SARISKY,J.; ENSCORE,R.E.; FREY,J.K.; PETERS,C.J.; NICHOL,S.T.- Serologic and genetic identification of *Peromyscus maniculatus* as the primary rodent reservoir for a new hantavirus in the southwestern United States. **J.Infect.Dis.**,**169**:1271-1280,1994.
- 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 household-based, case-control study of environmental factors associated with Hantavirus Pulmonary Syndrome in the southwestern United States. **Am.J.Trop.Med.Hyg.**,**52**:393-397,1995.
- CHU,Y-K.; LEE,H.W.; JENNINGS,G.; SCHMALJOHN,C.S.- Detection of Hantaan virus RNA in HFRS patient sera by RT-PCR. *In*: PROGRAM AND ABSTRACTS OF THE 43RD. ANNUAL MEETING OF THE AMERICAN SOCIETY OF TROPICAL MEDICINE AND HYGIENE. The Hyatt Regency Cincinnati, Ohio, November 13-17,1994. **Am.J.Trop.Med. Hyg. Suppl.** **51**:276, 1994.
- CHU,Y-K.; JENNINGS,G.; SCHMALJOHN,A.; ELGH,F.; HJELLE,B.; LEE,H.W.; JENISON,S.; KSIAZEK,T.;PETERS,C.J.; ROLLIN,P. & SCHMALJOHN,C.- Cross-Neutralization of hantaviruses with immune sera from experimentally infected animals and from Hemorrhagic Fever with Renal Syndrome and Hantavirus Pulmonary Syndrome patients. **J.Infect.Dis.**,**172**:1581-1584,1995.
- CLEMENT,J.; MCKENNA,P.; COLSON,P.; DAMOISEAUX,P.; PENALBA,C.; HALIN,P.; LOMBART,D.- Hantavirus epidemic in Europe,1993. **Lancet.**,**343**:114,1994.

- CLEMENT,J.; COLSON,P.; McKENNA,P.; HEYMAN,P.- Total serum (s.) cholesterol (chol.), HDL cholesterol and triglycerides(TG.) as predictors of clinical severity in Hantavirus (HTV.) infection. *IN*:Program and Abstracts of the 44th. annual meeting of the American Society of Tropical Medicine and Hygiene. Hyatt Regency. San Antonio,Texas.November 17-21,1995. Abstracts. San Antonio, Texas. **Am.J.Trop.Med.Hyg.**,53:233-234, 1995.
- CLEMENT,J.; HEYMAN,P.; COLSON,P.; GROENEVELD,P.H.P.- Spread of hantavirus infections in Europe. **Lancet.**,347:771,1996.
- CLEMENT,J.; UNDERWOOD,P.; WARD,D.; PILASKI,J.;LEDUC,J.- Hantavirus outbreak during military manoeuvres in Germany. **Lancet.**,347:336,1996a.
- COCHRAN,W.G.- **Sampling techniques**. New York, John Wiley & Sons, 1953. p.53.
- COLIGAN,J.E.; KRUISBEEK,A.M.; MARGULICS,D.H.; SHEVACHE,E.M.; STROBER,W.- Assays antibody production. *IN*: Richard Coico,(ed) - **Current Protocols in Immunology**. 3.ed. New York, John Wiley & Sons, 1994. p.1-6.
- CORRÊA,M.O.A.; HYAKUTAKE,S.; AZEVÊDO,R.- Considerações sobre novo surto epidêmico de leptospiras na cidade de Recife, em 1970. **Rev.Inst. Adolfo Lutz**,32:83-87,1972.
- CORRÊA,M.O.A.- Panorama atual das leptospiroses humanas no Brasil. **Rev.Inst. Adolfo Lutz**,33:55-72,1973.
- CORRÊA,M.O.A.- Human leptospirosis in Brazil. **Int.J.Zoon.**,2:1-9,1975.
- COSGRIFF,T.M. & LEWIS,R.M.- Hemostatic impairment associated with hemorrhagic fever viruses. **Rev.Infect.Dis.**,II(Suppl.4):669-671,1989.
- COSGRIFF,T.M.- Mechanism of disease in Hantavirus infection : Pathophysiology of Hemorrhagic Fever with Renal Syndrome. **Rev.Infect.Dis.**,13:97-107,1991.

- CRESCENTE, J.A.B.; MEDEIROS, R.; CHENG, I.; BRANDÃO, F.F.; DE CRISTO, R.N.T.; LOPES, M.L.; TRAVASSOS DA ROSA, E.S.- Indicativo da infecção simultânea por leptospira e hantavírus. *IV*: IX Congresso Brasileiro de Infectologia. 25 a 29 de Agosto de 1996. Pernambuco-Recife. Resumos. Recife, 1996. p.162.
- CRUZ, M.L.S.; ANDRADE, J.; PEREIRA, M.M.- Leptospirose em crianças no Rio de Janeiro. *Rev.Soc.Bras.Med.Trop.*, **27**:5-9, 1994.
- DANES, L.; PAVLICKOVA, E.; KOBZIK, J.; DZAGUROVA, T.K.; DANKOVA, A.; CECH, M.; TKACHENKO, E.A.; SEBEK, Z.; SVEJDA, J.- Anti-hantavirus antibodies in human sera in Czechoslovakia. *J.Hyg.Epidemiol.Microbiol.Immunol.*, **36**:55-62, 1992.
- DA SILVA, A.R.M.B.; QUADRA, A.A.F.; QUADRA, J.A.F.; CORDEIRO, H.A.- Aspectos epidemiológicos das leptospiroses humanas no grande Rio, Brasil. *Bol. Ofic. Sanit. Panam.*, Agosto:123-133, 1974.
- DAVIES, E.A.; ROONEY, P.J.; COYLE, P.V.; SIMPSON, D.I.; MONTGOMERY, I.W.; STANFORD, C.F.- Hantavirus and Leptospira. *Lancet.*, **2**:460-461, 1988.
- DENETCLAW Jr., W.F. & DENETCLAW, T.H.- Is "South-west US mystery disease" caused by hantavirus?. *Lancet.*, **343**:53-54, 1994.
- DIGLISIC, G.; XIAO, S.; GLIGIC, A.; OBRADOVIC, M.; STOJANOVIC, R.; VELIMIROVIC, D.; LUKAC, V.; ROSSI, C.A.; LeDUC, J.W.- Isolation of a Puumala-like virus from *Mus musculus* captured in Yugoslavia and its association with severe Hemorrhagic Fever with Renal Syndrome. *J.Infect.Dis.*, **169**:204-207, 1994.
- DUCHIN, J.S.; KOSTER, F.T.; PETERS, C.J.; SIMPSON, G.L.; TEMPEST, B.; ZAKI, S.R.; KSIAZEK, T.G.; ROLLIN, P.E.; NICHOL, S.; UMLAND, E.T.; MOOLENAAR, R.L.; REEF, S.E.; NOLTE, K.B.; GALLAHER, M.M.; BUTLER, J.C.; BREIMAN, R.F. and THE HANTAVIRUS STUDY GROUP.- Hantavirus Pulmonary Syndrome: A clinical description of 17 patients with a newly recognized disease. *N.Eng.J.Med.*, **330**:949-955, 1994.

- DULL,S.M.; BRILLMAN,J.C.; SIMPSON,S.Q.; SKLAR,D.P.- Hantavirus Pulmonary Syndrome: recognition and emergency department management. **Ann.Emerg.Med.**,24:530-536,1994.
- ELISAF,M. & SIAMOPOULOS,K.C.- Pulmonary involvement in patients with patients with HFRS. **Chest**,107:588-589,1995.
- ELLIOTT,L.H.; KSIAZEK,T.G.; ROLLIN,P.E.; SPIROPOULOU,C.F.; MORZUNOV,S.; MONROE,M.; GOLDSMITH,C.S.; HUMPHREY,C.D.; ZAKI,S.R.; KREBS,J.W.; MAUPIN,G.; GAGE,K.; CHILDS,J.E.; NICHOL,S.T.; PETERS,C.J.- Isolation of the causative agent of Hantavirus Pulmonary Syndrome. **Am.J.Trop.Med.Hyg.**,51:102-108,1994.
- ENNIS,F.A.; CRUZ,J.; SPIROPOULOU,C.F.; WAITE,D.; PETERS,C.J.; NICHOL,S.T.; KARIWA,H.; KOSTER,F.T.- Hantavirus pulmonary syndrome: CD8+ and CD4+ cytotoxic T lymphocytes to epitopes on *Sin Nombre* virus nucleocapsid protein isolated during acute illness. **Virology**, 238(2):380-390,1997.
- ESSELINK,R.A.J.; GERDING,M.N.; BROUWERS,P.J.A.; SOLLEVED,H.; JORDANS,J.G.M.; GROEN,J.; OSTERHAUS,A.D.M.E.- Guillain-Barré syndrome associated with hantavirus infection. **Lancet**,343:180-181,1994.
- ESPINOZA,R.; VIAL,P.; NORIEGA,L.M.; JOHNSON,A.; NICHOL,S.T.; ROLLIN,P.E.; WELLS,R.; ZAKI,S.; REYNOLDS,E.; KSIAZEK,T.G.- Hantavirus Pulmonary Syndrome in a chilean patient with recent travel in Bolivia. **Emerg.Infect.Dis.**,4(1): January-March,1998.
- FARMER P.- Social inequalities and emerging infectious diseases. **Emerg. Infect.Dis.**,2:1-13,1996.
- FARR,W.R.- Leptospirosis. **Clin.Infect.Dis.**,21:1-8,1995.
- FORTHAL,D.N.; BAUER,S.P.; McCORMICK,J.B.- Antibody to hemorrhagic fever with renal syndrome viruses (hantaviruses) in the United States. **Am.J.Epidem.**,126: 1210-1213,1987.

- FRAMPTON,J.W.; LANSER,S.; NICHOLS,C.R.; ETTESTAD,P.J.- *Sin Nombre* virus infection in 1959. **Lancet**,**346**:781-782,1995.
- FRUGULHETTI,I.C.P.P.- Bunyaviridae-IN: Horto dos Santos Oliveira L.(ed.) **Virologia humana**, Rio de Janeiro, Cultura Médica (ed.), 1994. p:87-93.
- GADJUSEK,C.D.- Hemorrhagic Fever With Renal Syndrome. Introdução *IN*: Ho Wang Lee, Dalrymple,J.M.(ed.) - **Manual of hemorrhagic fever with renal syndrome**. WHO Collaborating Center for Virus Reference and Research - (Group of Hemorrhagic fever with renal syndrome)- Institute for Viral Diseases, Korea University,(ed.), 1989. p:3-5.
- GAN,S.; CHANG-SHOU,H.; XUE-ZHAO,Q.; DA-SHI,N.;HUA-XIN,L.; GUANG-ZHONG,G.; YONG-LIN,D.; JIAN-KUN,X.; YANG-SHEN,W.; JUN-NENG,Z.; BI-XIA,K.; ZHENG-SHUN,W.;ZHI-QUIANG,Z.; HONG-KAI,S.; NING,Z.- Etiologic studies of epidemic hemorrhagic fever (Hemorrhagic Fever with Renal Syndrome). **J.Infect.Dis.**, **147**:654-659,1983.
- GINSBERG,H.S.- Togaviruses, Flaviviruses, Bunyaviruses and Arenaviruses. *IN*: Dulbecco,R. & Ginsberg,H.S.(ed). -**Virology**. Lippincott Company, Philadelphia, (2a.ed), 1988. p:293-295.
- GONÇALVES,A.J.R.;ROZENBAUM,R.;VIEIRA,A.R.M.; CARVALHO,J.E.M.;GUEDES e SILVA,J.B.- Mudanças dos padrões clínicos e anatomopatológicos da leptospirose na cidade do Rio de Janeiro e Grande Rio. **J.B.M.**,**64**:127-137,1993.
- GONÇALVES,J.S.R.C.- O operário e o seu trabalho: O uniforme e o dissemelhante. *IN*:José Sérgio R.C.Gonçalves.(ed). - **Mão de obra e condições de trabalho na indústria automobilística do Brasil**. 1ed. São Paulo, HUCITEC, 1985. p.45-50.
- GONZALEZ,J.P.; McCORMICK,J.B.; BAUDON,D.; GAUTUN,J.P.; MEUNIER,D.Y.; DOURNON,E.; GEORGES,A.J.- Serological evidence for Hantaan-related virus in Africa. **Lancet**,**2**:1036-1037,1994.



- GONZALEZ-SCARANO,F. & NATHANSON,N. - Bunyaviruses. IN: Fields, B.N. & Knipe, D.M.(ed). - **Fields Virology**. New York, Raven Press,1990. p. 1213-1216.
- GONZALEZ-SCARANO,F.; ENDRES,M.J.; NATHANSON N.- Pathogenesis. Hantavirus genus. *IN*: Kolakofsky,D.(ed). - **Current Topics in Microbiology and Immunology**. Berlin, Springer-Verlag,1991. p.236-239.
- GRADY,D.- *Four Corners* disease, another virus comes of age. **Discover**, December: 83-91,1993.
- GRENDON,J.H. & GOLDOFT,M.J.- Discovery of hantavirus syndrome in Washington State. **Washington Public Health**,14:9-10,1996.
- GUANG,M.Y.; LIU,G.Z.; COSGRIFF,T.M.- Hemorrhage in Hemorrhagic Fever with Renal Syndrome in China. **Rev.Infect.Dis.**,II(Suppl.4):884-890,1989.
- 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.**,24:252-258,1996.
- HARLOW,E. & LANE,D.- Immunoassays. *IN*: Cold Spring Harbor Laboratory, (ed). - **Antibodies a Laboratory Manual** 1.ed. New York, Cold Spring Harbor, 1988. p.564-566,584,601.
- HJELLE,B.; JENISON,S.; TORREZ-MARTINEZ,N.; YAMADA,T.; NOLTE,K.; ZUMWALT,R.; MacINNES,K.; MYERS,G.- A novel hantavirus associated with an outbreak of fatal respiratory disease in the southwestern United States : Evolutionary relationships to known hantaviruses. **J.Virol.**,68:592-596,1994.
- HJELLE,B.; KROLIKOWSKI,J.; TORREZ-MARTINEZ,N.; CHAVEZ-GILES,F.;VANNER,C.; LAPOSATA,E.- Phylogenetically distinct hantavirus implicated in a case of Hantavirus Pulmonary Syndrome in the northeastern United States. **J.Med.Virol.**,46:21-27,1995.
- HJELLE,B.; LEE,S-W.; SONG,W.; TORREZ-MARTINEZ,N.; SONG,J-W.; YANAGIHARA,R.; GAVRILOVSKAYA,I.; MACKOW,E.R.- Molecular linkage of Hantavirus Pulmonary Syndrome to the white-footed mouse, *Peromyscus leucopus*: Genetic characterization of the M genome of New York Virus. **J.Virol.**, 69:8137-8141,1995a.

- HJELLE,B.; TORREZ-MARTINEZ,N.; KOSTER,F.T.- Hantavirus pulmonary syndrome-related virus from Bolivia. **Lancet**,347:57,1996.
- HUKIC,M.; KURT,A.; TORTENSSON,S.; LUNDKVIST,A.; WIGER,D.; NIKLASSON,B.- Haemorrhagic fever with renal syndrome in north-east Bosnia. **Lancet**,347:56-57,1996.
- IVERSSON,L.B.- Febre Hemorrágica com Síndrome Renal: uma ameaça para as Américas?. **Rev.Saúde Publ.**, 17:332-335,1983.
- IVERSSON,L.B.; TRAVASSOS DA ROSA,A.P.A.; ROSA,M.D.B.; LOMAR,A.V.; SASAKI,M.daG.M.; LEDUC,J.W.- Infecção humana por hantavirus no sul e sudeste do Brasil. **Rev.Ass.Med.Bras.**,40:85-92,1994.
- IVERSSON,L.B.; BRANQUINHO,M.S.; ROSA,M.D.B.- Inquérito sorológico para pesquisa de infecção por hantavirus em Juquitiba, Estado de São Paulo. *IV: XXXI Congresso da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical, São Paulo, 27 a 31 de março de 1995. Resumos. São Paulo. Rev.Soc.Bras.Med.Trop.*, 28(Suppl.1):183,1995a.
- IVERSSON,L.B.; SASAKI,M.G.M.S.; ROSA,M.D.B.; LeDUC,J.W.- Prevalência de infecção por hantavirus em portuários de Paranaguá, Estado do Paraná. *IV: XXXI Congresso da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical, São Paulo, 27 a 31 de março de 1995. Resumos. São Paulo. Rev.Soc.Bras.Med.Trop.*, 28(Suppl.1):184,1995b.
- JARDIM,B.N.M.; TORRES,V.B.H.R.; MUGAYAR-FILHO,J.; DALSTON,M.O.; SILVA,J.J.P.- Nova feição clínica da leptospirose : Casos internados no hospital Universitário Antonio Pedro-UFF. *IV: XXXI Congresso da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical, São Paulo, 27 a 31 de março de 1995. Resumos. São Paulo. Rev.Soc.Bras.Med.Trop.*, 28(Suppl.1):183,1995.
- JOHNSON,A.M.; BOWEN,M.D.; KSIASEK,T.G.; WILLIAMS,R.J.; BRYAN,R.T.; MILLS,J.N.; PETERS,C.J.; NICHOL,S.T.- *Laguna Negra* virus associated with HPS in western Paraguay and Bolivia. **Virology**,238:115-127,1997.
- KARIWA,H.; YOSHIKUMI,S.; ARIKAWA,J.; YOSHIMATSU,K.; TAKAHASHI,K.; TAKASHIMA,I.; HASHIMOTO,N.- Evidence for the existence of Puumala-related virus among *Clethrionomys Rufocamus* in Hokkaido, Japan. **Am.J.Trop.Med.Hyg.**,53:222-227,1995.

- KETAJ, L.H.; WILLIAMSON, M.R.; TELEPAK, R.J.; LEVY, H.; KOSTER, F.T.; NOLTE, K.B.; ALLEN, S.E.- Hantavirus Pulmonary Syndrome : radiographic findings in 16 patients. **Radiology**, **191**:665-668, 1994.
- KHAN, A.S.; KSIAZEK, T.G.; ZAKI, S.R.; NICHOL, S.T.; ROLLIN, P.E.; PETERS, C.J.; KHABBAZ, R.F.; CHEEK, J.E.; SHIRELEY, L.A.; McDONOUGH, S.L.; WELTY, T.K.; KUKLINSKI, D.- Fatal Hantavirus Pulmonary Syndrome in an adolescent. **Pediatr.**, **95**:276-280, 1995a.
- KHAN, A.S.; SPIROPOULOU, C.F.; MORZUNOV, S.; ZAKI, S.R.; KOHN, M.A.; NAWAS, S.R.; McFARLAND, L.; NICHOL, S.T.- A fatal illness associated with a new hantavirus in Louisiana. **J. Med. Virol.**, **46**:281-286, 1995b.
- KHAN, A.S.; KSIAZEK, T.G.; PETERS, C.J.- Hantavirus Pulmonary Syndrome. **Lancet**, **347**:739-741, 1996a.
- 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 U.S. cases. **J. Infect. Dis.**, **173**:1297-1303, 1996b.
- KIM, G.R. & McKEE Jr, K.T.- Pathogenesis of *Hantaan* virus infection in suckling mice: clinical, virologic and serologic observations. **Am. J. Trop. Med. Hyg.**, **34**:388-395, 1985.
- KIM, G.R.; LEE, Y.T.; PARK, C.H.- A new natural reservoir of hantavirus: isolation of hantaviruses from lung tissues of bats. **Arch. Virol.**, **134**:85-95, 1994.
- KINGSFORD, L.- Antigenic variance- *IV*: Kolakofsky, D.(ed.). **Current Topics in Microbiology and Immunology.**, Berlin, Springer-Verlag, 1991. p.211.
- KRIEGER, H.; MORTON, N.E.; MILM.P.; AZEVÊDO, E.; FREIRE-MAIA, A.; YASUDA, N.- Racial admixture in north-eastern Brazil. **Ann. Hum. Genet.**, **29**:113-125, 1965.

KSIAZEK,T.G.; PETERS,C.J.; ROLLIN,P.E.; ZAKI,S.; NICHOL,S.; SPIROPOULOU,C.; MORZUNOV,M.S.; FELDMANN,H.; SANCHEZ,A.; KHAN,A.S.; MAHY,B.W.J.; WACHSMUTH,K.; BUTLER,J.C.- Identification of a new north american hantavirus that causes acute pulmonary insufficiency. **Am.J.Trop.Med.Hyg.**,52:117-123,1995.

KULZER,P.; SCHAEFER,R.M.; HEIDBREDER,E.; HEIDLAND,A.- Haemorrhagic Fever with Renal Syndrome, 1993: endemic or unrecognized pandemic? **Lancet**,342:313,1993.

LÄHDEVIRTA,J.- The minor problem of hemostatic impairment in Nephropathia Epidemica, the mild Scandinavian form of Hemorrhagic Fever with Renal Syndrome. **Rev.Infect.Dis.**,II(Suppl.4):860-863,1989.

LAUTALA,P. & UHARI,M.- Epidemic Nephropathy in Children. **A.J.D.C.**,145:1181-1183,1991.

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.**,33:992-998,1984.

LeDUC,J.W.; SMITH,G.A.; PINHEIRO,F.P.; VASCONCELOS,P.F.C.; ROSA,E.S.T.; MAIZTEGUL,J.I.- Isolation of a Hantaan-related virus from brazilian rats and serologic evidence of its widespread distribution in South America. **Am.J.Trop.Med.Hyg.**, 34:810-815,1985.

LeDUC,J.W.; SMITH,G.A.; CHILDS,J.E.; PINHEIRO,F.P.; MAIZTEGUL,J.I.; NIKLASSON,B.; ANTONIADES,A.; ROBINSON,D.M.; KHIN,M.; SHORTRIDGE,K.F.P.; WOOSTER,M.T.; ELWELL,M.R.; ILBERY,P.L.T.; KOECH,D.; ROSA,E.S.T.; ROSEN,L.- Global survey of antibody to Hantaan-related viruses among peridomestic rodents. **Bull.World Health Organiz.**, 64:139-144,1986.

LeDUC,J.W.- Epidemiology of *Hantaan* and related virus. **Lab.Anim.Science.**,37: 413-418,1987.

LeDUC,J.W.- Epidemiology of hemorrhagic fever viruses. **Rev.Infect.Dis.**,II(Suppl.4): 730-735,1989.

- LEDERBERG,J.- Infection Emergent. **JAMA**,**275**:243-245,1996.
- LEE,H.W., LEE,P.W.; JOHNSON,K.M.- Isolation of the etiologic agent of Korean Hemorrhagic Fever. **J.Infect.Dis.**,**137**:298-308,1978.
- LEE,H.W.; LEE,P.W.; LÄHDERVIRTA,J.; BRUMMER-KORVENKONTIO,M.- Aetiological relation between Korean Haemorrhagic Fever and nephropathia epidemica. **Lancet**,**1**:186-187,1979.
- LEE,H.W.; BAEK,L.J.; JOHNSON,K.M.- Isolation of *Hantaan* virus, the etiologic agent of Korean Hemorrhagic Fever, from wild urban rats. **J.Infect.Dis.**,**146**:638-644,1982a.
- LEE, H.W.; JOHNSON,K.M.- Laboratory-acquired infections with *Hantaan* virus, the etiologic agent of Korean Hemorrhagic Fever. **J.Infect.Dis.**,**146**:645-651,1982b.
- LEE,H.W.- Hemorrhagic Fever with Renal Syndrome in Korea. **Rev.Infect.Dis.II**(Suppl.4):864-876,1989.
- LEE,M.; KIM,B-K.; KIM,S.; PARK,S.; HAN,J.S.; KIM,S.T.; LEE,J.S.- Coagulopathy in Hemorrhagic Fever with Renal Syndrome (Korean Hemorrhagic Fever). **Rev.Infect.Dis.**,**II**(Suppl.4):877-883,1989.
- LEE,P.W.; AMYX,H.L.; YANAGIHARA,R.; GAJDUSEK,D.C.; GOLDGABER,D.; GIBBSJr,C.J.- Partial characterization of *Prospect Hill* virus isolated from meadow voles in the United States. **J.Infect.Dis.**,**152**:826-829,1985a.
- LEE,P.W.; GIBBS Jr,C.J.; GAJDUSEK,D.C.;YANAGIHARA,R.- Serotypic classification of hantaviruses by indirect immunofluorescent antibody and plaque reduction neutralization tests. **J.Clin.Microbiol.**,**22**:940-944,1985b.
- LEE,P.W.- Immunofluorescent antibody technique *IN*: Lee,H.W.; Dalrymple,J.M.(ed.) - **Manual of hemorrhagic fever with renal syndrome**. WHO Collaborating Center for Virus Reference and Research - (Group of Hemorrhagic fever with renal syndrome)- Institute for Viral Diseases, Korea University, 1989. p.77-82.

- LEVINS,R.; EPSTEIN,P.R.; WILSON,M.E.; MORSE,S.S.; SLOOF,R.; ECKARDT,I.-  
Hantavirus disease emerging. **Lancet**,**342**:1292,1993.
- LEVIS,S.C.; BRIGGILER,A.M.; CACASS,M.; PETERS,C.J.; KSIAZEK,T.G.; CORTES,J.;  
LAZARO,M.E.; RESA,A.; ROLLIN,P.E.; PINHEIRO,F.P.; ENRIZ,D.- Emergence of  
Hantavirus Pulmonary Syndrome in Argentina. *IV:Program and Abstracts of the 44th.  
annual meeting of the American Society of Tropical Medicine and Hygiene. Hyatt  
Regency. San Antonio,Texas.November 17-21,1995. Abstracts. San Antonio, Texas.  
Am.J.Trop.Med.Hyg.*,**53**:233,1995.
- LEVIS,S; MORZUNOV,S.P.; ROWE,J.E.; ENRIA,D.; PINI,N.;  
CALDERON,G.;SABATTINI,M.; St.JEOR,S.C.- Genetic diversity and epidemiology  
of hantaviruses in Argentina. **J.Infect.Dis.**,**177**:529-538,1998.
- LEVY,H & SIMPSON,S.Q.- Hantavirus Pulmonary Syndrome.  
**Am.J.Resp.Crit.Care.Med.**,**149**:1710-1713,1994.
- LEWIS,R.M.; MORILL,J.C.; JAHRLING,P.B.; COSGRIFF,T.M.- Replication of  
hemorrhagic fever viruses in monocitic cells. **Rev.Infect.Dis.**,**II**(Suppl.4):  
736-742,1989.
- LL,D.; SCHMALJOHN,A.L.; SPIK,K.W.; ANDERSON,K.A.; SCHMALJOHN,C.S.-  
Molecular characterization of two *Four Corners* virus isolates: Evidence for  
reassortment in nature. *IV: Program and Abstracts of tha Joint Annual Meeting of the  
American Society of Tropical Medicine and Hygiene and the American Society of  
Parasitologist. The Hyatt Regency.Atlanta,Georgia. October 31-November 4,1993.  
Abstracts. Atlanta,Georgia. Am.J.Trop.Med.Hyg.*,**49**:93,1993.
- LL,D.; SCHMALJOHN,A.L.; SPIK,K.W.; ANDERSON,K.A.; SCHMALJOHN,C.S.-  
Molecular characterization of two *Four Corners* virus isolates : Evidence for  
reassortment in nature. **Am.J.Trop.Med.Hyg.**, **51**:93,1994.

- LI, Y.L.; RUO, S.L.; TONG, Z.; MA, Q.R.; LIU, Z.L.; YE, K.L.; ZHU, Z.Y.; McCORMICK, J.B.; FISHER-HOCH, S.P.; XU, Z.Y.- A serotypic study of hemorrhagic fever with renal syndrome in rural China. **Am.J.Trop.Med.Hyg.**, **52**:247-251, 1995.
- LIANG, M.; LI, D.; XIAO, S.-Y.; HANG, C.; ROSSI, C.A.; SCHMALJOHN, C.S.- Antigenic and molecular characterization of hantavirus isolates from China. **Virus Research.**, **31**:219-233, 1994b.
- LIMA, D.P.C. & SANTA ROSA, C.A.- Inquérito sorológico para leptospirose no Rio Grande do Norte. **Rev.Inst.Med.Trop.São Paulo.**, **16**:259-264, 1974.
- LOPES, N.; PADULA, P.; ROSSI, C.; FRANZE-FERNANDEZ, M.T.- Genetic identification of a new hantavirus causing severe pulmonary syndrome in Argentina. **Virology**, **220**:223-226, 1996.
- MARINER, J.C.; MORRILL, J.; KSIĄZEK, T.G.- Antibodies to hemorrhagic fever viruses in domestic livestock in Niger : Rift Valley Fever and Crimean-Congo Hemorrhagic Fever. **Am.J.Trop.Med.Hyg.**, **53**:217-221, 1995
- MARSHALL, E.- Hantavirus outbreak yields to PCR. **Science**, **262**:832, 834, 835, 836, 1993.
- MASCARENHAS-BATISTA, A.V.; TORRES-MORALES, A.E.; PEREIRA-SILVA, J.L. - Síndrome pulmonar por hantavírus. **J.Pneumol.**, **21**:314-318, 1995.
- MASCARENHAS-BATISTA, A.V.; TRAVASSOS DA ROSA, E.S.; KSIĄZEK, T.G.; TRAVASSOS DA ROSA, A.P.A.; LeDUC, J.W.; PINHEIRO, F.; TAVARES-NETO, J.- Anticorpos anti-hantavírus em escolares de Salvador, Bahia. **Rev.Soc.Bras.Med.Trop.**, **31**: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.**, **1**:765-768, 1982.
- MILLS, J.N.; KSIĄZEK, T.G.; ELLIS, B.A.; ROLLIN, P.E.; NICHOL, S.T.; YATES, T.L.; GANNON, W.L.; 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. **Am.J.Trop.Med.Hyg.**, **56**:273-284, 1997.

- McKEE,K.T.; KIM,G.R.; GREEN,D.E.; PETERS,C.J.- *Hantaan* virus infection in suckling mice : Virologic and pathologic correlates. **J.Med.Virol.**,17:107-117,1985.
- McKEE,K.T.; LeDUC,J.W. ; PETERS,C.J.- Hantaviruses *IN*: Belshe, R.B.(ed). **Textbook of human virology**. (2.ed). St. Louis, Mosby Year Book, 1991. p:615-632.
- McKENNA,P.; CLEMENT,J.; McCAUGHEY,C.; COYLE,P.- Wild rats : a vector of hantavirus disease(HVD) in N. Ireland? *IN*: Program and Abstracts of the Joint Annual Meeting of the American Society of Tropical Medicine and Hygiene and the American Society of Parasitologist. The Hyatt Regency,Atlanta,Georgia. October 31-November 4, 1993. Abstracts. Atlanta, Georgia. **Am.J.Trop.Med.Hyg.**,49:183-184,1993.
- MEDEIROS,R.; CRESCENTE,J.A.B.; CHENG,I.; BRANDÃO,F.F.; DE CRISTO,R.N.T.; LOPES,M.L.; HINRICHSEN,S.L.; CLEMENT,J.- Doença por hantavírus em pacientes com suspeita clínica de leptospirose em Belém-Pará. *IN*: IX Congresso Brasileiro de Infectologia. 25 a 29 de Agosto de 1996. Pernambuco-Recife. Resumos. Recife,1996. p.162.
- MEEGAN,J.M. & LeDUC,J.W.- Enzyme immunoassays *IN*: Who Collaborating Center for Virus Reference and Research - (Group Hemorrhagic Fever with Renal Syndrome)- Institute for Viral Diseases, Korea University, (ed.) - **Manual of Hemorrhagic Fever with Renal Syndrome**. WHO Collaborating Center for Virus Reference and Research, Korea, 1988. p.83-87.
- MILLER,M.J.- Viral taxonomy. **Clin.Infect.Dis.**,21:279-280,1995.
- MILLS,J.N.; KSIAZEK,T.G.; ROLLIN,P.E.; NICHOL,S.T.; ELLIS,B.A.; YATES,T.L.; GANNON,W.L.; LEVY,C.E.; ENGELTHALER,D.M.; DAVIS,T.; TANDA,D.; FRAMPTON,W.- Distribution and prevalence of antibody reactive with *Sin Nombre* virus among rodents in the major habitat types in the southwestern United States. *IN*: Program and Abstracts of the 44th. annual meeting of the American Society of Tropical Medicine and Hygiene. Hyatt Regency. San Antonio,Texas.November 17-21,1995. Abstracts. San Antonio, Texas. **Am.J.Trop.Med.Hyg.**,53:231-232,1995.



- MILLS,J.N.;CHILDS,J.E.- Ecologic studies of rodent reservoirs: their relevance for human health. **Emerg.Infect.Dis.**,4:529-537,1998.
- MOOLENAAR,R.L.; DALTON,C.; LIPMAN,H.B.; UMLAND,E.T.; GALLAHER,M.; DUCHIN,J.S.; CHAPMAN,L.; ZAKI,S.R.; KSIAZEK,T.G.; ROLLIN,P.E.; NICHOL,S.; CHEEK,J.E.; BUTLER,J.C.; PETERS,C.J.; BREIMAN,R.F.- Clinical features that differentiate Hantavirus Pulmonary Syndrome from three other acute respiratory illnesses. **Clin.Infect.Dis.**,21:643-649,1995.
- MORZUNOV,S.P.; FELDMANN,H.; SPIROPOULOU,C.F.; SEMENOVA,V.A.; ROLLIN,P.E.; KSIAZEK,T.G.; PETERS,C.J.; NICHOL,S.T.- A newly recognized virus associated with a fatal case of Hantavirus Pulmonary Syndrome in Louisiana. **J.Virol.**,69:1980-1983,1995.
- MUSTONEN,J.; HELIN,H.; PIETILÄ,K.; BRUMMER-KORVENKONTIO,M.; HEDMAN,K.; VAHERÄ,A.; PASTERNAK,A.- Renal biopsy findings and clinicopathologic correlations in nephropathia epidemica. **Clin.Nephrol.**,41:121-126,1994.
- MUSTONEN,J.; PARTANEN,J.; KANERVA,M.; PIETILÄ,K.; VAPALAHTIO.; PASTERNAK,A.; VAHERÄ,A.- Genetic susceptibility to severe course of nephropathia epidemica caused by *Puumala* hantavirus. **Kidney International**,49:217-221,1996.
- NERURKAR,V.R.; SONG,J.; SONG,K.; NAGLE,J.W.; HJELLE,B.; JENISON,S.; YANAGIHARA,R.- Genetic evidence for a hantavirus enzootic in deer mice (*Peromyscus maniculatus*) captured a decade before the recognition of Hantavirus Pulmonary Syndrome. **Virology**,204:563-568,1994.
- NIKLASSON,B.; HORNFELDT,B.; MULLAART,M.; SETTERGREN,B.; TKACHENKO,E.; MYASNIKOV,Y.A.; RYLTCOVA,E.V.; LESCHINSKAYA,E.; MALKIN,A.; DZAGUROVA,T.- An epidemiologic study of hemorrhagic fever with renal syndrome in Bashkortostan (Russia) and Sweden. **Am.J.Trop.Med.Hyg.**,48: 670-675,1993.

- NIKLAASSON,B.; HELLSTEN,G.; LEDUC,J.- Hemorrhagic Fever with Renal Syndrome : a study of sequelae following nephropathia epidemica. **Arch.Virol.**,**137**:241-247,1994.
- NIKLAASSON,B.; HORNFEJDT,B.; LUNDKVIST,A.; BJORSTEN,S.; LEDUC,J.- Temporal dynamics of *Puumala* virus antibody prevalence in voles and of nephropathia epidemica incidence in humans. **Am.J.Trop.Med.Hyg.**,**53**: 134-140,1995.
- NOWOTNY,N.- Serologic studies of domestic for potential human pathogenic virus infections from wild rodents. **Zentralbl.Bakt.**,**198**:452-461,1996.
- NUTILM.; AMADDEU,D.; CROVATTO,M.; GHIONNA,A.; POLATO,D.; LILLINI,E.; PIZZUS,E.; SANTINI,G.F.-Infections in an alpine environment: antibodies to Hantaviruses, Leptospira, Rickettsiae and *Borrelia Burgdorferi* in defined italian populations. **Am.J.Trop.Med.Hyg.**,**48**:20-25,1993.
- O.M.S.- Report of the working group on Haemorrhagic Fever with Renal Syndrome. Manila, Philippines. **O.M.S.**, 1982. 13p.(Report of the Regional Office for the Western Pacific).
- O.M.S.- Relatório de las investigaciones sobre la Fiebre Hemorrágica con Síndrome Renal (Fiebre Hemorrágica de Korea, Nefropatía epidémica) en el Brasil. Washington. **O.P.A.S.**, 1983. 7p.
- O.M.S.- Fiebres hemorrágicas víricas. Ginebra. **O.M.S.**, 1985a. 132p.(Série de Informes Técnicos,721).
- O.M.S.- Global survey of antibody to Hantaan-related viruses among peridomestic rodents.**O.P.A.S.** 1985b. 13p.
- O.M.S.- Virosis transmitidas por artrópodos y roedores.Ginebra. **O.M.S.**,1985c. 126p. (Serie de Informes Técnicos 719).
- O.M.S.- Zoonosis y enfermedades comunes al hombre y a los animales-Fiebre Hemorrágica con síndrome renal. **O.P.A.S.**, 1992a. 989p. (Publicação científica 505).

- O.M.S.- Material for the Belém Symposium, Brazil Hemorrhagic fever vaccines for human. Washington. **O.P.A.S.**, 1992b. 6p.(Fax )
- OKUNO,Y.; YANISHI,K.; TAKAHASHI,Y.; TANISSHITA,O.; NAGAI,T.; DANTAS Jr.,J.R.; OKAMOTO,Y.; TADANO,M.; TAKAHASHI,M.- Haemagglutination-inhibition test for Haemorrhagic Fever with Renal Syndrome using virus antigen prepared from infected tissue culture fluid. **J.gen.Virol.**,**67**:149-156,1986.
- OLIVEIRA,H.S.L.- Introdução ao estudo dos vírus-*IN*. Horto dos Santos Oliveira L.(ed.) **Virologia humana**, Rio de Janeiro, Cultura Médica (ed.), 1994. p:1-3.
- PAPADIMITRIOU,M.- Hantavirus nephropathy. **Kidney International**,**48**:887-902,1995.
- PATZ,J.A.; EPSTEIN,P.R.; BURKE,T.A.; BALBUS,J.M.- Global climate change and emerging infectious diseases. **JAMA**,**275**:217-223,1996.
- PETER,J.B.; PATNAIK,M.; GÖTT,P.; WEINS,B.; SOUW,P.T.S.- Antibodies to different strains of hantavirus in end stage renal disease in USA and Japan. **Lancet**,**343**:181,1994.
- PINI,N.C.; RESA,A.; LAIME,G.; LECOT,G.; KSIASEK,T.G.; LEVIS,S.; ENRIA,D.A.- Hantavirus infection in children in Argentina. **Emerg. Infect. Dis.**, **4**(1):s.n., January-March,1998.
- PINTO,A.A.; SANTA ROSA,C.A.; SADATSUNE,T.; FLEURY,G.C.- Comparative study between complement fixation and microscopic agglutination tests for leptospiral diagnosis. **Rev.Inst.Med.Trop.São Paulo**,**16**:28-31,1974.
- PLYUSNIN,A.; VAPALAHTI,O.; LANKINEN,H.; LEHVÄSLAIHO,H.; APEKINA,N.; MYASNIKOV,Y.; KALLIO-KOKKO,H.; HENTTONEN,H.; LUNDKVIST,A.; BRUMMER-KORVENKONTIO,M.; GAVRILOVSKAYA,I.; VAHERI,A.- *Tula*-virus : a newly detected hantavirus carried by European common voles. **J.Virol.**,**68**:7833-7839,1994.

- PLYUSNIN,A.; VAPALAHTIO,O.; LEHVÄSLAIHO,H.; APEKINA,N.; MIKHAILOVA,T.; GAVRILOVSKAYA,I.; LAAKKONEN,J.; NIEMIMAA,J.; HENTTONEN,H.; BRUMMER-KORVENKONTIO,M.; VAHERLA.- Genetic variation of wild *Puumala* viruses within the serotype, local rodent populations and individual animal. **Virus Research**,**38**:25-41,1995.
- PRINGLER,C.R.-The Bunyaviridae and their genetics. *IN*: Kolakofsky,D.(ed). **Current Topics in Microbiology and Immunology**, Berlin, Springer-Verlag, 1991. p.3.
- PROCHODA,K.; MOSTOW,S.R.; GREENBERG,K.; PHARM,D.- Hantavirus-associated acute respiratory failure. **N.Engl.J.Med.**,**329**:1744,1993.
- QUIMBY,F.W.- Zoonotic implications of Hantaan- like viruses: An introduction. **Lab.Anim.Science**,**37**:411-412,1987.
- RAJ,P.- Classification of medically important viruses II: RNA viruses. **Clin.Microb.Newsletter**,**16**:132-133,1994.
- RAWLINES,J.A.; TABONY,L.J.; HUNT,P.R.; REGNER,G.D.- Surveillance for hantavirus antibody in Texas rodents. *IN*: Program and Abstracts of the 44th. annual meeting of the American Society of Tropical Medicine and Hygiene. Hyatt Regency. San Antonio,Texas. November 17-21,1995. Abstracts. San Antonio, Texas. **Am.J.Trop.Med.Hyg.**,**53**:232,1995.
- REBIBOU,J.M.; KIESTERMAN,J.P.; CERCUEIL,J.P.; TANTER,Y.; PORTIER,H.; RIFLE,G.; CHEVET,D.- Papillary necrosis: a late complication of nephropathia epidemica?. **Clin.Nephrol.**,**48**:263-265,1997.
- RIBEIRO,A.F.; GUARNIERI,C.E.; CARNAÚBA,E.L.; GUERRA,M.A.T.- O Instituto de Infectologia Emilio Ribas(IFER) como hospital sentinela de doenças infecciosas na Grande São Paulo. *IN*: EPID 95. Epidemiologia III Congresso Brasileiro. II Congresso Ibero-Americano. I Congresso Latino-Americano. 1a.Mostra de Tecnologia em Epidemiologia-EPITEC. Salvador-Bahia,Brasil. 24 à 28 de Abril,1995. Resumos. Bahia, 1995. p.262.

- ROLLIN,P.E.; KSIAZEK,T.G.; ELLIOT,L.H.; RAVKOV,E.V.; MARTIN,M.L.; MORZUNOV,S.; LIVINGSTONE,W.; MONROE,M.; GLASS,G.; RUO,S.; KHAN,A.S.; CHILDS,J.E.; NICHOL,S.T.; PETERS,C.J.- Isolation of *Black Creek Canal* virus, a new hantavirus from *Sigmodon hispidus* in Florida. **J.Med.Virol.**,**46**:35-39,1995a.
- ROLLIN,P.E.; BOWEN,M.D.; KARIWA,H.; SALUZZO,J-F.; GUERARD,S.; FLECHAIRE,A.; COUDRIER,D.; SUREAU,P.; PETERS,C.J.; NICHOL,S.T.- Short report: Isolation and partial characterization of a *Puumala* virus from a human case of nephropathia epidemica in France. **Am.J.Trop.Med.Hyg.**,**52**:577-578,1995b.
- ROLLIN,P.E.; KSIAZEK,T.G.; ZAKI,S.R.; NICHOL,S.T.; PETERS,C.J.- Hantavirus Pulmonary Syndrome in Germany. **Lancet.**,**347**:1416-1417,1996.
- ROMANO-LIEBER,N.; IVERSSON,L.B.; FONSECA,B.A.L.; ROSA,E.S.T.- Serological survey to hantaviruses in ecological reserve on Ribeira Valley, São Paulo. *IN*: 5a.VIROLOGICA 95. Encontro de , Ribeirão Preto, 26 - 29 de Novembro,1995. Resumos. Ribeirão Preto,1995a. Resumo A 47.
- ROMANO-LIEBER,N.S.; IVERSSON,L.B.; FONSECA,B.A.L.; TRAVASSOS DA ROSA,E.S.- Infecção humana por hantavírus em área da estação ecológica de Jureia-Itatins, Vale do Ribeira, SP. *IN*: XXXI Congresso da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical, São Paulo, 27 - 31 de março de 1995. Resumos. São Paulo. **Rev.Soc.Bras.Med.Trop.**,**28**(Suppl.1):184,1995b.
- 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. **J.Infect.Dis.**,**170**:527-534,1994.
- SALUZZO,J.F.; DIGOUTTE,J.P.; ADAM,F.; BAUER,S.P.; McCORMICK,J.B.- Serological evidence for Hantaan-related virus infection in rodents and man in Senegal. **Trans.Royal Soc.Trop.Med.Hyg.**,**79**:874-875,1985.

- SANTA ROSA,C.A.; MAGALHÃES,M.; SULTZER,C.R.;LIMA C.A.- Human leptospirosis caused by serotype *Alexi* in Brazil. **Rev.Inst.Med.Trop.São Paulo**,15:38-42,1973.
- SCHMALJOHN,C.S.; HASTY,S.E.; HARRISON,S.A.; DARYMPLE,J.M.- Characterization of *Hantaan* virions, the prototype virus of Hemorrhagic Fever with Renal Syndrome. **J.Infect.Dis.**, 148:1005-1012,1983.
- SCHMALJOHN,C.S. & PATTERSON,J.L.-Bunyaviridae and their replication-Part II//: Fields B.N., Knipe D.M. (ed.).**Virology**. New York, Raven Press, 1990. p.1175-1190.
- SCHMALJOHN C. & HJELLE B. - Hantaviruses: A global disease problem. **Emerging Infectious Diseases**,3: 95-104, 1997.
- SCHREIBER,M.; LAUE,T.; WOLFF,C.- Hantavirus Pulmonary Syndrome in Germany. **Lancet**,347:336-337,1996.
- SHOPE,R.E.; BRANT,W.; CALISHER,C.H.; CASALS,J.; HENCHAL,E.; KARABATSOS,N.; KNUDSON,D.; KSIAZEK,T.; LEDUC,J.; PEPIK,P.; ROEHRIG,J.; TESH,R.B.- Report of the Subcommittee on InterRelationships among catalogued arboviruses (SIRACA). **Arthropod-Borne Virus Information Exchange**, p.1, December,1994.
- SILBERBERG L.; ROLLIN P.E.; KEROUANI G.; COURDRIER D.- Haemorrhagic fever with renal syndrome and pregnancy: a case report. **Trans.Royal Soc.Trop.Med.Hyg.**,87:65,1993.
- SILVA,J.J.P.; PAIVA,L.M.; GUEDES e SILVA,J.B.;ALVES NETTO,B.- Estudo do comprometimento pulmonar na Doença de Weil. **Rev.Inst.Med.Trop.São Paulo**,18:387-392,1976.
- SIMONSEN,L.; SCHMIDT,M.J.; HENNESEY,T.; UMLAND,E.; SEWELL,M.; ROLLIN,P.E.; PETERS,C.J.; KSIAZEK,T.G.; BREIMAN,R.- Is there a mild course of hantaviral illness?. **Am.J.Epid.**,139:82,1994.
- SIMPSON,S.Q. ; HALLIN,G.W.- A routine viral illness or hantavirus infection?. **J.Resp.Dis.**,15:943-953,1994.

- SINNOTT IV, J.T.; GREENE, J.N.; KIM, E.; GOMPT, S.- Hantavirus: an old bug learns new tricks. **Infect. Contr. Hosp. Epid.**, **14**:661-664, 1993.
- SLAMA, T.G. & ZON, R.- Fatal Hantavirus Pulmonary Syndrome in Indiana. **N.Eng.J.Med.**, **330**:1010, 1994.
- SMETANA, Z.; MENDELSON, E.; SOUPAEV, Z.; SMETANA, S.S.- Serological survey of hantavirus in chronic hemodialysis patients. **Clin.Nephrology**, **42**:203-204, 1994.
- SONG, J.-W.; BAEK, L.-J.; GADJUSEK, D.C.; YANAGIHARA, R.; GAVRILOVSKAYA, I.; LUFT, B.J.; MACKOW, E.R.; HJELLE, B.- Isolation of pathogenic hantavirus from white-footed mouse (*Peromyscus leucopus*). **Lancet**, **344**:1637, 1994.
- STONE, R.- The mouse-piñon nut connection. **Science**, **262**:833, 1993a.
- STONE, R.- A Rogues' gallery of hantaviruses. **Science**, **262**:835, 1993b.
- SUGIYAMA, K.; MATSUMURA, Y.; MORITA, C.; SHIGA, S.; AKAO, Y.; KOMATSU, T.; KITAMURA, T.- An immune adherence assay for discrimination between etiologic agents of Hemorrhagic Fever with Renal Syndrome. **J.Infect.Dis.**, **149**:67-73, 1984.
- TALLER, A.M.; XIAO, S.-Y.; GODEC, M.S.; GLIGIC, A.; AVSIC-ZUPANC, T.; GOLDFARB, L.G.; YANAGIHARA, R.; ASHER, D.M.- *Belgrade* virus, a cause of Hemorrhagic Fever with Renal Syndrome in the Balkans, is closely related to *Dobrava* virus of field mice. **J.Infect.Dis.**, **168**:750-753, 1993.
- TAVARES-NETO J.- **Estudo soro-epidemiológico do vesiculovírus Piry na população e entre os membros das famílias nucleares, em Catolândia-Bahia.** Riberão Preto, Universidade de São Paulo, 1992. [Tese de Doutorado] 254p.
- TAVARES-NETO, J.; ANDRADE, J.; HOFER, E.; OLIVEIRA, G.F.; COUTO-JUNIOR, A.- Frequência de aglutininas para leptospira observadas em habitantes de Uberaba, Minas Gerais. **Rev.Soc.Bras.Med.Trop.**, **29**:55-58, 1996.
- TENÓRIO, J.; HINRICHSEN, S.L.; CLEMENT, J.; TENÓRIO, E.; FARIA, C.; FREITAS, B.; MOURA, I.M.F.; BEZERRA, J.; GUIMARÃES, P.; RAMOS, S.- Doença por hantavírus : Relato de dois casos. *IN: IX Congresso Brasileiro de Infectologia. 25 a 29 de Agosto de 1996. Pernambuco-Recife. Resumos. Recife, 1996. p.166.*

- TESH,R.B.; FISH,D.; GERBER,M.A.; MAGNARELLI,L.A.; FEDER,H.M.; SHAPIRO,E.D.- Serological evidence of rural/suburban hantavirus transmission in native rodents and humans from Connecticut and New York. **Am.J.Trop.Med.Hyg.**,51(Suppl.3):94-95,1994.
- TKACHENKO,E.A.; DZAGUROVA,T.K.; LESHCHINSKAYA,E.V.; ZAGIDULIN,I.M.; USTJUGOVA,I.M.; GASANOVA,T.A.; REZAPKIN,G.V.; MIASNIKOV,J.A.- Serological diagnosis of Haemorrhagic Fever with Renal Syndrome in european region of U.S.R.R. **Lancet.**,2:1407,1982.
- 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.; WUN-JU,S.; MEYER,R.; TAPIA,M.; MANSILLA,C.; BARO,M.;VERGARA,J.A.; CONCHA,M.; CALDERON,G.; ENRIA,D.; PETERS,C.J.; KSIASEK,T.G.- An outbreak of hantavirus pulmonary syndrome, Chile,1997. **Emerg.Infect.Dis.**,4(4):s.n., October-December,1998.
- TORRES-MORALES,A.E.; TAVARES-NETO,J.; TRAVASSOS DA ROSA, E.; TRAVASSOS DA ROSA, A.- Seroprevalencia de anticuerpos anti-hantavirus en Salvador-Bahia, Brasil. *IV: Resumos do V Congresso Latinoamericano de Medicina Tropical, Havana-Cuba,1997.* p.135.
- TORREZ-MARTINEZ,N. & HJELLE,B.- Enzootic of *Bayou* hantavirus in rice rats (*Oryzomys palustris*) in 1983. **Lancet**,346:780-781,1995.
- TORREZ-MARTINEZ,N.; BHARADWAJ,M.; GOADE,D.; DELURY,J.; MORAN,P.; HICKS,B.; NIX,B.; DAVIS,J.L.; HJELLE,B.- Bayou virus-associated Hantavirus Pulmonary Syndrome in eastern Texas: Identification of the rice rat, *Oryzomys palustris*, as reservoir host. **Emerg.Infect.Dis.**,4(1), prelo, 1998.
- TRAVASSOS DA ROSA,E.S.; VASCONCELOS,P.F.C.; TAVARES-NETO,J.; TRAVASSOS DA ROSA,J.F.S.; RODRIGUES,S.G.; GOES,A.C.; TRAVASSOS DA ROSA,A.P.A.- Prevalence of antibodies to hantaviruses in Salvador, Bahia, Brazil. *IV: XXXI Congresso da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical, São Paulo, 27 a 31 de março de 1995. Resumos. São Paulo.Rev.Soc.Bras.Med.Trop.*,28(Suppl.1):185,1995.



- TSAI,T.F.; BAUER,S.P.; SASSO,D.R.; McCORMICK,J.B.; BRADFORD,H.; CARAWAY,C.T.; McFARLAND,L.M.- Preliminary evidence that *Hantaan* or a closely related-virus is enzootic in domestic rodents. **N.Eng.J.Med.**,**307**: 623-625,1982.
- TSAI,T.F.; TANG,Y.W.; HU,S.L.; YE,K.L.; CHEN,G.L.; XU,Z.Y.- Hemagglutination-inhibiting antibody in Hemorrhagic Fever with Renal Syndrome. **J.Infect.Dis.**,**150**:895-898,1984.
- TSAI,T.F.; BAUER,S.P.; SASSO,D.R.; WITHFIELD,S.G.; McCORMICK,J.B.; CARAWAY,T.C.; McFARLAND,L.; BRADFORD,H.; KURATA,T.- Serological and virological evidence of a Hantaan virus-related enzootic in the United States. **J.Infect.Dis.**,**152**:126-136,1985.
- TSAI,T.F.- Hemorrhagic Fever with Renal Syndrome : Clinical aspects. **Lab.Anim.Science.**,**37**:419-427,1987a.
- TSAI,T.F.- Hemorrhagic Fever with Renal Syndrome : Mode of transmission to humans. **Lab.Anim.Science.**,**37**:428-430,1987b.
- TURELL,M.J.; KORCH,G.W.; ROSSI,C.A.; SESLINE,D.; ENGE,B.A.; DONDERO,D.V.; JAY,M.; LUDWIG,G.V.; LI,D.; SCHMALJOHN,C.S.; JACKSON,R.J.; ASCHER,M.S.- Short report : Prevalence of hantavirus infection in rodents associated with two fatal human infections in California. **Am.J.Trop.Med.Hyg.**,**52**: 180-182,1995.
- VASCONCELOS,P.F.C.; TRAVASSOS DA ROSA,E.S.; TRAVASSOS DA ROSA,A.P.A.; TRAVASSOS DA ROSA,J.F.S.- Evidence of circulating hantaviruses in Brazilian Amazonia through high prevalence of antibodies in residents of Manaus, Brazil. **Ciência e Cult.**,**44**:162-163,1992.
- VITEK,C.R.; BREIMAN,R.F.; KSIAZEK,T.G.; ROLLIN,P.E.; McLAUGHLIN,J.C.; UMLAND,E.T.; NOLTE,K.B.; LOERA,A.; SEWELL,C.M.; PETERS,C.J.- Evidence against person-to-person transmission of hantavirus to health care workers. **Clin.Infect.Dis.**,**22**:824-826,1996.

- WALKER,E.; PINKERTON,I.W.; GRAHAM,LL.- Scottish case of Haemorrhagic Fever with Renal Syndrome. **Lancet**,2:982,1984.
- WEISSENBACHER,M.C.; MERANI,,M.S.; HODARA,V.L.; VILLAFASE,G.; GAJDUSEK,D.C.; CHU,Y.K. & LEE,H.W.- Hantavirus infection in laboratory and wild rodents in Argentina. **Medicina (B.Aires)**, 50:43-46, 1990.
- WELLS,R.M.; ESTANI,S.S.; YADON,Z.E.; ENRIA,D.; PADULA,P.; PINI,N.; MILLS,J.N.; PETERS,C.J.; SEGURA,E.L. and The Hantavirus Pulmonary Syndrome Study Group for Patagonia.- An unusual Hantavirus outbreak in Southern Argentina: person-to-person transmission?. **Emerg. Infect. Dis.**,3:171-174,1997a.
- WELLS,R.M.; YOUNG,J.; WILLIAMS,J.; ARMSTRONG,L.R.; BUSICO,K.; KHAN,A. S.; KSIASEK,T.G.; ROLLIN,P.E.; ZAKI,S.R.; NICHOL,S.T.; PETERS,C.J.- Hantavirus transmission in the United States. **Emerg.Infect.Dis.**,3(3):s.n.,July-September,1997b.
- WENZEL,R.P.- A new hantavirus infection in North America.**N.Engl.J.Med.**,330: 1004-1005,1994.
- WHITE,J.D. & SHIREY,F.G.- *Hantaan* virus, aetiological agent of Korean Haemorrhagic Fever, has Bunyaviridae-like morphology. **Lancet.**, April 3:768-771,1982.
- WILLIAMS,R.J.; BRYAN R.T.; MILLS J.N.; PALMA,R.E.; VERA,I.; DE VELASQUEZ,F.- An outbreak of hantavirus pulmonary syndrome in Western Paraguay. **Am.J.Trop.Med.Hyg.**,57:274-282,1997.
- WILSON,M.L.; TESH,R.B.; FISH,D.; GERBER,M.A.; MAGNARELLI,L.A.; FEDER,H.M.; SHAPIRO,E.D.- Serological evidence of rural/suburban hantavirus transmission in native rodents and humans from Connecticut and New York. *IN: Program and Abstracts of the Joint Annual Meeting of the American Society of Tropical Medicine and Hygiene and the American Society of Parasitologist. The Hyatt Regency. Atlanta, Georgia. October 31-November 4,1993. Abstracts. Atlanta, Georgia. Am.J.Trop.Med.Hyg.*,49:94-95,1993.

- WU,T-N.; CHIN,C.; SHEN,C-Y.; CHANG,P-Y.- Hantavirus infection in Taiwan. **Lancet**,**347**:770-771,1996.
- XIAO,S-Y.; LEDUC,J.W.; CHU,Y.K.; SCHMALJOHN,C.S.- Phylogenetic analyses of virus isolates in the Genus Hantavirus, Family Bunyaviridae. **Virology**,**198**: 205-217,1994.
- YANAGIHARA,R.; CHIN,C.T.; WEISS,M.B.; GAJDUSEK,D.C.; DIWAN,A.R.; POLAND,J.B.; KLEEMAN,K.T.; WILFERT,C.M.;MEIKLEJOHN,G.; GLEZEN,W.P.- Serological evidence of *Hantaan* virus infection in the United States. **Am.J.Trop.Med.Hyg.**,**34**:396-399,1985.
- YANAGIHARA,R.; DAUM,C.A.; LEE,P.W.; BAEK,L.J.; AMYX,H.L.; GAJDUSEK,D.C.; GIBBS Jr.,C.J.- Serological survey of *Prospect Hill* virus infection in indigenous wild rodents in the U.S.A. **Trans.Royal Soc.Trop.Med.Hyg.**,**81**:42-45,1987.
- YANAGIHARA,R.- Hantavirus infection in the United States: Epizootiology and Epidemiology. **Rev.Infect.Dis.**,**12**:449-457,1990.
- YNTERIAN,C.G.- Hantavirus: perigo nos laboratórios. **InterNews.**, Ano XI,**85**:1,1995.
- YOSHIMATSU,K.; ARIKAWA,J.; OHBORA,S.; ITAKURA,C.- Hantavirus infection in SCID mice. **J.Vet.Med.Sci.**,**59**:863-868,1997.
- ZAKI,S.R.; ALBERS,R.C.; GREER,P.W.; COFFIELD,L.M.; ARMSTRONG,L.R.; KHAN,A.S.; KHABBAZ,R.; PETERS,C.J.- Retrospective diagnosis of a 1983 case of fatal Hantavirus Pulmonary Syndrome. **Lancet**,**343**:1037-1038,1994.
- ZAKI,S.R.; GREER,P.W.; COFFIELD,L.M.; GOLDSMITH,C.S.; NOLTE,K.B.; FOUCAR,K.; FEDDERSEN,R.M.; ZUMWALT,R.E.; MILLER,G.L.; KHAN,A.S.; ROLLIN,P.E.; KSIAZEK,T.G.; NICHOL,S.T.; MAHY,B.W.J.; PETERS,C.J.- Hantavirus Pulmonary Syndrome. Pathogenesis of an emerging infectious disease. **Am.J.Pathol.**,**146**:552-579,1995.

- ZAKI,S.R. & SHIEH,W-J. and the Epidemic Working Group at Ministry of Health in Nicaragua, Pan American Health Organisation.- Leptospirosis associated with outbreak of acute febril illness and pulmonary haemorrhage, Nicaragua,1995. **Lancet**,**347**:535-536,1996.
- ZAPAROLI,M.A.; IVERSSON,L.B.; ROSA,M.D.; TRAVASSOS DA ROSA,E.; PEREIRA,L.E.; ROLLIN,P.; PETERS,C.J.- Investigation on case contacts of human disease caused by hantavirus in Jucitiba, state of São Paulo,Brazil. *IN*:Program and Abstracts of the 44th. annual meeting of the American Society of Tropical Medicine and Hygiene. Hyatt Regency. San Antonio,Texas. November 17-21,1995. Abstracts. San Antonio, Texas. **Am.J.Trop.Med.Hyg.**,**53**:232-233,1995.
- ZEITZ,P.S.;BUTLER,J.C.; CHEEK,J.E.; SAMUEL,M.C.; CHILDS,J.E.; SHANDS,L.A.; TURNER,R.E.; VOORHEES,R.E.; SARISKY,J.; ROLLIN,P.E.; KSIASEK,T.G.; CHAPMAN,L.; REEF,S.E.; KOMATSU,K.K.; DALTON,C.; KREBS,J.W.; MAUPIN,G.O.; GAGE,K.; SEWELL,C.M.; BREIMAN,R.F.; PETERS, C.J.- A case-control study of Hantavirus Pulmonary Syndrome during an outbreak in the Southwestern United States. **J.Infect.Dis.**,**171**:864-870,1995.
- ZOELLER,L.; YANG,S.; GOETT,P.; BAUTZ,E.K.F.; DARI,G.- Use of recombinant nucleocapsid proteins of the *Hantaan* and nephropathia epidemica serotypes of hantaviruses as immunodiagnostic antigens. **J.Med.Virol.**,**39**:200-207,1993.

## ***9. ANEXOS***

**FICHA DA PESQUISA DE ANTICORPOS ANTI-HANTAVÍRUS EM HOMENS DA CIDADE DE SALVADOR-BAHIA.**

1. No. na pesquisa :  /  /  / 1-3
2. Grupos do estudo: 1-estivadores; 2-lixeiros; 3-doadores de sangue  
 /  / 4
- 3-doadores de sangue
3. Nome : \_\_\_\_\_
4. Idade ( anos )  /  / 5-6
5. Raça ( 1-Branca; 2-Mulata; 3-Negra; 4- Mestiça de índio)  /  / 7
6. Naturalidade ( cidade ) ( codificação posterior)  /  / 8-9  
(00- Salvador ; \_\_\_\_\_ )
7. Endereço : ( R. / Av. ) : \_\_\_\_\_  
Bairro: \_\_\_\_\_ Cidade: \_\_\_\_\_  
Ponto de referência : \_\_\_\_\_
8. Distrito sanitário de residência em Salvador:  /  / 10-11  
01-Centro Histórico; 02-Barra-Rio Vermelho;  
03-Boca do Rio; 04-Itapoã; 05-Cabula-Beiru;  
06-Pau da Lima; 07-Liberdade; 08-Subúrbio  
Ferroviário; 09-Itapagipe; 10-Cajazeiras;  
11-Brotas; 12-São Caetano - Valéria.
9. Telefone ( 0-amigo, vizinho, parente; 1-próprio;  /  / 12  
2-não tem ) No. casa: \_\_\_\_\_ Trabalho: \_\_\_\_\_
10. No. de anos de residência em área rural  /  / 13-14  
( fazendas, sítios e chácaras )? (98- < 1 ano)

11. No. de anos de residência em Capital / \_\_/\_\_/ 15-16

(Salvador e/ou outras)? (98- <1 ano)

12. No. de anos de residência em cidades do interior da / \_\_/\_\_/ 17-18

Bahia ou de outros estados? (98- <1 ano)

13. Já residiu em cidades de outros estados? / \_\_/ 19

(0-não; 1-região Norte; 2-outros estados da região

Nordeste; 3-da região Sudeste; 4-da região Sul;

5-da região Centro - Oeste; 6- em duas ou mais

regiões ( Quais? \_\_\_\_\_ )

14. Já residiu em outros países? / \_\_/\_\_/ 20-21

(00-não; \_\_\_\_\_) (codificação posterior)

15. Ocupação atual: \_\_\_\_\_ / \_\_/\_\_/ 22-23

( codificação posterior, **não utilizar termos vagos** )

16. Tempo da ocupação atual (anos) (00- menor de 1 ano) / \_\_/\_\_/ 24-25

17. Ocupações anteriores ( 00-não teve )

( codificação posterior, **não utilizar termos vagos** )

(assinale nos itens "a, b e c" as três com duração maior)

a. \_\_\_\_\_ / \_\_/\_\_/ 26-27

b. \_\_\_\_\_ / \_\_/\_\_/ 28-29

c. \_\_\_\_\_ / \_\_/\_\_/ 30-31

Outras: \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

18. No. de anos de estudo? ( 00 - < 1 ano ) /\_\_/\_\_/ 32-33
19. Reside em domicílio próprio ( 0-não; 1-sim ) /\_\_/ 34
20. Tipo de construção do domicílio /\_\_/ 35  
 ( 0-material descartável ou assemelhado; 1-adobe, tijolos  
 não - cozidos, taipa e outros materiais; 2-tijolos, sem  
 revestimento; 3-tijolos com todas as paredes revestidas)
21. Quantos vasos sanitários tem na sua casa? /\_\_/ 36
22. Quantos quartos ( dormitórios ) tem na casa? /\_\_/ 37
23. Tem luz elétrica? ( 0-não; 1-sim ) /\_\_/ 38
24. A água da sua casa é proveniente de: ( 0- de poço; /\_\_/ 39  
 1- de outra fonte; 2- encanada )
25. As “águas servidas” e do vaso sanitário da sua casa /\_\_/ 40  
 vão para onde? (0-vala na rua ou curso natural de água  
 próxima; 1-fossa; 2-esgoto; 9-NSI)
26. Qual a frequência semanal da coleta de lixo na sua rua? /\_\_/ 41
27. Tem depósito de lixo próximo à casa? ( 0-não; 1-sim ) /\_\_/ 42
28. No período das chuvas a sua rua fica alagada? /\_\_/ 43  
 ( 0-não; 1-sim )
29. A água das chuvas entra na sua casa? ( 0-não; 1-sim ) /\_\_/ 44
30. Tem quintal em sua casa? ( 0-não; 1-sim ) /\_\_/ 45
31. Sua rua é calçada ou asfaltada? ( 0-não; 1-sim ) /\_\_/ 46
32. Sua rua tem esgoto aberto ou valas? ( 0-não; 1-sim ) /\_\_/ 47
33. Quantos gatos tem na sua casa? ( 0-não tem ) /\_\_/ 48



34. Quantos cachorros tem na sua casa? ( 0-não tem ) /\_\_ / 49-50
35. Já observou ratos na sua casa, mesmo no quintal;  
 área de serviço ou comum a outros moradores? ( 0-não; 1-sim; 9-NSI ) /\_\_ / 51
36. Onde mora há ratos na rua? ( 0-não; 1-sim; 9-NSI ) /\_\_ / 52
37. História de contatos : ( 0-não; 1-sim; 9-NSI )
- a. Já exerceu alguma atividade, mesmo esportiva,  
 em contato com água doce, de córrego, riacho,  
 rio, açude, etc.? /\_\_ / 53
- b. Nesta atividade era possível contato, mesmo indireto,  
 com ratos? (Explique) /\_\_ / 54
- c. Já exerceu alguma atividade diretamente com a terra? /\_\_ / 55
- d. Já trabalhou no desmatamento de alguma área? /\_\_ / 56
- e. Já trabalhou na limpeza de valas, galerias,  
 esgotos, etc? /\_\_ / 57
- f. Já trabalhou em armazéns ou depósitos de /\_\_ / 58  
 alimentos, sementes, palhas, fibras ou assemelhados?
- g. Nestes locais tinha ratos? /\_\_ / 59
- h. Já trabalhou em locais de venda de alimentos? /\_\_ / 60
- i. Já exerceu alguma atividade, mesmo esportiva,  
 onde tem a certeza que havia ratos? /\_\_ / 61
- j. Já exerceu alguma atividade em locais /\_\_ / 62  
 onde se cria ratos ou outros animais?
- l. Já trabalhou (a) diretamente com lixo? /\_\_ / 63

- m. Visita regularmente fazendas, sítios, chácaras ou outros locais na zona rural? /\_\_ / 64
- n. Acampa frequentemente? /\_\_ / 65
38. Na sua casa tem quantas pessoas?
- > 12 anos /\_\_ /\_\_ / 66-67
- ≤12 anos /\_\_ /\_\_ / 68-69
39. Conhece alguma doença transmitida por rato? /\_\_ / 70
- Qual? \_\_\_\_\_
- ( 0-não sabe; 1-sim e errou; 2-sim e acertou )
40. Alguma pessoa da sua casa ( exceto o Sr.), ou vizinho, /\_\_ / 71
- já teve doença, com dores nas "batatas" das pernas, febre, dores no corpo, icterícia e urina com a cor alterada? ( 0-não; 1-sim; 9-NSI )
41. Alguma pessoa da sua casa ( exceto o Sr.), ou vizinho, /\_\_ / 72
- já teve leptospirose? ( 0-não; 1-sim; 9-NSI )
42. Alguma pessoa da sua casa ( exceto o Sr.), já esteve /\_\_ / 73
- internada em Hospital ( exceto as mulheres por parto ou outras intercorrências obstétricas). (0-não; 1-sim )
43. Alguma pessoa da sua casa ( exceto o Sr.) já esteve /\_\_ / 74
- internada em Hospital, porque apresentou falta de ar e febre, mas que não sofre de "asma" ( 0-não; 1-sim; 9-NSI )
44. Alguma pessoa da sua casa já esteve internada, /\_\_ / 75
- em Hospital, por apresentar infecção? ( 0-não; 1-sim; 9-NSI )
45. E ( exceto o Sr.) com problemas urinários e febre, /\_\_ / 76
- internado em Hospital? ( 0-não; 1-sim; 9-NSI )

46. E o Sr., já teve algum problema que precisou internação?  
( 0-não; 1-sim )

- a). Falta de ar e febre, mas que não era asma /\_\_/ 77
- b). Infecção /\_\_/ 78
- c). "Problemas urinários" e febre /\_\_/ 79
- d). Dores nas " batatas" das pernas, febre, /\_\_/ 80  
icterícia, urina com a cor alterada e dores no corpo
- e). Leptospirose /\_\_/ 81
- f). Outro, qual? \_\_\_\_\_ /\_\_/ 82  
\_\_\_\_\_

47. Data da coleta do sangue: \_\_\_\_\_

48. Título recíproco de sorologia para Hantavírus

IFI IgG /\_\_/\_/\_\_/ 83-86

IgM /\_\_/\_/\_\_/ 87-90

ELISA IgG /\_\_/\_/\_\_/ 91-94

IgM /\_\_/\_/\_\_/ 95-98

49. Título recíproco da soro-aglutinação /\_\_/\_/\_\_/ 99-102

para leptospirose.

**Sorovars :**

OBSERVAÇÕES:(assinale o No. do item) \_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_

Variáveis consideradas para determinação do nível socioeconômico (NSE) dos entrevistados e valores do score utilizado.

VARIAVEL	VALOR DO SCORE UTILIZADO
Distrito sanitário de residência em Salvador	D.S. 3, 9, 10, 11, 12 = 0 D.S. 1, 2, 4, 5, 6, 7, 8, = 1
Tem telefone: amigo, vizinho ou parente/próprio.	ñ-tem, amigo, vizinho, parente = 0 próprio = 1
Ocupação atual	ocupações ñ-qualificadas = 0
Ocupações anteriores 1	ocup. semi-qualificadas = 1
Ocupações anteriores 2	ocup. qualificadas = 2
Ocupações anteriores 3	
Número de anos de estudo	0 a 15 anos = 0 > 15 anos = 1
Reside em domicílio próprio?	ñão = 0 sim = 1
Tipo de construção do seu domicílio	material descart./adobe = 0 tijolo ñ-revestido/tijolo revest. = 2
Quantos vasos sanitários há em sua casa?	ñ-tem = 0 + de 1 = 1
Número de dormitórios/pessoas que moram no domicílio	> 4 = 0 < 4 = 1
Há luz elétrica?	Ñão tem = 0 sim tem = 1
A água da sua casa é proveniente de poço/outra fonte/encanada?	ñão sabe/poço/outra fonte = 0 encanada = 2
As "águas servidas" e do vaso sanitário da sua casa vão para onde?	ñão sabe/vala = 0 fossa = 1 esgoto = 2
Qual a frequência semanal da coleta de lixo na sua rua?	ñ-sabe = 0 1= 1; 2= 2, 3= 3 ...7=7
Há depósito de lixo próximo à casa?	ñ-sabe/ sim = 0 ñão tem = 1
No período das chuvas a sua rua fica alagada?	sim = 0 ñão = 1
A água das chuvas entra na sua casa?	sim = 0 ñão = 1
Sua rua é calçada ou asfaltada?	ñão = 0 sim = 1
Sua rua tem esgoto aberto ou valas?	sim = 0 ñão = 1

Quantidade em Peso (Tonelada) de lixo coletado por Distrito Sanitário/ Região Administrativa - Município de Salvador - 1995.

Distrito Sanitário	Região Administrativa	Lixo Coletado	Lixo Esperado (1)	Déficit/ Excesso
1. Centro Histórico	I	45.097,63	10.417,28	+34.680,35
2. Itapagipe	II	36.709,85	23.514,03	+13.195,82
3. SãoCaetano/ Valeria	III e XV	30.403,95	47.893,65	-17.489,70
4. Liberdade	IV	42.349,21	32.198,47	+10.150,74
5. Brotas	V	44.347,19	33.780,75	+10.566,44
6. Barra/Rio Vermelho/Pituba	VI, VII e VIII	102.580,01	50.979,36	+51.600,65
7. Boca do Rio	IX	24.352,97	13.710,49	+10.642,48
8. Itapoan	X	34.709,09	28.451,56	+6.257,53
9. Cabula/Beiru	XI e XII	46.153,23	54.466,94	-8.313,71
10. Pau da Lima	XIII	24.181,76	30.243,53	-6.061,77
11. Cajazeiras	XIV	16.602,02	32.544,67	-15.942,65
12. Suburb. Ferrov.	XIV	39.267,25	49.836,55	-10.569,30
TOTAL		486.754,16	408.037,33	78.716,83

+ Considerado Distrito Sanitário com maior nível econômico e ambiental.

- Considerado Distrito Sanitário com menor nível econômico e ambiental.

Fonte: LIMPURB

(1) Calculado a partir da média estimada de lixo produzido por pessoa/dia (0,0005 TON).

Obs.: A população utilizada teve como fonte a SECRETARIA MUNICIPAL DE SAÚDE - ASSESSORIA TÉCNICA - CIS (IBGE/SESAB/PM/CIS)

**Tabela 1.-** Dados demográficos da população estudada, segundo variáveis, número e frequência encontrada.

<b>Dados Gerais</b>	<b>Variáveis</b>	<b>n / (%)</b>
<b>Grupo de estudo</b>	garis	255(51,4)
	doadores	241(48,6)
<b>Idade (anos)</b>	mínima	18
	máxima	64
	mediana	32
	média	33,00
	desvio padrão	± 8,332
<b>Distribuição racial</b>	<b>branco</b>	<b>50(10,1)</b>
	<b>não-brancos</b>	<b>446(89,9)</b>
	mulato	317(71,1)
	negro	129(28,9)
<b>Naturalidade</b>	Salvador	301/496(60,7)
	Outras cidades da Bahia	170/496(34,3)
	Cidades do Nordeste	16/496(3,2)
	Cidades do Sudeste	8/496(1,6)
	Outros países	1(0,2)
<b>Distrito Sanitário de residência*</b>	+Centro Histór.	16(3,2)
	+Itapagipe	43(8,7)
	-São Caetano/Valéria	66(13,3)
	+Liberdade	51(10,3)
	+Brotas	34(6,9)
	+Barra	38(7,7)
	+Boca do Rio	5(1)
	+Itapoã	25(5)
	-Cabula/Beiru	65(13,1)
	-Pau da Lima	28(5,6)
-Cajazeiras/Periperi	106(21,4)	
-Sub.Ferroviár.	19(3,8)	
<b>Ocupação</b>	<b>Não Qualificados:</b>	<b>313(63,1)</b>
	Desempregado	1(0,3)
	Estudante	13(4,2)
	OcupPrim.Ñespecial+Gari	299(95,5)
	<b>Semi-qualificados:</b>	<b>63(12,7)</b>
	Ocupação Prim.Especializ	63(20,1)
	<b>Qualificados:</b>	<b>120(24,2)</b>
	Ocupação Secundária	107(89,1)
Ocupação Terciária	13(10,9)	

\*Fonte: LIMPURB e Secretaria Municipal de Saúde - Assessoria Técnica - CIS (IBGE/SESAB/PM/CIS).- nível de lixo esperado calculado a partir da média estimada de lixo produzido por pessoa/dia (0,0005 TON) - Anexo 9.

**Tabela 2.-** Dados demográficos da população estudada segundo variáveis, grupo de estudo, e frequência encontrada.

<b>Variáveis</b>	<b>Grupos de Estudo</b>	<b>Frequência</b>
<b>Idade média(anos)</b>	<b>garis</b>	35,52 (d.p.± 7,94)
	<b>doadores de sangue</b>	30,33 (d.p.± 7,90)
<b>Grupo racial</b>	<b>garis</b> branco	17(6,7%)
	não branco	238(93,3%)
	<b>doadores de sangue</b> branco	33(13,7%)
	não branco	208(86,3%)
<b>Naturalidade</b>	<b>garis</b> Salvador	154(60,4%)
	Outras cidades da Bahia	90(35,3%)
	Cidades do Nordeste	10(3,9%)
	Cidades do Sudeste	1(0,4%)
	Outros países	0(0)
	<b>doadores de sangue</b> Salvador	147(61%)
	Outras cidades da Bahia	80(33,2%)
	Cidades do Nordeste	6(2,5%)
	Cidades do Sudeste	7(2,9%)
	Outros países	1(0,4%)
<b>Distrito Sanitário de residência</b>	<b>garis</b>	
	DS Na menor	177(69,4%)
	DS Na maior	78(30,6%)
	<b>doadores de sangue</b>	
	DS Na menor	107(44,4%)
DS Na maior	134(55,6%)	
<b>Ocupação</b>	<b>garis</b>	255/496(51,4%)
	não qualificada	255(100%)
	<b>doadores de sangue</b> não qualificada	241/496(48,6%)
	semi-qualificada	59(24,5%)
	qualificada	62(25,7%) 120(49,8%)

**Tabela 3.-** Resultados dos soros testados e seus resultados pela técnica de Imunofluorescência Indireta para hantavírus *Hantaan* KHF (Protótipo), ELISA IgG para hantavírus “*Sin nombre*” (antígeno recombinante) e ELISA IgG para hantavírus *Seoul* (Protótipo) (antígeno de lise celular).

Teste Diagnóstico	Soros testados n	Resultado do Exame Sorológico		
		Reagente n (%)	Não- reagente n (%)	Inconclusivo n (%)
Imunofluorescência para hantavírus <i>Hantaan</i> KHF (Protótipo)	496	135(27,2)	361(72,8)	0
ELISA IgG para hantavírus “ <i>Sin nombre</i> ”- antígeno recombinante	496	1(0,2)	492(99,2)	3(0,6)
ELISA IgG para hantavírus <i>Seoul</i> (Protótipo)-antígeno de lise celular	496	2(0,4)	492(99,2)	2(0,4)



**Tabela 4.-** Nível socioeconômico (NSE) por grupos de estudo e por sorologias pelas técnicas de IFI IgG anti Hantaan e ELISA anti- “*Sin Nombre*” e anti *Seoul*.

NSE	NSE por Grupo de Estudo n(%)	NSE por IFI IgG anti- <i>Hantaan</i> n(%)	NSE por ELISA anti-“ <i>Sin Nombre</i> ” n(%)	NSE por ELISA anti- <i>Seoul</i> n(%)
<p><u>Score Geral:</u></p> <p>Score mínimo 5,28</p> <p>Score máximo 44,50</p> <p>Média do score 25,78 (d.p. ±7,73)</p>	<p><u>Gari</u></p> <p>n=255(51,4)</p> <p>NSE baixo 79(31)</p> <p>NSE médio 170(66,7)</p> <p>NSE alto 6(2,3)</p>	<p><u>IFI Positivos</u></p> <p>n=135(27,2)</p> <p>NSE baixo 13(9,6)</p> <p>NSE médio 82(60,7)</p> <p>NSE alto 40(29,6)</p>	<p>n=496(100)</p> <p><u>Soropositivo</u></p> <p>NSE médio 1(0,2%)</p> <p><u>Inconclusivo</u></p> <p>n=3(0,6)</p> <p>NSE baixo 2(66,7)</p> <p>NSE médio 1(33,3)</p> <p>NSE alto 0</p>	<p>n=496(100)</p> <p><u>Soropositivos</u></p> <p>NSE médio 2(0,4%)</p> <p><u>Inconclusivo</u></p> <p>n=2(0,4)</p> <p>NSE baixo 0</p> <p>NSE médio 1(0,5)</p> <p>NSE alto 1(0,5)</p>
<p><u>Por grupo de estudo</u></p> <p><u>Média do score</u></p> <p>Gari 156,53</p> <p>Doador de sangue 345,8</p>	<p><u>Doadores de sangue</u></p> <p>n= 241(48,6)</p> <p>NSE baixo 8(3,3)</p> <p>NSE médio 115(47,7)</p> <p>NSE alto 118(49)</p>	<p><u>IFI Negativos</u></p> <p>n=361(72,8)</p> <p>NSE baixo 74(20,5)</p> <p>NSE médio 203(56,2)</p> <p>NSE alto 84(23,3)</p>		
	x <sup>2</sup> =169,45 p< 0,00001	x <sup>2</sup> =8,55 p< 0,01387	Teste Fisher p< 0,236	Teste Fisher p< 0,879
<p><u>Por grupo de estudo e IFI</u></p> <p><u>Média do score</u></p> <p>IFI positivos 281,5</p> <p>IFI negativos 236,2</p>				

**Tabela 5.-** Soros positivos para leptospirose e para hantavírus, segundo frequência, diluição encontrada e suas relações com os testes específicos para hantavírus realizados.

Soro positivos para Leptospirose/diluição n=438	IFI IgG <i>Hantaan</i>	ELISA IgG p/ "SN"	ELISA IgG p/SEO
>1:200			
10(2,3%)	POSITIVOS	NEG	NEG

**Tabela 6.-** Resumo dos soros positivos para microaglutinação para leptospirose, segundo número do soro do amostrado, sorovar diagnosticado, diluição e total dos sorovares encontrados.

Microagl.p/Lepto/Diluição 1:200 Nº de amostra e sorovar encontrado	Microagl.p/Lepto/Diluição 1:400 Nº de amostra e sorovar encontrado	Microagl.p/Lepto/Diluição > 1:400 Nº de amostra e sorovar encontrado	Total de sorovares encontrados
Nº18 icterohaem.	Nº13 icterohaem.	Nº09 sentot + djasiman	icterohaemorr. 35
Nº40 icterohaem. + copenhageni	Nº25 patoc	Nº39 icterohaem. + copenhageni	sentot 14
Nº53 patoc + icterohaem. + copenhageni	Nº30 icterohaem. + copenhageni	Nº71 icterohaem.	copenhageni 11
Nº54 icterohaem.	Nº51 sentot	Nº108 icterohaem + patoc + copenhageni	djasiman 8
Nº58 djasiman	Nº56 icterohaem.	Nº109 icterohaem + copenhageni	patoc 4
Nº60 djasiman	Nº63 icterohaem + copenhagen	Nº125 icterohaem + copenhageni	panama 3
Nº102 icterohaem	Nº106 icterohaem	Nº143 icterohaem + copenhagen + canicol	canicola 1
Nº114 icterohaem	Nº107 icterohaem	Nº176 icterohaem	castelloni
Nº135 sentot + djasiman	Nº112 icterohaem + copenhageni		
Nº140 icterohaem	Nº122 patoc		
Nº147 djasiman	Nº128 sentot		
Nº151 icterohaem	Nº154 sentot		
Nº164 sentot + djasiman	Nº162 panama		
Nº165 sentot	Nº166 icterohaem		
Nº177 icterohaem	Nº167 sentot		
Nº188 icterohaem + castellonis	Nº189 icterohaem		
Nº211 djasiman	Nº209 sentot		
Nº212 icterohaem	Nº225 sentot		
Nº213 icterohaem	Nº249 icterohaem		
Nº221 icterohaem	Nº387* icterohaem		
Nº228 sentot + djasiman	Nº477* panama		
Nº229 icterohaem	Nº488* sentot		
Nº254 icterohaem			
Nº261* panama			
Nº263* sentot			
Nº272* sentot			
Nº302* icterohaem. + copenhageni			
Nº345* icterohaem.			
Total de amostras: 28	Total de amostras: 22	Total de amostras: 8	

\*Soros de doadores de sangue.