



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO  
CAMPUS UNIVERSITÁRIO DO ARAGUAIA  
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM IMUNOLOGIA E PARASITOLOGIA  
BÁSICAS E APLICADAS

CAROLINE BRANDÃO MONTEIRO

**INQUÉRITO SOROEPIDEMIOLÓGICO PARA HANTAVIROSE EM  
PACIENTES COM DOENÇA FEBRIL NA REGIÃO DO MÉDIO ARAGUAIA-  
MATO GROSSO**

BARRA DO GARÇAS

2015

CAROLINE BRANDÃO MONTEIRO

**INQUÉRITO SOROEPIDEMIOLÓGICO PARA HANTAVIROSE EM  
PACIENTES COM DOENÇA FEBRIL NA REGIÃO DO MÉDIO ARAGUAIA-  
MATO GROSSO**

Dissertação apresentado à Universidade Federal do Mato Grosso - Campus Universitário do Araguaia, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Imunologia e Parasitologia Básicas e Aplicadas, para obtenção do título de Mestre.

Orientador: Prof. Dr. Marcos Lázaro Moreli  
Co-orientador: Prof. Dr. Eduardo Luzia França

BARRA DO GARÇAS

2015

CAROLINE BRANDÃO MONTEIRO

**INQUÉRITO SOROEPIDEMIOLÓGICO PARA HANTAVIROSE EM  
PACIENTES COM DOENÇA FEBRIL NA REGIÃO DO MÉDIO ARAGUAIA-  
MATO GROSSO**

Dissertação apresentado à Universidade Federal do Mato Grosso - Campus Universitário do Araguaia, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Imunologia e Parasitologia Básicas e Aplicadas, para obtenção do título de Mestre..

Orientador: Prof. Dr. Marcos Lázaro Moreli  
Co-orientador: Prof. Dr. Eduardo Luzia França

APROVADA: 23 de Fevereiro de 2015.

---

Professor Dr. Eduardo Luzia França  
Membro interno – Co orientador - UFMT/CUA

---

Professora Dra. Paula Cristina de Souza Souto  
Membro interno - UFMT/CUA

---

Professor Dr. Cleber Douglas Lucinio Ramos  
Membro externo – UFG/ReJ

Especialmente dedicado à principal pessoa em minha vida, minha mãe, sei que essa conquista é nossa!

Às minhas queridas irmãs Katharine e Kamile.

Ao meu namorado Ian.

“Que os vossos esforços desafiem as impossibilidades, lembrai-vos de que as grandes coisas do homem foram conquistadas do que parecia impossível.”

Charles Chaplin

“A paciência é amarga, mas seu fruto é doce.”

Jean Jacques Rousseau

## AGRADECIMENTOS

Nesta etapa da minha vida onde mais um ciclo se encerra, eu gostaria de agradecer imensamente a minha família por todo apoio, disciplina, dedicação e cuidado que tiveram comigo desde sempre, nunca me senti desamparada principalmente pela minha mãe Marilene Fernandes Brandão e pelas minhas irmãs Katharine Brandão Monteiro e Kamile Brandão Monteiro, sei que quando preciso é sempre em vocês que eu recorro. Vocês são meu refúgio. O meu obrigado ao meu querido namorado Ian Gurkewicz Nunes por ter tanta paciência e me ajudar sem medir esforços, nesses últimos 4 anos, mesmo quando eu realmente estou nervosa, sem deixar de me fornecer palavras de alívio e incentivo. Amo muito vocês.

Meu agradecimento especial ao meu orientador Prof. Dr. Marcos Lázaro Moreli pelos ensinamentos e oportunidade de conhecer um ambiente totalmente novo o qual eu me encantei, por todo seu esforço, mesmo que a distância. Não poderia deixar de agradecer também à sua esposa Mônica e sua filha Melissa.

Agradeço também ao meu co-orientador Prof Dr Eduardo Luzia França por tudo que me ensinou durante o mestrado e por colaborar com esse projeto desde o início prontamente. Agradeço à sua esposa Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Adenilda Cristina Honório França que nunca deixou de esclarecer qualquer dúvida que eu tivesse ao longo desse período. Fizeram e fazem muito por mim.

Aos professores que disponibilizaram seu tempo para participar da minha banca Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Paula Cristina de S. Souto e o Prof. Dr. Cleber Douglas Lucinio Ramos que em meio a tantos compromissos estiveram presente, mesmo com os imprevistos de última hora e agradeço Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Aline C. França Botelho por estar prontamente disponível quando precisei. Vocês me proporcionaram um conhecimento ao longo dos anos nessa área que me encantei.

Aos meus queridos amigos do mestrado que mesmo à distância, levarei todos nos meus pensamentos com muito carinho e sinceramente sentirei muito

a falta de vocês, das nossas conversas, risadas, discussões na biblioteca sobre a matéria, sobre projetos futuros, vocês transformaram meu mestrado muito mais divertido e, além disso, aprendi muito com vocês: Déborah, Renan, Arthur, Elisângela, Leonardo, Rubian, Larissa.

Também a todos os meus amigos e pessoas que torceram por mim nessa longa caminhada até o presente momento, seja em Jataí GO, em Barra do Garças MT, em Palmas TO, Osasco SP, Juazeiro CE e Vilhena RO, os meus sinceros agradecimentos, em especial à minha pequena Valentina, minha afilhada que sempre alegra as minhas idas à Jataí.

A todos do Laboratório Hospitalar Milton Pessoa Morbeck pela ajuda e empenho, principalmente à bioquímica Larissa Nascimento e a enfermeira Mariana Braga, e claro, não poderia deixar de agradecer imensamente aos pacientes e seus responsáveis que colaboraram com o projeto cedendo amostra.

Meus sinceros agradecimentos aos colaboradores e todos os professores da Universidade Federal do Mato Grosso – Campus Universitário do Araguaia, por tudo que me proporcionaram nesses anos de mestrado, incluindo os laboratórios do prof. Dr Eduardo e da profª Adenilda o laboratório da relação materno-infantil e o fisiotox. Agradeço imensamente aos professores e colaboradores da Universidade Federal de Goiás – Regional Jataí que mesmo depois de formada, fui muito bem recebida por todos e me ajudaram com os experimentos, incluindo o laboratório de Virologia - UFG. Agradeço ao professor da UFG - Jatai Ms Vivaldo Gomes por ter me ensinado as técnicas e procedimentos para que esse trabalho pudesse se concretizar e desde o começo não mediu esforços para que fosse realizado.

À coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) juntamente com a FAPEMAT (Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado do Mato Grosso) pela bolsa de estudo concedida e que foi crucial para minha permanência na cidade de Barra do Garças.

## LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

CID - Coagulação Intravascular Disseminada

DENV - Vírus Dengue

ELISA - Testes Imunoenzimáticos / Enzyme-Linked Immunosorbent Assay

EPI's - Equipamentos De Proteção Individual

FAP - Fator Ativador Plaquetário

FC - Fixação Do Complemento

FcRn - Receptores Neonatais de Fc

FHSR - Febre Hemorrágica com Síndrome Renal

FUNASA - Fundação Nacional de Saúde

HIV - Vírus da Imunodeficiência Humana

IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística

IC - Intervalo de Confiança

IFN- $\gamma$  - Interferon Gama

IgG - Imunoglobulina G

IgM - Imunoglobulina M

IH - Inibição Da Hemaglutinação

IL1 - Interleucina Um

LCT - Leucotrienos

MHC - Complexo Principal de Histocompatibilidade

PA – Pará

PCR – Reação em Cadeia Polimerase

PVC - Pressão Venosa Central

RNA - Ácido Ribonucléico

RT-PCR - Reação em Cadeia Polimerase - Transcrição Reversa

SCPH - Síndrome Cardiopulmonar por Hantavírus

SIRA - Síndrome de Insuficiência Pulmonar do Adulto por Vírus Hantaan

SN - Soro Neutralizado

TCLE - Termo de Consentimento Livre e Esclarecidos

TNF - Fator De Necrose Tumoral

UFG – Universidade Federal de Goiás

UFMT – Universidade Federal de Mato Grosso

USP – Universidade de São Paulo

## LISTAS DE FIGURAS

<b>QUADRO 1</b> – NORMAS E PROCEDIMENTOS LABORATORIAIS PARA CASOS CONFIRMADOS DE HANTAVIROSE .....	35
<b>FIGURA 1</b> – LOCALIZAÇÃO DA ÁREA DE ESTUDO, EM DESTAQUE O MUNÍCIOPIO DE BARRA DO GARÇAS NO MÉDIO ARAGUAIA MT .....	36
<b>FIGURA 2</b> – ALGORITMO DE PROCESSAMENTO DAS AMOSTRAS DE SORO COM ANTICORPO ANTI-HANTAVÍRUS.....	38
<b>FIGURA 3</b> – PLACA DE ELISA COM AMOSTRAS DE SORO.....	40
<b>TABELA 1</b> – FICHA DE EXMES LABORATORIAIS COMPARADOS COM VALORES DE REFERENCIA .....	41
<b>GRÁFICO 1</b> – PERFIL DE RELAÇÃO ENTRE OS SINTOMAS APRESENTADOS PELOS PACIENTES ENTREVISTADOS .....	44
<b>GRÁFICO 2</b> –RELAÇÃO DE PACIENTES QUE APRESENTAM SOROLOGIA POSITIVA PARA HANTVIRUS SEPARADO POR GENEROS.....	45
<b>TABELA 1</b> – PERFIL DE RELAÇÃO ENTRE PACIENTES POSITIVOS DE ACORDO COM O SEXO .....	45
<b>TABELA 2</b> – PERFIL DE RELAÇÃO ENTRE PACIENTES POSITIVOS E NEGATIVOS DE ACORDO COM A IDADE .....	46
<b>TABELA 3</b> – PERFIL DE RELAÇÃO ENTRE PACIENTES POSITIVOS DE ACORDO COM ALTERAÇÕES EM EXAMES CLÍNICOS .....	47

## RESUMO

O Estado de Mato Grosso tem sofrido extenso desmatamento e alterações do meio ambiente para usar a terra como cultivo de monoculturas como soja e milho, além de receber a intensa migração de trabalhadores de outras partes do país para trabalhar nessas plantações, estes fatores contribuíram para agravos de problemas de saúde relacionados a vetores e hospedeiros silvestres como a hantavirose, que pode se manifestar de duas maneiras: a Febre Hemorrágica com Síndrome Renal (FHSR) e a Síndrome Cardiopulmonar por Hantavírus (SCPH), contudo no Brasil a SCPH é a predominante devido a associação com roedores Sigmodontíneos. A transmissão se dá através de aerossóis provenientes da excreta desses roedores silvestres. O objetivo do estudo foi de realizar um inquérito sorológico para hantavírus em moradores da região do Médio Araguaia em amostras de fase aguda coletadas de pacientes febris. Foi utilizado teste sorológico ELISA para identificação de hantavirozes, além de um hemograma completo do indivíduo. Foram coletadas 209 amostras de soro, foi aplicado o método ELISA *in house* para determinar anticorpos IgM e IgG em amostras de pacientes febris para identificar hantavirus, houve uma soroprevalência de 7%, sendo o sexo feminino o mais atingido e nessa faixa, criança e idosos são os mais acometidos e descritos sintomas como cefaléia, náuseas/vômitos, diarreia, dores no corpo em geral e em seus exames laboratoriais uma discreta anemia, baixa quantidade de hemácias, hemoglobinas e diminuição na taxa do hematócrito e uma elevada quantidade de leucócitos, principalmente de células segmentadas.

**Palavras-chaves:** hantavirozes, soropidemiologia, zoonoses, síndrome cardiopulmonar por hantavírus

## ABSTRACT

The State of Mato Grosso has suffered extensive deforestation and changes in the environment to use the land as cultivation of crops like soybeans and corn, in addition to receiving the intense migration of workers from other parts of the country to work on these plantations, these factors contributed to injuries health problems related to vectors and wild hosts such as hantavirus, which can manifest itself in two ways: Hemorrhagic Fever with Renal Syndrome (HFRS) and hantavirus cardiopulmonary syndrome (SCPH), however in Brazil SCPH is the predominant due the association with Sigmodontíneos rodents. Transmission is via aerosols from the excreta of these wild rodents. The aim of the study was to perform a serologic survey for hantavirus in residents of the Middle Araguaia region in acute phase samples from febrile patients. EL was used serological test for hantaviruses identification, and a complete blood count of the individual. 209 serum samples were collected, we used the ELISA method in house to determine IgM and IgG antibodies in samples from febrile patients to identify hantavirus, there was a prevalence of 7%, the female and the most affected in this range, child and elderly are the most affected and described symptoms such as headache, nausea / vomiting, diarrhea, body aches in general and in their laboratory tests a slight anemia, low number of red blood cells, hemoglobin and hematocrit decrease in rate and a high amount of leukocytes, mainly of targeted cells.

**Keywords:** hantaviruses, seroepidemiology, zoonoses, cardiopulmonary syndrome hantavirus.

## SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO .....	14
2. OBJETIVOS .....	19
2.1 OBJETIVO GERAL .....	19
2.2 OBJETIVO ESPECÍFICO.....	19
3. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA .....	20
3.1. INTRODUÇÃO HANTAVÍRUS .....	20
3.2. TRANSMISSÃO .....	23
3.3. ASPECTOS CLÍNICOS E LABORATORIAIS .....	24
3.4. EPIDEMIOLOGIA.....	27
3.5. SINTOMATOLOGIA.....	29
3.6. TRATAMENTO .....	31
3.7. PROFILAXIA.....	33
4. METODOLOGIA E ESTRATÉGIA DE AÇÃO .....	36
4.1. LOCAL DO ESTUDO .....	36
4.2.DELINEAMENTO DO PROJETO, ASPECTOS ÉTICOS E BIOSSEGURANÇA.....	37
4.3. COLETA DAS AMOSTRAS E ESTOCAGEM.....	37
4.4. VÍRUS, PROTEÍNA N RECOMBINANTE DO VÍRUS ARARAQUARA ....	38
4.5. INQUÉRITO SOROEPIDEMIOLÓGICO PARA HANTAVÍRUS .....	39
4.5.1.ELISA PARA HANTAVÍRUS UTILIZANDO A PROTEÍNA N DO HANTAVÍRUS ARARAQUARA.....	39
4.6. ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	42
5. RESULTADOS.....	43
6. DISCUSSÃO.....	48

7. CONCLUSÕES.....	51
REFERÊNCIAS .....	52
APÊNDICE A .....	57
APÊNDICE B .....	60

## 1 INTRODUÇÃO

O espectro de infecções causadas por vírus variam desde uma doença febril branda até casos mais graves com quadros hemorrágicos e envolvimento do sistema nervoso central e meningite (VASCONCELOS, 2003; VASCONCELOS et al 2003). Em sua grande totalidade, o homem é hospedeiro acidental para a maioria das viroses emergentes, com exceção do DENV, para o qual se constitui no hospedeiro principal (PINHEIRO et al, 1997). Hantavírus são os vírus transmitidos por roedores que possuem maior significância na saúde pública mundial, principalmente na Ásia, onde são estimados cerca de 150.000 a 200.000 casos a cada ano (CUONG et al 2015).

De uma forma geral, as infecções virais podem evoluir para quatro formas clínicas: a doença febril, doença febril com exantema, febre hemorrágica e encefalite (FIGUEIREDO et al 2007; VASCONCELOS, 2005). Essas manifestações são em sua maioria inespecíficas e comuns entre as viroses, dificultando o diagnóstico diferencial clínico (VASCONCELOS, 2005; FIGUEIREDO et al 2007). Frequentemente, as viroses em humanos são classificadas como dengue, já que o DENV é o agente mais comumente associado à doença febril (OLIVEIRA, 2008).

Viroses emergentes são geralmente de origem antropogênica e podem invadir novas regiões causando epidemias, esse fator se deve ao fato das modificações na composição genética viral ou nos reservatórios naturais, na composição da dinâmica da população de vetores ou ambientes. Em alguns casos, os surtos de viroses emergentes podem estar relacionados a pequenas mudanças no material genético ou a introdução de novas variedades virais (ARAÚJO, 2011).

O estado de Mato Grosso apresenta 10% do território nacional, constituído em 50% ao norte pelo bioma amazônico, 40% pelo bioma do cerrado e em 10% pelo bioma pantaneiro ao sul. Neste ecossistema diversificado, há grande disponibilidade de espécies de vetores, animais silvestres e domésticos, além de humanos habitando áreas rurais e urbanas, susceptíveis e com status imunitário pouco conhecido ou totalmente desconhecido a estes agentes, podendo servir de hospedeiros para inúmeras viroses (IBGE, 2011).

O Mato Grosso sofre extenso desmatamento e alterações do meio ambiente para usar a terra como cultivo de monoculturas como soja e milho. O estado recebeu a grande migração de trabalhadores de outras partes do país. Estes fatores contribuíram para agravos de problemas de saúde diretamente relacionados a vetores e hospedeiros silvestres como a hantavirose (FERREIRA, 2003).

Os Hantavírus constituem um gene viral que possuem material genético formador de RNA. A transmissão se dá através de aerossóis oriundos da excreta desses roedores silvestres. Atualmente mais de 1.390 casos já foram reportados em diversas regiões do país com 39% de letalidade, predominante as regiões sul, sudeste e centro-oeste. De 1999 a agosto de 2010, 206 casos de hantavirose foram reportados no centro-oeste brasileiro com letalidade de 43% no estado de Mato Grosso. Quando os seres humanos são infectados com hantavírus podem ocasionar dois tipos de quadros clínicos distintos, a Febre Hemorrágica com Síndrome Renal (FHSR) e a Síndrome Cardiopulmonar por Hantavírus (SCPH), contudo, no Brasil a SCPH é a predominante devido a associação com roedores Sigmodontíneos (FERREIRA, 2003).

Já foram identificados mais de 300 vírus diferentes pertencem à família *Bunyaviridae*, que são agregados em 4 grupos: *Bunyavirus* (espécie tipo: Bunyamwera), *Hantavirus* (Hantaan), *Nairovirus* (vírus da febre hemorrágica do Congo e da Criméia) e *Phlebovirus* (febre dos flebótomos da Sicília) sendo que além disso, cada gênero ainda possui vários sorotipos (FIGUEIREDO et al 2001). Vários exemplares de roedores são conhecidos por transmitirem a humanos inúmeros patógenos responsáveis pela morbidade e mortalidade, graças a sua distribuição mundial (HIMSWORTH et al 2015). A realização de inquéritos é de grande importância em diferentes localidades para avaliar o grau de dispersão e contato com este vírus na região de Mato Grosso (FERREIRA, 2003).

Acontece ao homem quando ele expande seus territórios em áreas de mata ou florestas onde estejam infestadas dos vetores, além de modificações provocadas a partir de desmatamentos, construções de represas e hidrelétricas, aglomerações humanas com mínimas qualidades de saneamento, urbanização não planejada, limpezas de salões ou estabelecimentos rurais fechados há muito tempo, estocagem de feno, enfim, várias alterações são

associadas a essas epidemias emergentes criando cada vez mais reservatórios virais, tendo em vista que o Brasil, em sua extensão favorece a todas elas. As principais características que elas manifestam são febre, mialgias, cefaléia, tonturas, náuseas e vômitos, podendo evoluir para casos mais graves. Atualmente são consideradas de importância devido aos problemas de saúde globais/regionais com grande taxa de mortalidade e/ou morbidade. Ainda não há um tratamento específico para as enfermidades, casos mais graves devem ser levados para tratamento intensivo, incluindo medidas terapêuticas e o paciente deve repousar.

Hantavirose é conhecida por ser uma doença multifatorial, onde os fatores que influenciam vão desde a distribuição dos reservatórios até a exposição do hospedeiro com o roedor, esses são os pontos críticos na ocorrência da doença, incluem-se também o uso da terra associada a atividades agrícolas, florestas e pastagens, relacionadas com a densidade de roedores na região e a densidade populacional e as condições de vida no geral que favorecem o contato humano com os roedores e seus excrementos, resultando no aumento de infecções (FANG et al 2015).

Os sinais e sintomas da hantavirose se assemelham a diversas outras viroses por serem doenças endêmicas febris agudas. Assim, faz-se necessário uma investigação especial das manifestações e atendimento rápido, prosseguindo para melhor diferenciação viral a partir de técnicas moleculares evitando que qualquer doença de origem infecciosa seja confundida com outra doença de mesmos aspectos. Por terem as manifestações clínicas parecidas, ocorrem ocultações de doenças menos endêmicas, no caso da dengue, muitas vezes seus índices podem sobressair ao seu real valor de incidência. São preocupantes também pelo grande poder endêmico e uma alta taxa de mortalidade, quando afetam uma região, várias pessoas ficam doentes e muitas vêm a óbito, ainda mais se a quantidade de vetores for alta.

Com o passar dos anos foram identificadas inúmeras viroses indiferenciadas do tipo febris agudas (FIGUEIREDO et al. 2008). Consequentemente, os métodos de diagnóstico laboratoriais são de extrema importância na identificação acurada dessas viroses que possuem amplo espectro clínico (BRONZONI et al. 2004). Entretanto, apesar de na maioria das

vezes ser necessário a confirmação das doenças febris agudas por métodos laboratoriais, na prática observa-se que durante as explosivas epidemias, os casos tendem a serem diagnosticados, apenas mediante dados clínicos e epidemiológicos. Porém, posto isto, existe maior risco de falsos diagnósticos.

A mortalidade através de choque causado por hantavirose é alta, afirma-se que a região genética MHC faz uma associação ao controle da liberação do TNF (Fator de Necrose Tumoral) como alelo hipersecretor, assim há a presença de altos níveis de TNF, este tem participação no choque cardiogênico que ocorre em casos de SCPH, atuando como depressor das funções miocárdicas (FIGUEIREDO, 2000).

É relatada uma alta endemicidade de pessoas infectadas na China, enquanto que a letalidade varia entre 0,1% a 15%, dependendo do tipo hantavírus que acomete a região e das características apresentadas por cada indivíduo (FANG et al 2015). Um estudo realizado em Vancouver no Canadá evidenciou a presença do vírus Seoul em 1,45% nas amostras de soro dos roedores que foram testados. Sugerindo uma influência ecológica devido ao estilo de vida da população e a densidade populacional (HIMSWORTH et al 2015). Estudos como o de Cuong e colaboradores (2015) evidenciaram no Vietnã uma soropositividade para hantavirose em humanos de 2,9% para o vírus Seoul e de 1,6% para o vírus Dobrava, sugerindo a circulação de mais de um tipo viral de hantavírus, os resultados que obtiveram em seu trabalho indicam a ação de baixo a moderado níveis de circulação de hantavírus propondo uma possível circulação viral nos roedores que funcionam como reservatórios. Também pode ser explicado devido ao fato dessa região haver o consumo de roedores por humanos na alimentação diária, aumentando a exposição entre hospedeiro e o vetor.

Estudos sorológicos demonstraram que a infecção viral por hantavírus na região centro oeste do Paraguai parece ser frequente, principalmente na população indígena, com infecções anteriores em torno de 40% dessa população, a soroprevalência permanecia aumentada conforme a idade também aumentava (66% prevalência em indígenas idosos). Em sua maior parte, os soropositivos não têm uma história clínica pregressa de hantavirose.

No estado da Filadélfia, nos Estados Unidos da América foram relatados surtos com 23 casos confirmados da doença, porém houve baixo índice de mortalidade (23%). Em países como Uruguai, a hantavirose apresentou baixa letalidade e aparece de maneira esporádica, mas em sua população assintomática já foram encontradas anticorpos anti-hantavirus (FERREIRA, 2000).

Em locais da América do Norte foi observada uma elevada taxa de mortalidade (50%), devido a gravidade da doença e a um tratamento iniciado tardiamente. No Brasil, 3 pacientes da região rural de Juquitiba em São Paulo apresentaram diagnósticos sorológico confirmado para infecção recente por hantavírus, destes, dois evoluíram para insuficiência respiratória aguda e foram a óbito. Em 1999, foram notificados 20 casos confirmados da infecção viral por hantavírus e com letalidade elevada, acima de 70% (FIGUEIREDO et al 2001).

Nesse sentido, no estudo de Terzian e colaboradores (2011), foi constatado que 28% das amostras que tinham sido confirmadas a serem dengue, apenas por meio de dados clínicos e epidemiológicos, foram posteriormente descartadas pelos métodos de diagnóstico molecular. Assim, é provável que outras viroses possam estar circulando em meio às epidemias, e sendo confundido com outras doenças. Uma vigilância eficaz permite detectar se está ocorrendo a introdução ou disseminação de novas viroses na região de Barra do Garças, tendo em vista que não há estudos locais dessa magnitude, fornecer subsídios para adoção de medidas futuras, como palestras e incentivos para que mais estudos abranjam conhecimentos sobre essa enfermidade, o real risco de disseminação e contaminação em humanos e da sua capacidade de gerar grandes epidemias ou até pandemias, intensificando com uma política rigorosa de vigilância pública, controlando a disseminação dos vetores e dos vírus.

## **2 OBJETIVOS**

### **2.1 OBJETIVO GERAL**

- Realizar um inquérito sorológico para hantavírus em moradores da região do Médio Araguaia em amostras de fase aguda coletadas de pacientes com quadro febril agudo.

### **2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

- Realizar a coleta de amostras de fase aguda em pacientes suspeitos de doença febril no município de Barra do Garças, região do Médio Araguaia, Mato Grosso;
- Padronizar o ensaio de ELISA com a proteína N recombinante do vírus Araraquara visando a detecção de anticorpos da classe IgG e IgM contra hantavírus na população de estudo;
- Analisar os resultados obtidos pelas técnicas de ELISA aplicando testes estatísticos para análise dos dados;
- Determinar os níveis de detecção e prevalência de hantavírus no município estudado contribuindo para o conhecimento sobre a dispersão da hantavirose para o sistema de saúde do Estado de Mato Grosso.

### 3 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

#### 3.1 Introdução Hantavírus

Inúmeras doenças infecciosas têm taxas elevadas de mortalidade em todo o mundo, sendo que três das dez principais enfermidades causadoras de óbitos no mundo, listada pela Organização Mundial de Saúde são de origem infecciosa (MENDES et al 2014).

Hantavirose são antropozoonoses (doença primária de animais que podem ser transmitidas ao homem) virais agudas e que em humanos mostra-se de várias formas clínicas, cuja suspeita diagnóstica é a partir de antecedentes epidemiológicos até quadros graves e peculiares, como a Febre Hemorrágica com Síndrome Renal (FHSR), característico da Europa e Ásia e a Síndrome Cardiopulmonar por hantavírus (SCPH) encontrada somente nas Américas. O agente etiológico é através RNA viral pertencente à família *Bunyaviridae*, gênero *Hantavirus* (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2006).

Hantavírus são vírus de RNA esféricos, envelopados com diâmetros entre 80 a 120 nm, possui genoma de fita simples com polaridade negativa e trissegmentado, que por sua vez, esses três segmentos de RNA são denominados como grande (L), médio (M) e pequeno (S) e codificam respectivamente a proteína RNA polimerase, RNA dependente, as glicoproteínas G1 e G2 da superfície viral e a proteína N dos nucleocapsídeo. Além disso, em sua estrutura tem projeções glicoproteicas na superfície (Gn e Gc) (FIGUEIREDO et al, 2001).

Antígenos e partículas virais de Hantaan foram encontrados nas células endoteliais dos doentes e nos roedores ao nível dos pulmões, no endotélio renal, cardíaco, hepático, esplênico e tecido adiposo. Com estudos dos hantavírus americanos, notou-se a presença de  $\beta 3$  integrinas que são usadas como receptores para infecção de células. Essas proteínas compõem as “*tight-junctions*” que aderem as células endoteliais e cercam a barreira alvéolo-capilar, possivelmente devido à infecção causada pelo vírus no endotélio capilar. Podem ser infectadas pelo vírus as plaquetas que por sua vez também

possuem  $\beta 3$  integrinas, por isso o motivo da trombocitopenia e diminuição da agregação plaquetária, explicando ainda o motivo das hemorragias (FIGUEIREDO et al, 2001).

Sua replicação dá-se no citoplasma celular do hospedeiro, ocorre o acoplamento do vírus com receptores específicos do hospedeiro para sua penetração, seguido de endocitose. Os nucleocapsídeos são anexados ao citoplasma devido à fusão do vírion com a membrana endossomal, que se inicia após a transcrição dos genes virais para produção das proteínas que irão constituir partes dos novos vírions. Essas partículas recém-formadas são transportadas para vesículas secretoras da membrana citoplasmática e liberadas por exocitose (FIGUEIREDO et al, 2001).

Os estudos na área de sequenciamento genético do RNA viral da hantavirose são feitos através de vírus extraídos de necropsia ou por culturas de células. Sabe-se que o genoma por inteiro tem em torno de 12.000 a 13.000 nucleotídeos. Ensaio com PCR (reação em cadeia polimerase) e RT-PCR (transcriptase reversa) são métodos rápidos de identificação do vírus, mesmo sem obter o isolamento viral. Esses procedimentos podem ser utilizados através de amostras de tecidos humanos ou de roedores (FERREIRA, 2003). Sua evolução está intimamente relacionada com aumento da massa de roedores silvestres pertencentes à ordem *Rodentia*, família *Muridae* e subfamília *Sigmodontinae* (FIGUEIREDO et al, 2001).

Ferreira (2003) ainda afirma que há vários membros que pertencem ao grupo dos hantavírus, dentro deles, 4 causam a FHSR e aproximadamente 20 causam SCPH, cada uma infecta um roedor específico e sua denominação é proveniente do local onde foi visto pela primeira vez. Principalmente na Europa e Ásia, a febre hemorrágica com síndrome renal assemelha-se com o diagnóstico clínico de leptospirose, porém, sua evolução é relativamente benigna.

Espécies da subfamília de hantavírus *Sigmodontinae* são abundantes nas áreas de floresta Atlântica e estão presentes em considerável capacidade de adaptação nos desenvolvimentos de dominação humana, incluindo áreas de plantações e reflorestamento (TRINDADE et al 2014).

Vários roedores foram investigados na transmissão da hantavirose, antigamente animais das subfamílias *Murinae* e *Aricolinae* representavam os transmissores mais importantes, particularmente os pertencentes aos gêneros *Apodemus* e *Clethrionomys*. Segundo Ferreira (2003), nos países americanos, todos os roedores transmissores da doença são pertencentes às subfamílias *Sigmodontinae*. O gênero *Rattus*, com as espécies *norvegicus* e *rattus*, transmite no mundo todo a FHSR. Nos Estados Unidos, com ampla distribuição geográfica, os reservatórios mais comuns são o *Peromyscus maniculatus* e *Peromyscus leucopus*, foram descritos na transmissão os *Sigmodon hispidus* e *Oryzomys palustris*. Na Argentina, a infecção está sendo relacionada aos roedores do gênero *Oligoryzomys*, como *Oligoryzomys flavescens* (portador do vírus Lechiguanas) e *Oligoryzomys longicaudatus* (portador do vírus Andes e Orán). No Paraguai, o transmissor é o *Calomys laucha*.

No Brasil, sabe-se que as duas espécies estão disseminadas na região sul, sudeste e centro-oeste, o *Bolomys lasiurus* que pode ser encontrado em São Paulo, Minas Gerais, Bahia, Goiás, Mato Grosso e Mato Grosso do Sul, enquanto que o *Oligoryzomys nigripes* é o roedor predominante no Paraná, Santa Catarina e Rio Grande do Sul. No Maranhão, pesquisadores do Instituto Evandro Chagas de Belém – PA identificaram em uma área onde ocorreram casos da doença, um roedor de hábitos aquáticos do gênero *Holochilus* infectado pelo vírus e consideraram como o provável transmissor de hantavirose. É possível que haja outras espécies de roedores silvestres que possam transmitir a doença no Brasil, já que é um país extenso e com diversidade animal (FERREIRA, 2003).

Cada espécie de roedor silvestre é específica para um vírus que irá se instalar, podendo ser um reservatório natural por muito tempo, a infecção nos roedores supostamente não leva à morte. O homem se contamina quando inala poeiras com partículas de secreções e excretas dos roedores infectados, ou também através da ingestão de água ou alimentos contaminados, mordeduras de roedores, quando o vírus interage com a mucosa e conjuntiva através de mãos contaminadas, acidentes com indivíduos que estudam sobre o vírus e manipulam roedores em laboratórios e biotérios, transmissão pessoa-pessoa, porém, todas essas maneiras são bem mais raras de acontecer. O período de

incubação ocorre em torno de duas semanas com variação de 4 a 60 dias e não é conhecido o período de transmissibilidade. Podem acontecer complicações na FHSR como insuficiência renal irreversível, enquanto que na SCPH pode ocorrer insuficiência respiratória aguda e choque circulatório (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2006).

Muitas doenças infecciosas são prevalentes em países de baixa renda ou em desenvolvimento como o Brasil, afetando diretamente a população que reside nessas áreas de risco. As autoridades públicas e sanitárias devem focar-se no controle da doença e conseqüentemente no controle do vetor (MENDES et al 2014).

### **3.2 Transmissão**

Trindade e colaboradores (2014) afirmam que a infecção zoonótica é transmitida pelo roedor que funciona como um reservatório da doença e é repassada ao homem quando há contato direto ou pela mordida do roedor, ou por inalação de aerossóis das excretas do roedor contaminados com vírus ou até mesmo o fato de uma pessoa tocar um local contaminado contendo o vírus e não lavar as mãos, levando-as a boca, nariz ou olhos, assim acontece em áreas rurais, que possuem um número elevado de roedores, campanhas militares ou áreas periurbanas com grande aglomeração de pessoas e precárias condições de saneamento, nessas residências vivem um grande número de indivíduos e infestação de roedores dividindo o espaço e alimentos. São exemplos de locais propícios a se encontrar esses tipos de roedores como: paióis, galpões de armazenamento de grãos, fazendas, porões ou sótãos de casas velhas e/ou abandonadas e casas próximas a matagais ou outros ambientes silvestres, matas onde há acampamentos as margens de rios ou ambientes silvestres para atividades de lazer como caça e pesca.

Animais domésticos como vacas, galinhas, cães, gatos não são portadores da doença, ou seja, não oferecem risco ao homem, até mesmo pequenos roedores de estimação como hamsters, camundongos ou ratinhos

brancos podem ser manuseado com segurança, porém, deve-se evitar que cães e gatos capturem esses roedores contaminados para dentro de casa. Profissionais de diversas categorias, como agrônomos, veterinários, geólogos, fazendeiros e biólogos, submetem-se ao vírus e muitos apresentam anticorpos circulantes sem nunca demonstrar sinais da doença (FERREIRA, 2003).

### 3.3 Aspectos clínicos e laboratoriais

Na América do sul, a hantavirose foi associada com sintomatologia variando desde assintomática ou oligossintomática apresentando a síndrome cardiopulmonar por hantavírus (TRINDADE et al 2014).

A identificação da hantavirose faz-se através da suspeita clínica e epidemiológica, averiguando-se anamnese e a região que o paciente habita. Sua confirmação vem por meio de análise laboratorial por pesquisa de anticorpos IgM ou IgG, por meio de ELISA, de modo que utiliza-se como material de estudo o sangue ou soro do paciente ou até por imunohistoquímica usando como base tecidos e fragmentos de órgãos colhidos em até no máximo 8 horas após o óbito. Para um diagnóstico mais preciso, pode-se realizar RT-PCR usando soro, coágulos sanguíneos e fragmentos de tecidos colhidos nos primeiros 7 a 10 dias da doença. Deve-se fazer um diagnóstico diferencial, pois suas manifestações assemelham-se com diversas doenças, gerando certa confusão ou por ventura, a hantavirose ser camuflada por outras enfermidades com mesmos sintomas. A febre hemorrágica com síndrome renal pode ser confundida com doenças que se encaminham com febre hemorrágica, como: malária, leptospirose, septicemia por gram negativo, hepatite B, intoxicações exógenas, febre amarela e dengue hemorrágica, enquanto que a síndrome pulmonar por viroses respiratórias, leptospirose, pneumonias atípicas (*Legionella sp*, *Mycoplasma sp*, *Chamydia sp*), histoplasmose pulmonar e pneumocistose (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2006).

O diagnóstico de SPCH na fase prodrômica é bem complicado devido a sua similaridade aos sintomas de doenças como dengue, gripe, etc..., sendo

assim, para facilitar a identificação da hantavirose, deve-se realizar uma tomografia de tórax com urgência acompanhado de hemograma do doente. No exame radiológico de pacientes com suspeita de SPCH tem o achado de infiltrado pulmonar bilateral com padrão intersticial ou misto, acrescido no hemograma de hemoconcentração e trombocitopenia. Após confirmação, devem iniciar cuidados de terapia intensiva (FIGUEIREDO et al, 2001).

Estudos feitos com hamsters imunocompetentes mostraram uma infecção assintomática, com um aumento da disseminação viral, mas sem sinal clínico de doença. Hamsters imunossuprimidos e infectados com vírus SinNombre vieram a óbito em media com 13 dias apresentando os sintomas da doença imitando com precisão os sintomas que ocorrem em humanos, incluindo edema pulmonar e derrame vascular. Com cinco dias de infecção, os hamsters infectados começaram a produzir anticorpos neutralizantes específicos que conferiu-lhes importante proteção. O vírus infecta predominantemente células endoteliais microvasculares e faz com haja extravasamento vascular alterando assim as barreiras do endotélio, tornando-o incapaz de conter o acúmulo de líquido tecidual, induzindo o edema pulmonar, taquicardia choque e insuficiência cardíaca. Hamsters infectados apresentaram um desconforto respiratório antes das 24 horas da morte em aproximadamente 10-14 dias após a infecção. Os sinais clínicos da doença em hamsters terminais foram mais evidentes nas 24 horas que antecederam a sua morte (BROCATO et al 2014).

Quadro clínico do paciente sugere permeabilidade capilar pulmonar ou renal (reversível quando tratada corretamente). Nos pulmões ainda há penetração de linfócitos TCD8, que também estão presentes no sangue periférico sob forma de linfócitos atípicos. Os linfócitos depois de ativados produzem citocinas capazes de atuar diretamente sobre o endotélio vascular e na estimulação de macrófagos locais a produzirem mais citocinas como TNF (fator de necrose tumoral), IL1 (interleucina um), IFN- $\gamma$  (interferon gama), FAP (fator ativador plaquetário) e os mediadores lipídicos como os LCT (leucotrienos), essas substâncias ao aumentar a permeabilidade vascular levam a uma passagem de líquidos com algumas proteínas para o espaço alveolar, gerando edema pulmonar e insuficiência respiratória aguda. IgM

aparecem rapidamente e facilitam o diagnóstico da infecção na fase precoce (FERREIRA, 2003).

A neutrofilia correspondeu a títulos virais mais baixos em animais tratados com dexametasona, sugerindo a possibilidade de que o aumento do número de neutrófilos possa proteger contra a hantavírus, reduzindo a quantidade de vírus vivo, induzindo uma possível expressão de via de citocinas pró-inflamatórias, fagócitos e ativação de resposta de células endoteliais (BROCATO et al 2014).

A hantavirose gera poucos danos celulares, sendo os rins, a glândula pituitária e o átrio direito os órgãos mais prejudicados durante FHSR e os pulmões são os mais injuriados na SCPH. Em autópsias feitas durante a Guerra da Coreia em doentes de FHSR pôde-se observar dilatação capilar, diapedese eritrocitária, hemorragias focais, edema intersticial e edema retroperitoneal. As alterações vasculares e as hemorragias foram analisadas na pele, superfícies de mucosas, na região subendocárdica do átrio direito e na glândula pituitária, além de vários outros órgãos. Os rins estavam aumentados de volume e edematosos, microscopicamente com congestão medular, compressão dos túbulos renais por massas de eritrócitos e necrose das alças de Henle e dos túbulos coletores. Em 30% dos casos, o fígado apresentou necroses focais na periferia dos lóbulos hepáticos e nos pulmões constatou-se a presença de graus variados de edema pulmonar. Na SCPH, além das lesões pulmonares, podem ocorrer injúrias no fígado, baço e linfonodos. Macroscopicamente, os pulmões se apresentam com congestão, avermelhados, com peso de até 2x o valor normal, com presença de efusão pleural amarelo-citrino uni ou bilateral. Em geral, não há hiperplasia de pneumócitos do tipo II. Em um dos autopsiados da Universidade Federal de Uberlândia, foi relatado a presença de imunoblastos no parênquima cerebral (FERREIRA, 2003).

Um quadro mais grave de hantavírus pode apresentar síndrome respiratória com hipoxemia grave e insuficiência cardiovascular refratária e possui uma mortalidade de 100%, entretanto, quando há um suporte adequado aos pacientes com auxílio no tratamento cardiovascular e respiratório, a

possibilidade alta de óbito resulta em um índice de sobrevivência de 61% (MENDES et al 2014).

### 3.4 Epidemiologia

Em 1978, o vírus *Hantaan* foi isolado pela primeira vez em ratos selvagens. Verificou-se que a infecção encontrava-se amplamente distribuída por vários países asiáticos como China, Japão, Rússia e Manchúria. Na Coreia, a doença ainda é considerada endêmica. Na Europa, a FHSR mostra-se endêmica particularmente benigna e com índice de mortalidade de 1% na Finlândia, Suécia, Noruega, Alemanha, França, países Balcãs (Eslovênia, Croácia, Servia) e na Grécia (FERREIRA, 2003).

Na América do Norte foram reconhecidos os vírus SinNombre, New York, Bayou, El Moro Canyon, Blue River, Muleshoe, Monongahela e Black Creek Canal. Na América Central encontraram o vírus Rio Segundo e na América do Sul foram registrados os vírus Andes, Rio Mamoré, CañoDelgadito, Oran, Laguna Negra, Lechiguanas, Pergamino e Maciel, inserindo também o vírus Juquitiba, que no Brasil, é o único descrito com potencial de causar enfermidades em humanos. Ao todo, muitos casos foram identificados nas Américas em março de 2008, destacando-se 179 casos nos Estados Unidos, 142 na Argentina, 44 no Chile, 34 no Paraguai (FIGUEIREDO et al, 2001).

No Brasil, conseguiu-se isolar o vírus da hantavirose na década de 80 no Pará de um *Rattus norvegicus*, apresentou-se também indícios de anticorpos para o vírus Hantaan (protótipo do gênero Hantavírus) em soros de roedores urbanos de Belém, São Paulo e Recife. Em pacientes da região norte do Brasil com suspeita de leptospirose, em um total de 212 soros, foram identificados IgG para Hantaan em 8,4% e IgM em 1,9%. Em São Paulo, de 409 pacientes internados em 1976 com diagnóstico de leptospirose, 5 deles mostraram IgM para Hantaan. Em agosto de 1999 foram notificados em torno de 20 novos casos com mortalidade acima de 70%, assim, pôde-se concluir infecção de

SPCH nos estados de Minas Gerais, Mato Grosso, Rio Grande do Sul e São Paulo (FIGUEIREDO et al, 2001).

No estado de São Paulo em 1993 foram detectados os primeiros casos com alta taxa de mortalidade e desde então já foram descritos mais de 1.500 casos. Estudos sorológicos conduzidos no país têm evidenciado a circulação de hantavírus na população, embora não tenha sido reportada pelas autoridades da saúde, sugerindo uma transmissão silenciosa da doença e conseqüentemente uma baixa estimativa da distribuição viral (TRINDADE et al 2014).

Entre os anos de 1993 e 1997, nos municípios de Franca e Araraquara foi notificado mais um caso em cada cidade. Em abril de 1998, no oeste do estado de São Paulo, precisamente em Tupi Paulista e Nova Guataporanga, foram identificados mais 2 casos de hantavirose, um com evolução para SPCH e outro com hemorragias. Na cidade de São Paulo, foi identificado mais um caso, porém, suspeita-se que o indivíduo tenha se infectado na cidade de Cotia. Na região de Alta Paulista, no município de Lucélia e na cidade de Botucatu, em 1999, atentou-se para um caso fatal de SPCH em cada município. Em 1998 e 1999, na cidade de Ribeirão Preto, foi onde obteve os maiores números de registros de infecção de hantavírus no Brasil, provavelmente devido à inalação de aerossóis. Em Bariloche, na Argentina, houve um surto em 1996 que ocorreu transmissão interpessoal do vírus Andes, único caso confirmado nesse modo de infecção, com período de incubação entre 11 e 29 dias, contaminação por contato direto, fômites contaminados ou até mesmo inalação de aerossóis, dentre os doentes, 5 eram médicos e os outros eram funcionários do hospital (FIGUEIREDO et al, 2001).

Várias análises sorológicas têm mostrado que o ato de varrer em torno de casas ou celeiros onde há presença de roedores predispõe o contato com partículas de aerossóis induzindo o indivíduo à infecção, essa atividade geralmente é conduzida por mulheres. São relatados em áreas de alto distúrbio no ecossistema com sobreposição urbana, agrária e atividade pecuarista nas áreas de ocorrência (TRINDADE et al 2014).

Em geral, casos de hantavírus têm sido descrito em áreas rurais onde o desenvolvimento natural tem sido perturbado, criando um mosaico de áreas desmatadas, pastagens, áreas de agricultura e moradias humanas. Infecção por hantavírus aparenta-se com uma doença ocupacional, e algumas áreas do país são fortemente relacionadas com atividade rural. De fato, pacientes são associados apenas quando eles apresentam indicações de outros precedentes ou avançada infecção. Certamente, outros estudos têm demonstrado a baixa soroprevalência de hantavírus em diferentes populações (TRINDADE et al 2014).

Em 2002, a Fundação Nacional de Saúde - FUNASA notificou 24 casos até o início de junho, sendo que 11 deles vieram a óbito (46%). A época mais acometida é entre os meses de junho a dezembro, tempos de seca e com menos disponibilidade de alimentos nos ambientes silvestres, por isso essa sazonalidade nos casos que ocorrerem principalmente em São Paulo e Minas Gerais. A SCPH em Minas Gerais é observada frequentemente na região do triângulo mineiro, principalmente nas cidades de Uberlândia e Uberaba, na sua maioria, em Uberlândia em casas na região periurbanas, devido à ocupação de extensas áreas rurais, com o roedor *B. lasiurus* (33% dos roedores capturados), sua taxa de letalidade alcançou 40% (FERREIRA, 2003).

### **3.5 Sintomatologia**

Os principais sinais e sintomas da FHSR são febre, cefaléia, mialgia, dores abdominais, náuseas, vômitos, rubor facial, petéquias e hemorragia conjuntival seguido de hipotensão, taquicardia, oligúria e hemorragias severas, evoluindo para quadros de poliúria, que antecipa o início da recuperação, na maioria dos casos. A SCPH durante a fase que apresenta sintomas e sinais precoces experimentados pelo indivíduo são febre, mialgias, dor lombar, dor abdominal, cefaléia e sintomas gastrointestinais e na fase cardiopulmonar apresentam-se sintomas como febre, dispnéia, taquipnéia, taquicardia, tosse seca, hipotensão, edema pulmonar não-cardiogênico, com o paciente

evoluindo para insuficiência respiratória aguda e choque circulatório. Além dessa denominação, a febre hemorrágica com síndrome renal por ter outros nomes como na antiga União Soviética: nefrose-nefrite hemorrágica, na China: febre songo ou febre hemorrágica epidêmica, na Coreia: febre hemorrágica coreana, na Escandinávia: nefropatia epidêmica, na Europa: nefrite epidêmica ou febre hemorrágica epidêmica ou ainda nefrite dos Balcãs, no Japão: febre hemorrágica epidêmica. Ademais, outros nomes também podem ser utilizados para denominarem a síndrome pulmonar por hantavírus, como por exemplo: Síndrome de Insuficiência Pulmonar do Adulto por Vírus Hantaan (SIRA) (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2006).

Em todos os surtos nas Américas, os sinais e sintomas foram muito parecidos, identificados inicialmente características inespecíficas como febre, cefaléia e astenia, após 3 ou 4 dias surge dispnéia que progride para inundação dos alvéolos juntamente com tosse frequente com até mesmo a eliminação de secreções pulmonares rósea, necessário intubação e ventilação mecânica, segue o quadro com taquicardia, mialgia, tonturas, hemorragias, hipoxemia e hipotensão. A hipotensão deve-se a uma diminuição do volume cardíaco de ejeção e do débito cardíaco acompanhado de uma elevação da resistência periférica. A hipoxemia é devido à pneumopatia com insuficiência respiratória causada por hantavirose. Alguns pacientes apresentam derrames pleurais, com pequeno e médio volume associado (FIGUEIREDO et al, 2001).

Enquanto que nos exames laboratoriais apresentaram trombocitopenia, leucocitose por neutrofilia (com bastonetes, mielócitos e promielócitos), imunoblastos, hemoconcentração, hipóxia ( $PO_2 < 70$  mmHg) e creatinemia elevada. Em pacientes que sobreviveram, mostrou-se com melhora nas funções respiratórias, renal e hemodinâmica aproximadamente no décimo dia após o início dos sintomas. A fase prodrômica dura em torno de 3 a 6 dias quando aparecem os sintomas respiratórios e o choque característico. Os pacientes que sobrevivem as primeiras 48 horas da fase respiratória iniciam uma fase poliúrica, com diurese de 300 a 500 mL/hora, quando começa a melhorar os sintomas respiratórios e hemodinâmicos. A fase de convalescência é lenta e podem durar semanas (FIGUEIREDO et al, 2001).

Os mecanismos patogénicos das infecções pelo hantavírus que evoluem para FHSR ou SCPH parecem originar-se de exagerada resposta imune a esses microorganismos. Aparentemente, estes não levam à destruição de células infectadas e, sozinhos não induzem a permeabilidade vascular, sua gravidade aumenta após o aparecimento da resposta imune. Os antígenos virais também podem ser encontrados no coração e tecido linfóide, além do tecido pulmonar (FERREIRA, 2003).

### **3.6 Tratamento**

Ainda não há um tratamento específico para hantavirose. Casos graves devem ser levados para tratamento intensivo, incluindo medidas terapêuticas destinadas a uma ampla variedade de infecções pulmonares, é indicado antibioticoterapia com espectro para patógenos habituais e atípicos (como quinolonas de nova geração, levofloxacina ou gatifloxacina). Se as suspeitas forem elevadas, deve-se fazer a administração de fluidos, com extremo cuidado, pois o excesso pode precipitar o edema pulmonar. Muitos pacientes apresentam hipotensão e/ou choque, para controlá-lo deve-se além da reposição volêmica, fazer o uso de drogas vasoativas com efeito inotrópico que devem ser administradas de forma contínua por via venosa. Após a fase prodrômico, inicia-se a fase cardiopulmonar, começando com a insuficiência respiratória, hipoxemia grave, a partir daí, deve-se incluir uma suplementação de oxigênio, com dosagens sanguíneas para avaliação gasosa. Se existir acidose metabólica, tem-se de administrar bicarbonato de sódio. As hemorragias são causas de várias mortes em indivíduos infectados por hantavírus, porém o uso de heparina não é indicado para essa situação já que os pacientes, em sua maioria, não desenvolvem CID (Coagulação Intravascular Disseminada). Com os cuidados adequados, a maioria dos pacientes com FHSR se recupera completamente (FERREIRA, 2003).

Na maioria dos tratamentos ocorridos nas Américas são feitos os cuidados precoces de terapia, monitoração e manutenção da oxigenação, dos

fluidos, da pressão arterial e da ventilação mecânica antecipadamente. Quando o paciente se apresentar no hospital insere-se oxigenação com a cânula nasal ou máscara facial, se progredir para inundação do tecido pulmonar, deve-se intubar e sedar o paciente, iniciar a ventilação mecânica para evitar a distensão alveolar excessiva, evitando também colapsos e reexpansões alveolares repetidas. Durante a ventilação, tem de colocar cateter venoso para infusão de líquidos, drogas e medida da pressão venosa central (PVC). Para amenizar a hipotensão, infundir líquidos usando metade a 2/3 de cristalóides e a outra parte de soluções coloidais, concomitantemente com a administração de drogas inotrópicas (como a dopamina e dobutamina) para melhorar o débito cardíaco e equacionar a resistência vascular periférica. A infusão de líquidos deve ser bem observada, pois os alvéolos já podem estar patologicamente injuriados, portanto, a infusão deve ser condicionada ao aparecimento de edema pulmonar e elevação da PVC acima de 12 cm de H<sub>2</sub>O. Visto sua alta mortalidade e formas de contaminação, recomendam-se medidas de isolamento em quartos privativos e cuidados especiais para equipe médica que manipulará o paciente (FIGUEIREDO et al, 2001).

Como já se sabe de relatos anteriores, fatores de risco da hantavirose e onde ela atua, preferencialmente deve-se identificar as espécies de roedores presentes naquela região, detectar precocemente casos e surtos da doença, tipos de vírus que estão presentes naquela área e analisar medidas de prevenção, controle e tratamento. O ministério da saúde (2006) relata que é uma doença que ao ser manifestada tende ser notificada compulsoriamente. Deve-se suspeitar de pessoas com febre acima de 38°C, mialgia, seguido de um ou mais desses sintomas: dor abdominal, cefaléia, dor gastrointestinal, dor lombar, dispnéia, taquipnéia, taquicardia, tosse seca, edema pulmonar não cardiogênico, hipotensão na primeira semana da doença ou doentes com doença aguda, apresentando edema pulmonar não cardiogênico com evolução para óbito ou paciente com história febril e com exposição à mesma fonte de infecção de um ou mais casos de SCPH confirmados laboratorialmente.

Para um critério laboratorial confirmado, espera-se resultados de exames com sorologia reagente para o vírus da hantavirose da classe IgM ou soroconversão para anticorpos da classe IgG (com aumento de quatro vezes

ou mais de anticorpos IgG entre a primeira e segunda amostra) ou imunohistoquímica de tecidos positivo com a identificação de antígenos específicos ou PCR positivo, portanto, deve-se suspeitar de pessoas que frequentaram (ou frequentam) áreas conhecidas de transmissão e contaminação por hantavírus, principalmente quando apresentam alterações no raio X de tórax, hemoconcentração (hematócrito >45%) e trombocitopenia (plaquetas <150.000/mm<sup>3</sup>) (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2006).

### **3.7 Profilaxia**

A prevalência de hantavírus pode ser correspondida por variedades em níveis de biodiversidade, diversidades em espécies podem ajudar na diminuição da prevalência por redução da concentração a disponibilidade de hospedeiros competentes com diminuição do número de hospedeiros menos competentes. Também, é importante enfatizar que a ação de predadores pode controlar a população de roedores e conseqüentemente são importantes no controle da transmissão do patógeno (TRINDADE et al 2014).

Ferreira (2003) sugere que a prevenção da hantavirose ocorre mediante a adoção de medidas que reduzam o contato dos seres humanos com os roedores e as suas excretas. Eliminar roedores de seu meio ecológico abruptamente é contra indicado devido ao desequilíbrio que possa vir a proporcionar naquele ambiente, no entanto, a eliminação desses vetores em regiões urbanas e periurbanas são aceitas. Para depósitos de grãos e rações, além de construções rurais, é necessário conter medidas de proteção que evitem a penetração e proliferação desses reservatórios, tais como telas metálicas nas entradas, iscas com substâncias anticoagulantes, entre outros...

Construções fechadas há muito tempo, devem inicialmente ser ventiladas e o assoalho deve ser molhado para evitar partículas de aerossóis. Deve-se evitar o contato com roedores vivo ou morto. Para exploração ou limpeza de ambientes com suspeita de contaminação, o uso de máscara é essencial. Cereais devem ser acondicionados em containers de plástico

hermeticamente fechado. É fundamental a orientação de indivíduos que moram nas áreas rurais. Para se evitar contaminação por via respiratória inter-humana (sabido que ocorre com o vírus Andes), preconiza-se o uso de EPI's por profissionais. Vacinas estão sendo estudadas para evitar a infecção, encontra-se acessível uma vacina inativada para proteção contra o vírus Hantaan e Seoul, com eficácia comprovada (FERREIRA, 2003).

Segundo o Ministério da Saúde (2006) para controlar essa enfermidade é necessário reduzir as fontes onde roedores se abrigam e alimentam principalmente próximos a residências e proteger locais de estocagem de grãos para que os roedores não consigam alcançar; adotar medidas de dedetização para controle de roedores; cuidados com grupos de profissionais frequentemente expostos a contaminação de hantavirose com uso de EPIs, assistência imediata, formas e riscos de infecção; evitar montar barracas de camping e dormir em áreas com presença de fezes ou tocas, evitar abrigos fechados por muito tempo, manter plantio longe de residências; ventilação de ambientes possivelmente contaminados, abrindo portas e janelas, umedecendo pisos e paredes com água sanitária a 10% ou com água e detergente ou ainda Lysol a 10%, aguardar 30 minutos antes da limpeza, limpar móveis da mesma maneira também, evitando a formação de aerossóis.

Durante a última década houve uma diminuição na taxa de mortalidade quando associada a doenças infecciosas, porém ainda são as principais causas que levam a morte de pacientes em países em desenvolvimento (MENDES et al 2014).

<b>Tipo de diagnóstico</b>	<b>Tipo de material</b>	<b>Quantidade</b>	<b>Nº de amostras</b>	<b>Período de coleta</b>	<b>Recipiente</b>	<b>Armazenamento/conservação</b>	<b>Transporte</b>
<b>Elisa IgM</b>  <b>Elisa IgG</b>	Sangue venoso (soro)  Coágulos de sangue são muito úteis para o diagnóstico  Sangue do coração em caso de óbito	Média de 5 mL de sangue ou de soro	Uma amostra  Se não concluir o diagnóstico, colher até duas ou três amostras do paciente vivo	1ª amostra: logo no primeiro atendimento médico  2ª amostra: nos primeiros dias de internação  3ª amostra: 2-3 semanas após o início dos sintomas	Tubo seco (sem anticoagulante)	Preferencialmente em congeladores (freezers) a -20°C. Em geladeira, por um tempo máximo de 24 horas	Caixa de isopor com gelo reciclável
<b>PCR</b>	Soro, plasma, sangue, coágulo ou biópsia de pulmão	Média de 5 mL  1,5 cm	Uma amostra	Colher até o 7º dia após o início dos sintomas  Necropsia: realizar até 8 horas após o óbito	Tubo criogênico: plástico resistente a baixas temperaturas	Imediatamente após a coleta, colocar em congeladores (freezers) a -70°C, ou em gelo seco ou em nitrogênio líquido	Caixa apropriada para transporte de materiais infectantes: constituída de recipiente de alumínio com tampa plástica de rosca, caixa de isopor com gelo seco e caixa de papelão externa ao isopor

**Quadro 1. Normas para procedimentos laboratoriais para casos confirmados de hantavirose.** Adaptado de: Secretaria de Vigilância em Saúde / MS - CID 10: B33.4



## 4.2. Delineamento do Projeto, Aspectos Éticos e Biossegurança

Por se tratar de uma pesquisa que envolve seres humanos o projeto foi submetido ao comitê de ética para tanto, as normas da resolução 466/12, do conselho nacional de saúde, foram seguidas e foi elaborado um Termo de Consentimento Livre e Esclarecidos (TCLE) (anexo A) de modo que o presente projeto de pesquisa encontra-se aprovado pelo comitê de ética em pesquisa da UFG (parecer n° 464.409) e UFMT (parecer n° 478.780), além disso, os participantes responderam a um questionário relacionado ao tema (ANEXO B). Foi realizada a coleta a partir das amostras de fase aguda em pacientes com suspeita de doença febril aguda no mês de Setembro de 2014. A etapa seguinte consistiu em realizar um inquérito epidemiológico para detecção de anticorpos para hantavírus em amostras coletadas na fase aguda do município de Barra do Garças. Os pacientes que tiveram amostras coletadas para exames e que se adequarem ao perfil do projeto foram apresentados ao TCLE, aplicado os questionários. Foram seguidas as normas de biossegurança preconizadas pelo Ministério da Saúde.

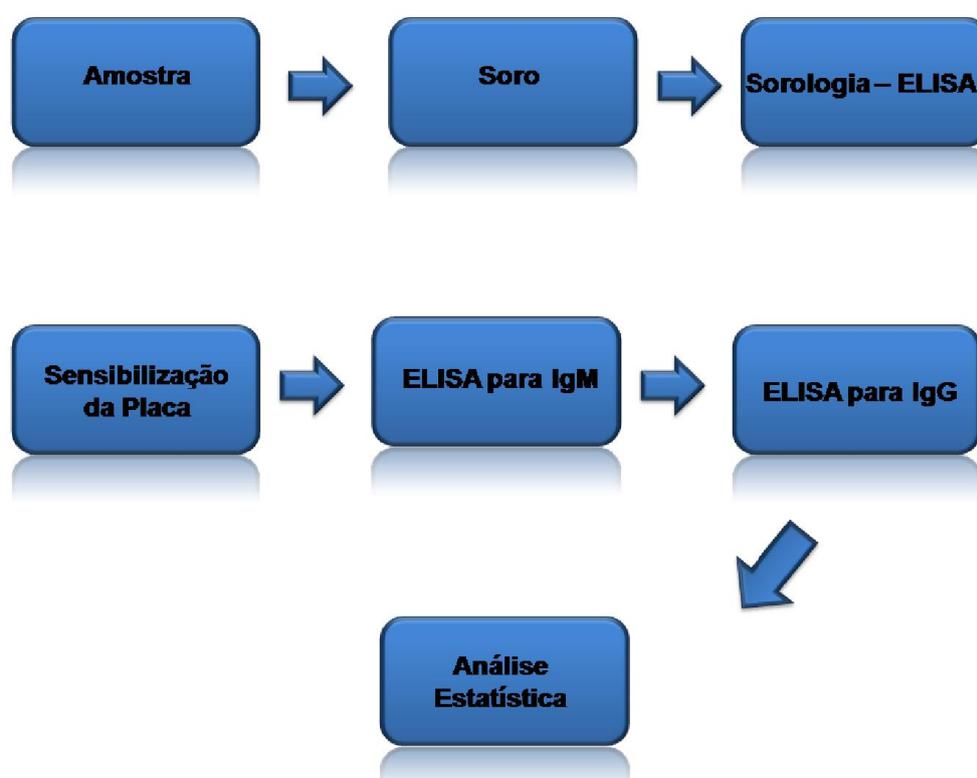
## 4.3. Coleta das Amostras e estocagem

Com base no tamanho da população de Barra do Garças foi realizado dimensionamento das amostras suficientes a serem obtidas para o presente projeto com grau de confiança de 95% (Intervalo de Confiança de 95% - IC).

**Critérios de Inclusão:** Amostras de pacientes febris em fase aguda (período de 1 a 5 dias do início da sintomatologia). Utilizou-se como parâmetros os dados laboratoriais como plaquetograma, hemograma e leucograma com faixa etária de 1 mês a 75 anos.

**Critérios de exclusão:** Não foram coletadas amostras de pessoas sem doença febril e que tivessem com sintomas e dados laboratoriais relativos a doenças genéticas, autoimunes, portadores do vírus HIV positivo ou ainda quem não estava acompanhada com seus responsáveis a assinar o TCLE.

A coleta das amostras de fase aguda fez parte do processo de rotina do hospital do Município de Barra do Garças onde amostras para o projeto foram separadas e enviadas imediatamente ao laboratório para devida estocagem. Algumas amostras coletadas para o projeto foram armazenadas em nitrogênio líquido para posterior processamento. A realização do inquérito sorológico para hantavírus com coleta de amostras de moradores foram consideradas entre 1 mês a 77 anos de idade e excluídas amostras de indivíduos menores que 1 mês e maiores que 77 anos. Após a coleta, as amostras foram encaminhadas aos laboratórios e processadas para detecção de anticorpos contra hantavírus.



**Figura 2** – Algoritmo de processamento das amostras de soro com anticorpos anti-hantavírus.

#### 4.4. Vírus, Proteína N recombinante do vírus Araraquara

Os vírus controles encontram-se estocados no Laboratório de Virologia da Universidade Federal de Goiás – Campus Regional de Jataí e para a

realização dos ensaios de ELISA foi utilizado a proteína N recombinante do vírus Araraquara doado pelo Prof. Dr. Luiz Tadeu Moraes Figueiredo do Centro de Pesquisa em Virologia da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto – Universidade de São Paulo, USP.

#### **4.5. INQUÉRITO SOROEPIDEMIOLÓGICO PARA HANTAVÍRUS.**

##### **4.5.1. Elisa para Hantavírus utilizando a proteína N do hantavírus Araraquara**

A realização dos ensaios para detecção de anticorpos para hantavírus com a proteína N recombinante do Hantavírus Araraquara foi realizado nas amostras coletadas de fase aguda. Para tanto 2 µg/mL da proteína foi adicionada a metade de placas de poliestinero de 96 poços e a técnica foi realizada conforme preconizada por Figueiredo e colaboradores (2008).

Para serem consideradas como amostras reagentes e não reagentes foi realizada uma comparação de um *cut-off* previamente estipulado para IgG e para IgM, calculado a partir da média dos controles negativos adicionando três desvios padrões, assim, chegamos ao valor de 0,500, acima desse resultado a amostra era considerada como reagente, enquanto que resultados abaixo deste valor eram considerados como não reagentes.

A placa para ELISA foi sensibilizada com extrato de *Escherichia coli* para testar a reatividade inespecífica funcionando como controle negativo e utilizamos IgM e IgG obtidos de amostras armazenadas de pacientes que já tiveram hantavirose funcionando como controle positivo. As amostras suspeitas de positividade, além da média feita através do *cut-off* também apresentavam coloração fortemente azulada na região do controle positivo e quase sem coloração na região do controle negativo, como podemos observar na figura 3.



**Figura 3** – Placa de ELISA contendo amostras de soro de pacientes com suspeita de doença febril aguda.

Todas as fichas dos pacientes foram comparadas como base nos valores de referências fornecidos pelo laboratório de análises clínicas de Barra do Garças - Laboratório Municipal Milton Pessoa Morbeck.

Valores de referências para dados hematológicos, leucocitários e plaquetários.

	Referências Hematológicas			
	Feminino	Masculino	Crianças	M/mm <sup>3</sup>
<b>Hemácia</b>	3,8 a 5,2	4,5 a 6,2	4,7 a 5,37	%
<b>Hematócrito</b>	37,0 a 47,0	41,0 a 52,0	33,4 a 44,5	g/dl %
<b>Hemoglobina</b>	12,0 a 16,0	13,0 a 18,0	10,9 a 14,0	g%
<b>VCM</b>	80,0 a 100,0	80,0 a 100,0	72,9 a 100,0	M <sup>3</sup>
<b>HCM</b>	27,0 a 34,0	26,0 a 34,0	29,9 a 31,7	Mg
<b>CHCM</b>	28,0 a 36,0	28 a 36,0	32,2 a 34,1	%
<b>Leucócito</b>	4,500 a 10,000			
<b>Mielócito</b>	0 a 0			
<b>Metamielócito</b>	0 a 100			
<b>Bastonetes</b>	45 a 500			
<b>Segmentados</b>	2,250 a 6,000			
<b>Linfócitos</b>	900 a 3,300			
<b>Basófilos</b>	0 a 100			
<b>Eosinófilos</b>	45 a 400			
<b>Monócitos</b>	90 a 800			
<b>Plaquetas</b>	150,000 a 400,000			

**Tabela 1** - As fichas dos exames laboratoriais de cada paciente foram comparadas com os valores de referências fornecidos pelo Laboratório Municipal Milton Pessoa Morbeck.

#### 4.6. Análise Estatística

As prevalências de infecção pelos vírus foram calculadas com IC 95%. O teste qui-quadrado foi utilizado para comparações entre proporções, nível de significância de  $p < 0,05$ . Foi realizada análise uni e multivariada utilizando o programa estatístico prism. Em análise estatística definiu como o n amostral foi calculado.

$$n = \frac{N.p.q.(Z\alpha/2)^2}{p.q.(Z\alpha/2)^2 + (N-1).E^2}; \text{ onde:}$$

**n**= número de amostras estimadas

**N**= tamanho da população (Barra do Garças - MT =56 903).

**(Z $\alpha$ /2)<sup>2</sup>**= Valor crítico que corresponde ao grau de confiança desejado (para 95% o valor crítico equivale a 1.96)

**p**= proporção populacional de indivíduos que pertence a categoria interessada no estudo,  $p= 0,5$ .

**q**= proporção populacional de indivíduos que NÃO pertencem à categoria de interesse do estudo ( $q=1-p$ ).

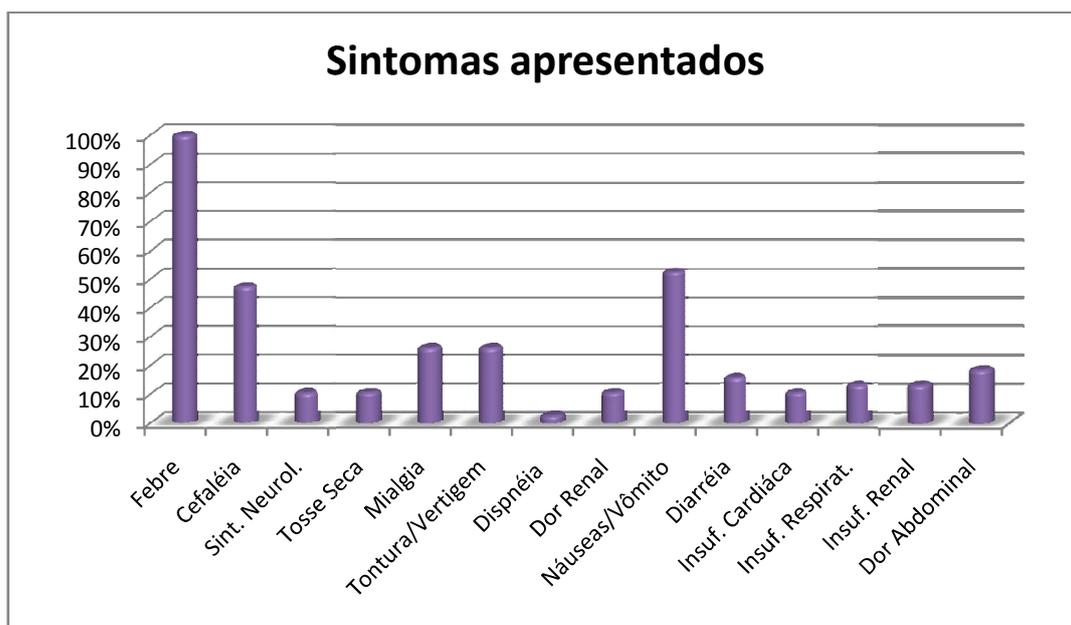
**E**= margem de erro ou erro máximo de estimativa (5%, ou seja, 0.05).

## 5 RESULTADOS

Estudos semelhantes demonstram sinais e sintomatologia clínica predominantes na hantavirose, como febre, cefaléia, dores em geral no corpo, tontura, náuseas, vômitos, calafrios, mialgia, astenia e em alguns casos, a dor acaba se manifestando de maneira incapacitante, portanto o repouso deve ser absoluto. Geralmente, durante análise laboratorial destaca-se leucopenia (MELDAU, 2012); (PINHEIRO et al, 1962); (OLIVEIRA, 2008).

Neste presente estudo foram coletadas 209 amostras de soros de pacientes com suspeita de doença febril aguda, foram utilizadas para sorologia através do teste ELISA. Estes pacientes deram entrada no Laboratório Hospitalar Milton Pessoa Morbeck, localizado no município de Barra do Garças, estado do Mato Grosso.

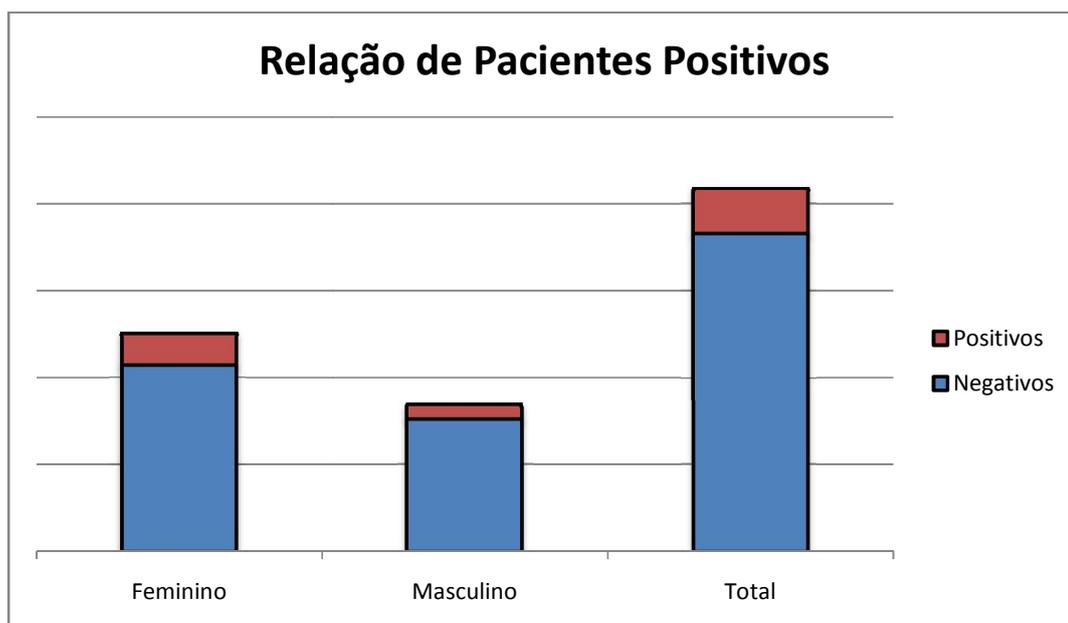
Como podemos analisar no gráfico 1, o pré requisito abordado para coleta de amostra em nossos pacientes era o indicativo de doença febril, ou seja, todos os pacientes apresentaram febre, a queixa mais registrada foi dor constante na cabeça, seguido por vertigens/tonturas, posteriormente a mialgia foi observada em alguns pacientes, do mesmo modo foram descrito sintomas como dores abdominais, diarreia, insuficiência respiratória, insuficiência renal com dores renais, insuficiência cardíaca, tosse seca e dispnéia, como sendo os mais comuns, embora, sintomas como hipertensão, dor estomacal, fraqueza, calafrios, dores nas articulações, câimbras, hemorragias, desmaios e convulsões também foram mencionados.



**Gráfico 1** – Perfil de relação entre os sintomas apresentados pelos pacientes entrevistados.

A sorologia foi dividida em duas partes, a primeira fase consistiu em processar as amostras para imunoglobulina M (IgM) e nenhuma amostra teve reação positiva para o *cut-off* previamente padronizado, enquanto a segunda parte foi realizada para imunoglobulina G (IgG) e destacaram-se das 209 amostras triadas para a detecção de anticorpos IgG anti-hantavírus pelo método de ELISA *in house*, houve soroprevalência de 7% (4,5-9,5%; IC 95%). Em relação ao gênero das amostras positivas, podemos analisar no gráfico 2 que houve maior predominância para o sexo feminino (69% [18/26]), enquanto no sexo masculino a taxa de positividade de IgG anti-hantavírus foi de 31% (8/26) em um total de 209 amostras sorológicas, podemos perceber essa mesma relação de casos positivos na tabela 1.

Esses pacientes positivos na sorologia para IgG tiveram alterações em seus exames clínicos laboratoriais, principalmente na contagem leucocitária e uma baixa na taxa de hemograma.



**Gráfico 2** – Relação entre os pacientes que apresentaram sorologia positiva para hantavírus separado por gênero.

**Tabela 1** – Perfil de relação entre pacientes positivos de acordo com o sexo.

	Positivo	Negativo
Feminino	18	107
Masculino	8	76

As fichas de exames médicos foram analisadas na população em estudo e evidenciaram uma prevalência de pacientes positivos maiores em mulheres do que em pacientes homens. Os classificados como pacientes negativos evidenciaram um elevado taxa pacientes que apresentaram sorologia negativa, principalmente no gênero feminino, mais do que no gênero masculino. Sendo assim, não houve significância estatísticas nos dados, com valor de  $p = 0,2035$ ,  $*p (<) 0,05$  (“qui-quadrado”).

A idade foi o fator importante entre as amostras positivas para IgG, a maioria dos casos ocorreram em crianças de 1 a 10 anos em um total de 42

crianças afetadas, seguido por idosos acima de 50 anos onde 40 indivíduos apresentaram variação em seus exames laboratoriais, posteriormente notamos que os jovens entre 21 a 30 anos somaram 36 indivíduos com exames alterados, sucedido por jovens entre 11 a 20 em um total de 35 pessoas com alteração e entre os 41 a 50 anos também encontramos 35 pessoas com variação em seus exames e por fim pessoas entre 31 a 40 anos, 21 indivíduos, tiveram alteração nos exames clínicos, como por exemplo na quantidade de leucócitos, diminuição a taxa de hematócrito, podemos verificar a variação das idades na tabela 2.

**Tabela 2 – Perfil de relação entre pacientes positivos e negativos de acordo a idade.**

	Positivo	Negativo
1-10 anos	10	32
11-20 anos	4	31
21-30 anos	2	34
31-40 anos	1	20
41-50 anos	2	33
+ 50 anos	7	33

As fichas do questionário foram analisadas na população em estudo e revela que os pacientes positivos mais afetados foram crianças e idosos, seguidos por jovens entre 21 a 30 anos e os menos afetados no nosso estudo foram os indivíduos entre 31 a 40 anos. Sendo assim, não houve significância nos dados, com valor de  $p= 0,0721$ ,  $*p (<) 0,05$  (“qui-quadrado”).

Houve aspectos significativos quando analisados os parâmetros dos dados do eritrograma, plaquetograma e leucograma dos pacientes, segundo as referências utilizadas no laboratório, quando utilizado teste “qui-quadrado” do software “prism”. A maioria dos pacientes apresentaram eritrograma abaixo dos valores de referencia, em contrapartida, boa parte apresentou uma taxa

leucocitária maior quando comparado aos valores de referencias do laboratório, como podem ser observados na tabela 3.

**Tabela 3 – Relação das características dos exames clínicos laboratoriais de acordo a alteração exibida.**

	Normal	Acima da Referência	Abaixo da Referência
<b>Hemácia</b>	91	7	99
<b>Hematócrito</b>	89	25	83
<b>Hemoglobina</b>	65	3	129
<b>VCM</b>	182	0	15
<b>HCM</b>	66	3	128
<b>CHCM</b>	119	0	78
<b>Leucócito</b>	69	109	19
<b>Mielócito</b>	196	1	0
<b>Metamielócito</b>	193	3	1
<b>Bastonetes</b>	100	54	43
<b>Segmentados</b>	46	139	12
<b>Linfócitos</b>	111	49	37
<b>Basófilos</b>	188	0	9
<b>Eosinófilos</b>	141	26	30
<b>Monócitos</b>	167	25	5
<b>Plaquetas</b>	158	20	19

As fichas dos exames laboratoriais foram analisadas na população em estudo. Dentre a população, podemos observar, segundo por base os valores de referência fornecidos pelo laboratório do Hospital, que a maioria apresentou uma quantidade plaquetária dentro do normal, porém a taxa leucocitária esteve aumentada com tendência para neutrófilos segmentados enquanto que os valores do hemograma demonstraram uma redução nas taxas, sugerindo uma discreta anemia nos participantes do projeto.

## 6 DISCUSSÃO

As infecções causadas por hantavíroses são de extrema importância devido as consequências que causam ocasionando sérios problemas globais e/ou regionais de saúde pública graças a sua elevada morbidade e mortalidade, além de se apresentar distribuída mundialmente (CRUZ & VASCONCELOS, 2008), (FERREIRA,2003).

Segundo Oliveira Santos e colaboradores (2008) quando ocorre uma infecção viral, vários fatores devem ser analisados como o ambiente epidemiológico, as características do vírus que está afetando aquela população e as manifestações que acometem ao próprio hospedeiro, até mesmo pelo motivo dos componentes do sistema imunológico participarem diretamente da infecção, tanto que uma das maneiras de se identificar um determinado vírus e avaliar a progressão de tal doença viral é identificando a ativação celular e/ou produção de imunoglobulinas específicas e assim, aplicar estratégias de diagnóstico e prevenção para o controle. Fatores como idade, constituição genética, estado nutricional, estado imunológico são fundamentais para uma resposta contra um agente viral.

Doença causada por hantavírus frequentemente cursam com trombocitopenia em mais de 80% dos casos e sua patogênese deve-se ao fato do vírus possuir a capacidade de se aderir às plaquetas do sangue através de receptores de integrinas e com isso desencadeia a sua retirada da circulação (FERREIRA, 2003).

Podemos notar com nosso estudo apresentado que os pacientes tiveram alterações em seus exames laboratoriais e em sua maioria apresentaram uma discreta anemia por diminuição na quantidade de hemácias, hemoglobina e hematócrito baixo e, além disso, a quantidade de leucócitos aumentada de um modo geral, assim como foi relatada na literatura, com um aumento significativo de células segmentadas, descreveram também sintomas como dores no corpo, cefaléia, náuseas vômitos, diarréia e outras ocorrências no trato gastrointestinal.

Por se tratar de uma análise em fase aguda de uma doença, interferências como medicamentos e a demora para ir ao hospital para investigar sobre os sinais e sintomas manifestados podem ter sido fatores que viessem a interferir neste estudo.

Como sugerem Abbas e colaboradores (2011) as imunoglobulinas IgM e IgG exercem sua função simultaneamente para a proteção do organismo, tanto de maneira rápida e instantânea quando ao decorrer do tempo evitando infecções por antígenos, o nosso sistema imunitário precisa de um período maior para reconhecer e produzir imunoglobulinas específicas para atacar agentes infecciosos e conseqüentemente iniciar a formação do anticorpo IgM que é exposto ao sangue e levado ao local da infecção, logo em seguida há a produção de IgG, assim que os eventos agudos se desencadeiam, o organismo tenta controlar a infecção.

A meia vida do anticorpo IgM circulante é de aproximadamente 4 dias, enquanto que a meia vida de uma IgG circulante é de cerca de 21 a 28 dias, assim, essa é uma vantagem do anticorpo IgG, onde sua degradação é mais demorada, essa longa meia-vida é atribuída ao fato dele se associar ao receptor de transporte FcRn (receptores neonatais de Fc). Essa definição pode sugerir uma explicação do motivo das amostras analisadas por sorologia terem resultados negativos para IgM e alguns positivos para IgG. Oliveira Santos e colaboradores (2008) relataram que IgM e IgG são encontradas no decorrer inicial da doença e isso sugere sua produção logo após o vírus entrar em atividade no hospedeiro e assim, essas características supõem que a patogênese da infecção por hantavírus é de natureza imunopatológica.

Sendo assim, podemos afirmar que mais estudos nessas áreas são necessários, tendo em vista que este é o único estudo sobre hantavírus na região e conseqüentemente o primeiro a constatar a circulação de hantavírus neste local, ainda que tenha sido notado consideráveis níveis de infecção pregressa dos hantavírus. Nesta localidade do Araguaia não há notificações sobre a doença, porém encontramos uma reatividade de 7%, desta maneira, levantam-se diversos questionamentos como o que poderia estar acontecendo nessa região ou se por ventura essas infecções seriam do tipo

oligossintomáticas ou teria sintomatologia mais branda ou ainda se nessa área estaria circulando uma versão de hantavírus menos virulenta que o Araraquara, que nos casos sintomáticos possui uma elevada taxa de letalidade ou até mesmo que a doença possa estar transitando despercebida entre a população.

## 8 CONCLUSÕES

- Há semelhança entre a os sinais e sintomas entre diversas doenças febris e hantavirose é evidente em suas fases iniciais;
- Faz-se necessário um diagnóstico precoce e diferencial, evitando que haja confusão e até mesmo ocultar uma enfermidade e com isso, aumentando os dados epidemiológicos de outra doença, conseqüentemente;
- A identificação antecipada faz com que surtos sejam evitados e que quadros clínicos individuais se compliquem;
- Deve-se atentar para casos mais graves e iniciar tratamentos intensivos para combater a infecção, principalmente para aliviar os sintomas;
- Indivíduos acometidos devem repousar e evitar retornar as suas atividades diárias precocemente, mesmo porque ainda não há um tratamento específico para essas doenças e muito menos uma vacina característica;
- Algumas medidas preventivas devem ser adotadas para essas doenças, evitando principalmente o contato direto com o vetor como uso de telas nas residências, evitar frequentar lugares propício a adquirir a doença como, por exemplo, galpões, matas fechadas ou casas abandonadas a muito tempo, evitar contato direto com excretas de roedores, manter lugares em áreas rurais limpos e evitar acúmulo de sucatas, evitar a formação de poeira ao varrer determinados locais e assim, recomenda-se antes seja molhado com água e detergente para não formar aerossóis. Seguindo medidas profiláticas citadas, reduzem-se consideravelmente as chances de se obter a doença.

## REFERÊNCIAS

ABBAS, A. K.; LICHTMAN, A. H.; PILLAI, S. **Imunologia celular e molecular**. 7ª Ed. Rio de Janeiro: Elsevier, p 99-100, 2011

ARAÚJO, F. A. A.. **Inquéritos sorológicos em equídeos e aves silvestres para detecção de anticorpos antiarbovírus de importância em saúde pública no Brasil**. Goiânia, 2011. 158 p. Tese (Doutorado em Ciência Animal). Departamento da Escola veterinária, Universidade Federal de Goiás.

BROCATO, R. L.; HAMMERBECK, C. D.; BELL, T. M.; WELLS, J. B.; QUEEN, L. A.; HOOPER, J. W. A lethal disease model for hantavirus pulmonary syndrome in immunosuppressed syrian hamsters infected with Sin Nombre virus. **Journal of Virology**. January 2014 Volume 88 Number 2 p. 811– 819

BRONZONI, R. V. M. Duplex reverse transcription-PCR followed by nested PCR assays for detection and identification of Brazilian Alphaviruses and Flaviviruses. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 43, n. 2, p. 696 - 702. 2005

BRONZONI R.V., MORELI M.L., CRUZ A.C., FIGUEIREDO L.T.. Multiplex nested PCR for Brazilian Alphavirus diagnosis. **Transaction of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene** 2004; 98:456-61.

CRUZ, A. C. R.; VASCONCELOS, P. F. C.. Arbovírus no Brasil. **Biológico**. Jul-Dez. 2008; 70(2): 45-46

CUONG, N. V.; CARRIQUE-MAS, J.; VO BE, H.; NGUYEN, N.; TUE, N. T.; ANH, N. L.; ANH, P.H.; PHUC, N.; BAKER, S.; VOUTILAINEN, L.; INEN, A. S.; HUHTAMO, E.; UTRIAINEN, M.; SIRONEN, T.; VAHERI, A.; HENTTONEN, H.; VAPALAHTI, O.; CHAVAL, Y.; MORAND, S.; BRYANT, J.. Rodents and Risk in

the Mekong Delta of Vietnam: Seroprevalence of Selected Zoonotic Viruses in Rodents and Humans. **Vector-borne and zoonotic diseases** 15 (1), 2015

FANG, L.; GOEIJENBIER, M.; ZUO, S. Q.; WANG, L. P.; SABRA, S. L.; LOU LI, X.; LIU, K.; LIANG, L.; GONG, P.; GLASS, G. E.; GORP, E. V.; RICHARDUS, J. H.; MA, J. Q.; CAO, W. C.; VLAS, S. J.. The Association between Hantavirus Infection and Selenium Deficiency in Mainland China. **Viruses** 2015, 7, 333-351

FERREIRA, M.S.. Hantavirose. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**. Jan-Fev. 2003; 36: 81-96

FIGUEIREDO L M. The Brazilian Flaviviruses. **Microbes Infection** 2000; 2:1-7.

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

FIGUEIREDO, R. M. P.; THATCHER, B.D.; LIMA, M. L.; ALMEIDA, T. C.; ALECRIM, W. D.; GUERRA, M. V. F. Doenças exantemáticas e primeira epidemia de dengue ocorrida em Manaus, Amazonas, no período de 1998 – 1999. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical** Nov-Dez. 2007; 37(6): 476-479

FIGUEIREDO LTM, MORELI ML, BORGES AA, FIGUEIREDO GG, SOUZA RLM, AQUINO VH. Expression of a hantavirus N protein and its efficacy as antigen in immune assays. **Braz J Med Biol Res**; 41:596-599. 2008.

HIMSWORTH, C. G.; BAI, Y.; KOSOY, M. Y.; WOOD, H.; DIBERNARDO, A.; LINDSAY, R.; BIDULKA, J.; TANG, P.; JARDINE, C.; PATRICK, D. An Investigation of Bartonella spp., Rickettsia typhi, and Seoul Hantavirus in Rats (Rattus spp.) from an Inner-City Neighborhood of Vancouver, Canada: Is Pathogen Presence a Reflection of Global and Local Rat Population Structure? **Vector-borne and zoonotic diseases**. Volume 15, Number 1, 2015

MEDEIROS D.B.A., TRAVASSOS DA ROSA E.S., MARQUES A.A.R., SMITH D.B., CARNEIRO A.R., CHIANG J.O.. Circulation of hantaviruses in the influence area of the Cuiabá-Santarém highway. **Memorial Instituto Oswaldo Cruz**; 105:665-671, 2010.

MELDAU, D. C. “**Febre Mayaro**”, InfoEscola – Navegando e aprendendo, 2012. Disponível em <<http://www.infoescola.com/doencas/febre-de-mayaro/>>; acesso em: 06/01/2013.

MENDES, M. S.; YEH-LI, H.; ROMANO, T. G.; SANTOS, E. V., HIROTA, A. S.; KONO, B. M. Síndrome da angústia respiratória aguda associada à varicela em paciente adulto: exemplo de suporte respiratório extracorpóreo em doenças endêmicas brasileiras **Revista Brasileira de Terapia Intensiva**.; 26(4): 410-415, 2014.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. Secretária de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. **Doenças Infecciosas e Parasitárias: Guia de Bolso** – 6ª ed. rev- Brasília, 2006, p. 156-160.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. Secretaria de Vigilância em Saúde / MS. Departamento de Vigilância Epidemiológica. **HANTAVIROSES** - CID 10: B33.4.

OLIVEIRA, M. S.. **ENAGIS-MAY: Uma proposta de ensaio de aglutinação indireta para detectar no sangue imunoglobulinas contra o vírus Mayaro.** Viçosa, 2008. 80 p. Dissertação (Mestrado em Biologia Celular e Estrutural). Departamento de Biologia Geral, Universidade Federal de Viçosa.

OLIVEIRA SANTOS, N. S.; ROMANOS, M. T. V.; WIGG, M. D.. **Introdução à virologia humana.** 2ª Ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, p 59-61, p 483-485, 2008

PINHEIRO, F.; PINHEIRO, M.; BENSABATH, G.; CAUSEY, O. R.; SHOPE, R. Epidemia de vírus Oropouche em Belém. Publicado originalmente como Nota Prévia em **Revista do Serviço Especial de Saúde Pública**, v. 12, n. 1, p. 15 – 23, 1962.

PINHEIRO, F. P.; TRAVESSOS DA ROSA, A. P. A.; VASCONCELOS, P. F. C. Febre por Oropouche. In: LEÃO. Doenças Infecciosas e Parasitárias: Enfoque Amazônico. Belém: Cejup: **UEPA: Instituto Evandro Chagas**, 1997. p 285-298

TERZIAN AC, MONDINI A, BRONZONI RV, ET AL. Detection of Saint Louis encephalitis virus in Dengue-suspected cases during a dengue 3 outbreak. **Vector-Borne and Zoonotic Diseases** 2011; 11:291-300.

TRINDADE, G. S.; FERNANDES, A. T. S.; COSTA, G. B.; FIGUEIREDO, P. O.; ABRAHÃO, J. S.; KROON, E. G.; FIGUEIREDO, L. T. M.; FONSECA, F.G. Could hantavirus circulation superpose areas of highly endemic vaccinia virus outbreaks? A retrospective seroepidemiological study in State of Minas Gerais **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical** 47(6):778-782, Nov-Dec, 2014

VASCONCELOS, P. F. C.; TRAVASSOS DA ROSA, J. F. S.; GUERREIRO, S. C.; DÉGALLIER, N.; TRAVASSOS DA ROSA, E. S; TRAVASSOS DA ROSA, A. P. A. Primeiro registro epidêmico causado pelo vírus Oropouche. **Revista Instituto de Medicina Tropical.** Jul-Ago, 2005; 31(4): 271-278.

VASCONCELOS PF. Yellow Fever. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical** 2003; 36:275-293.

VASCONCELOS PFC, TRAVASSOS-DA-ROSA APA, PINHEIRO FP, RODRIGUES SG, TRAVASSOS-DA-ROSA ES. Arboviroses. *In*: Cimerman S, Cimerman B,. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**. São Paulo: Editora Atheneu; 2003. p. 363-386.

## APÊNDICE A

### TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Título da pesquisa: “INQUÉRITO SOROEPIDEMIOLÓGICO PARA HANTAVÍRUS E DETECÇÃO MOLECULAR DE ARBOVÍRUS NA REGIÃO DO MÉDIO ARAGUAIA- MATO GROSSO”.

Informações importantes: você está sendo convidado (a) a participar, como voluntário (a), de uma pesquisa. Após receber os esclarecimentos e as informações a seguir, no caso de aceitar a fazer parte do estudo, assine ao final do documento, que está em duas vias. Um delas é seu e a outra do pesquisador. Em caso de recusa você não será penalizado (a) de forma alguma, e o consentimento poderá ser tirado a qualquer momento, sem prejuízo. Em caso de dúvidas sobre a pesquisa você poderá entrar em contato com os pesquisadores abaixo. Em caso de dúvidas sobre os seus direitos como participante nessa pesquisa, você poderá entrar em contato com o Comitê de Ética da Universidade Federal de Goiás, no telefone: 3606-8304.

1. Pesquisador responsável: Dr. Marcos Lázaro Moreli Contato: celular (64 8135-2064); e-mail (mlmoreli@hotmail.com)

2. Mestranda da Pesquisa: Caroline Brandão Monteiro Contato: celular (63 9275-4767); e-mail (cah.monteiro18@hotmail.com)

#### Informações sobre a pesquisa

Justificativa: Os arbovírus, ou vírus transmitidos por artrópodes são importante causa de doenças nos seres humanos. Muitos desses agentes estão associados à doença febril aguda de curta duração, com gravidade extremamente variável abrangendo desde casos assintomáticos até casos fatais associados a quadros hemorrágicos e infecção no sistema nervoso central. Os arbovírus são importantes em termos de saúde pública, pois alguns deles estão associados a surtos urbanos como os vírus da Dengue, vírus Oropouche e vírus Mayaro. No Estado de Goiás diversos casos de Dengue têm ocorrido e apesar disso poucos estudos têm sido realizados para investigar a

circulação desses e de outros possíveis arbovírus, através do diagnóstico diferencial. O presente projeto tem como objetivo investigar a presença desses arbovírus a partir de amostras de fase aguda suspeitas de infecção pelo dengue. As amostras usadas foram coletadas retrospectivamente, estando armazenadas nas sorotecas do Hospital Público do Município de Barra do Garças – MT e levadas para análise no Laboratório de Virologia da UFG. Portanto, a pesquisa não apresenta prejuízos ou riscos do ponto de vista individual e ético, visto que otimiza o material existente e as informações serão sigilosas. Sendo assim, iniciadores específicos para identificação de vírus pertencentes aos gêneros *Flavivirus*, *Alphavirus* e *Bunyavirus* assim como para identificação das espécies serão utilizados. Em seguida o genoma dos vírus serão sequenciados e estudos filogenéticos serão utilizados para avaliar a distribuição dos vírus no Estado. Paralelamente ao trabalho também será realizada a produção de anticorpos monoclonais para os vírus Oropouche, vírus da Encefalite de Saint Louis e vírus Rocio visando à utilização desta ferramenta como insumo no diagnóstico sorológico dos vírus no Estado de Goiás. Concomitantemente, hantavírus são agentes causadores das hantavirose, doença transmitida por roedores e que representam um grave problema de saúde pública no Brasil. Atualmente 1258 casos da doença foram registrados no país. O diagnóstico das hantavirose é feito somente em casos graves pelos centros de referências do país com resultados retardados e não contribuindo para medidas de prevenção aos moradores daquela determinada localidade. Estudos envolvendo a avaliação dos níveis de anticorpos na população ou ainda em indivíduos que tiveram contato com a hantavirose são escassos. O município de Barra do Garças – MT registrou a ocorrência de suspeita de investigação. Portanto é de grande interesse conhecer o perfil sorológico dos indivíduos que estão próximos a área de risco para hantavirose, zona rural e urbana. Também pretendendo investigar os aspectos da doença e de sua distribuição no município de Barra do Garças – MT. A obtenção de informações contribuirá para o planejamento de ações de atenção a saúde com a melhora de qualidade de vida da população.

Objetivo: Realizar um inquérito sorológico para hantavírus em moradores da região do Médio Araguaia e detectar o genoma dos vírus pertencentes aos

gêneros *Alphavirus*, *Flavivirus* e *Orthobunyavirus* em amostras de fase aguda coletadas de pacientes com suspeitas de vírus Dengue.

Procedimento: O projeto consiste inicialmente na coleta de informações, dados de prontuários e aplicação de questionários através de entrevistas com coleta de amostras clínicas de moradores do município de Barra do Garças. Após concordância com a entrevista e assinatura do TCLE (Termo de Consentimento Livre Esclarecido), os participantes serão submetidos a um questionário e por livre e espontânea vontade, a amostra sanguínea será colhida por punção venosa e colocado em tubos. Após a coleta de sangue, o mesmo será enviado aos laboratórios da relação materno-infantil e ao fisiotox da Universidade Federal de Mato Grosso para estocagem e posteriormente transportado para ser analisado (sorologia e técnica molecular) por uma câmara de gás nitrogênio. Será utilizado somente para fins nesse projeto de pesquisa com realização de testes para detecção de anticorpos contra arbovírus e hantavírus.

OBS: SEUS DADOS SERÃO SIGILOSOS

Eu \_\_\_\_\_

RG: \_\_\_\_\_ CPF: \_\_\_\_\_

Concordo em participar do estudo “INQUÉRITO SOROEPIDEMIOLÓGICO PARA HANTAVÍRUS E DETECÇÃO MOLECULAR DE ARBOVÍRUS NA REGIÃO DO MÉDIO ARAGUAIA- MATO GROSSO” como sujeito. Declaro que fui devidamente informado e esclarecido sobre a pesquisa.

PACIENTE \_\_\_\_\_

PESQUISADOR \_\_\_\_\_

Jataí, \_\_\_ de \_\_\_\_\_ de 2014.



## APÊNDICE B

### QUESTIONÁRIO DO INQUÉRITO SOROLÓGICO

As informações que se seguem são relativas a cada indivíduo que aceitou a participar da entrevista após assinatura espontânea do Termo de Consentimento Livre Esclarecido (TCLE). **Os dados colocados aqui são confidenciais.**

**Nome:**

**Data de Nascimento:** / / **Idade** anos **Sexo:** F ( ) M ( )

**Data de Coleta:** / / **Nº Protocolo:** **Início Sintomas (dias):**

**Quais sintomas?**

**Raça/Cor:** Branco ( ); Negro ( ); Pardo ( ); Indígena ( ); Amarela ( ); Ignorado ( )

**Endereço:** Rua n°

**Bairro:** **Zona:**

**Naturalidade:** **Estado:**

**Ocupação:** Do lar ( ); Estudante ( ); Trabalhador rural ( ); Comerciante ( ); Aposentado ( ); Militar ( ); Outros

**Telefone de contato:**

**Escolaridade:**

*Você já desenvolveu ou/e se expôs a atividades ligadas a:*

**Treínamento Militar em área rural ou silvestre**

Sim ( ) Não ( ) Ignorado ( )

**Desmatamento, aragem de terra, plantio agrícola, colheita agrícola, corte de lenha e outros semelhantes**

Sim ( ) Não ( ) Ignorado ( )

**Exposição a limpeza de casa, despensa, galpão, depósitos, sótão, porão e outros semelhantes**

Sim ( ) Não ( ) Ignorado ( ) 2

**Moagem, armazenamento de grãos, arrumou ou moveu fardos de lenha, capim ou outros semelhantes**

Sim ( ) Não ( ) Ignorado ( )

**Dormiu/descansou em barracas, galpão, paiol e outros locais semelhantes**

Sim ( ) Não ( ) Ignorado ( )

**Transporte e ou carregamento (em veículos motorizados) de cargas em geral**

Sim ( ) Não ( ) Ignorado ( )

**Pescou, caçou, realizou turismo rural ou participou de atividades de ecoturismo ou similares**

Sim ( ) Não ( ) Ignorado ( )

**Teve contato direto com rato do mato, vivo ou morto ou suas excretas/vestígios (fezes, urina e/ou cheiro da urina, sangue, saliva, roeduras, pegadas, trilhas, manchas e outros sinais de ratos)**

Sim ( ) Não ( ) Ignorado ( )

**Manifestações Clínicas Anteriores (A) ou Recentes (R) (sinais e sintomas)**

1 Sim 2-Não 3 Ignorado

Febre ( ); Cefaléia ( ); Hipotensão ( ); Dor Torácica ( ); Sintomas Neurológicos ( );

Tosse Seca ( ); Mialgia Generalizada ( ); Choque Tontura/ Vertigem ( ); Astenia ( );

Dispnéia ( ); Dor Lombar (região dos rins) ( ); Náuseas/Vômito ( ); Diarréia ( );

Insuficiência Cardíaca ( ); Petéquias ( ); Insuficiência Respiratória Aguda ( ); Dor

Abdominal ( ); Insuficiência Renal ( );

Outros (Especificar)

Autorizo a utilização dos meus dados acima identificado na pesquisa intitulada  
**“ESTUDOS DE IDENTIFICAÇÃO DE HANTAVÍRUS E ARBOVÍRUS NA  
REGIÃO DO MÉDIO ARAGUAIA MATO GROSSO”**

**Barra do Garças, / /**

**Assinatura do paciente ou responsável**

