



**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL TROPICAL**

**PESQUISA DE ANTICORPOS ANTI-*Leptospira* spp. E ANTI-*Hantavirus* EM GRUPOS  
OCUPACIONAIS DO MUNICÍPIO DE GARANHUNS NO ESTADO DE  
PERNAMBUCO**

**GESIKA MARIA DA SILVA**

**RECIFE**

**2014**



**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL TROPICAL**

**PESQUISA DE ANTICORPOS ANTI-*Leptospira* spp. E ANTI-*Hantavirus* EM GRUPOS  
OCUPACIONAIS DO MUNICÍPIO DE GARANHUNS NO ESTADO DE  
PERNAMBUCO**

**GESIKA MARIA DA SILVA**

Dissertação submetida à Coordenação do Curso de Pós-Graduação em Ciência Animal Tropical, como parte dos requisitos para a obtenção do título de Mestre em Ciência Animal Tropical.

Orientador: Prof. Dr. José Wilton Pinheiro Júnior

Co-orientador: Prof. Dr. Daniel Friguglietti Brandespim

**RECIFE**

**2014**

**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO**  
**PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL TROPICAL**

**PESQUISA DE ANTICORPOS ANTI-*Leptospira* spp. E ANTI-*Hantavirus* EM GRUPOS  
OCUPACIONAIS DO MUNICÍPIO DE GARANHUNS NO ESTADO DE  
PERNAMBUCO**

Dissertação elaborada por

GESIKA MARIA DA SILVA

Aprovada em

/ /

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. José Wilton Pinheiro Júnior

Orientador – Unidade Acadêmica de Garanhuns - UFRPE

Prof. Dr. Daniel Friguglietti Brandespim

Co-orientador – Unidade Acadêmica de Garanhuns - UFRPE

Prof. Dr. Rinaldo Aparecido Mota

Departamento de Medicina Veterinária - UFRPE

Profa. Dr<sup>a</sup> Alessandra Abel Borges

Universidade Federal de Alagoas - UFAL

*Aprendi que mesmo quando todas as evidências apontam para o “pouco provável”, ainda assim vale a pena insistir no que se acredita e não medir esforços até demonstrar que valeu sim buscar o que poucos acreditavam ser possível e que nada é realizado quando se caminha sozinho.*

*Gesika Maria da Silva*

## DEDICATÓRIA

*Aqueles que acreditaram e acreditam muito mais em mim que eu mesma e que estiveram ao meu lado sempre com o pensamento de que tudo ia dar certo, minha mãe Maria Nazarete Bernardino da Silva e meu grande amigo prof. Dr. Daniel Friguglietti Brandespim, sem vocês nada disso seria possível.*

## AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus por todas as bênçãos e graças alcançadas, e por me guiar e me manter firme no meu propósito, por me presentear com bons amigos e oportunidades.

A minha mãe, Maria Nazarete por todo o apoio, incentivo, paciência e por compartilhar comigo todas as alegrias e angústias vividas nesse período, e ao meu pai Francisco Bernardino (*in memoriam*) que de onde está me manda forças e me abençoa, é por eles que sigo firme.

A minha família, a melhor do mundo, meus irmãos (ãs) Elizabete, Betânia, Beto, Sérgio, Gil, Gizélia, por todo o apoio, por mesmo distante (alguns) ainda sim se fazerem presentes e a todos os meus sobrinhos que alegam minha vida. Em especial, a meu irmão Beto, minha cunhada Gleice e sobrinhas Káren e Kamily, por me receberem e me fazerem sentir que tenho um segundo lar, por todo o apoio durante o período que cursei as disciplinas do mestrado.

Minha eterna gratidão ao meu orientador prof. Dr. José Wilton Pinheiro Júnior, por ter aceitado me orientar sem nem parar para pensar, e conduzir uma pesquisa que foi um desafio, por se tratar de uma experiência diferente das inúmeras pesquisas que ele orienta. Por toda sua dedicação, atenção, orientações, paciência comigo, e por ter possibilitado partilhar de grandes momentos de aprendizado, pela convivência no laboratório (experiência nova pra mim) e a campo, muito obrigada.

Ao meu querido amigo e co-orientador prof. Dr. Daniel Friguglietti Brandespim pelo apoio incondicional, orientações, incentivo, pela oportunidade de poder participar do grupo de estudos em saúde pública, por todo o aprendizado durante os anos de convivência, pela inspiração, contatos e em inúmeros momentos “desenrolar” minha vida, obrigada mesmo.

Aos participantes da pesquisa, a todos que pacientemente responderam ao questionário e se disponibilizaram em meio a suas atividades de trabalho participar da nossa pesquisa. As equipes da Locar, da associação de material de reciclagem e do Posto de Saúde São Pedro.

A minha querida amiga Helena Santos, nossa técnica, pela disponibilidade e atenção, por toda a contribuição no trabalho, obrigada.

A equipe da Secretaria Municipal de Saúde, em especial Atenção Básica e Epidemiologia. Aos meus queridos amigos da V GERES, Dulcineide Guilherme, Reginaldo Santos, Lúcia Xavier, Lurdes, obrigada por toda ajuda e incentivo.

A professora Dr<sup>a</sup> Alessandra Abel Borges por toda contribuição na pesquisa, atenção, disponibilidade e aprendizado, a toda equipe do laboratório de Virologia – Lapevi da UFAL, em especial a Nedja e Alfredo Júnior pela disponibilidade e aprendizado.

Ao professor Dr. Luis Antonio Mathias e toda equipe do laboratório de diagnóstico de leptospirose e brucelose da UNESP campus Jaboticabal, pela oportunidade e contribuição na pesquisa. Em especial a Assis que tão pacientemente me ensinou tudo e sempre com uma disposição para trabalhar admirável.

A Jamile Taniele e Raquel Santos, não tenho palavras para agradecer por tudo que fizeram por mim, por toda atenção e carinho, obrigada meninas. As melhores companhias do mundo, Glaucenyra Santos, Renata e Thalita, vocês iluminaram os meus dias em Jaboticabal.

A tio Antônio, tia Zefinha, as minhas madrinhas Creuza e Izabel, vó Alzira e vo Zé, a todos da minha família. Aos meus amigos, Michele Oliveira, Jomel Francisco, Lidiane Oliveira, Fernando Barbosa, Júnior Mário por todo o carinho, apoio e atenção a mim dedicado.

A toda equipe do LARICA, vocês fizeram os meus dias mais felizes e com vocês qualquer rotina perde a cara de rotina, porque tudo fica mais leve. Obrigada por tudo, Acidália Claudino, Ana Karolyna, Anne, Breno Santana, Bruna, Érica Chaves, Fernando Barbosa, Flavia, Joab Carvalho, Jonas Borges, Juliana Pimentel, Luan, Márcia Torres, Milena Brandão, Paulo Jedyson, Pollyanne Raysa, Roberta Arruda, Saruanna Milena.

Aos meus grandes amigos Júnior Mário e Adalberto Leite, por todo o aprendizado e paciência comigo, pela contribuição na pesquisa e por me ajudarem quando cheguei ao laboratório, vocês foram essenciais.

A Fundação de Amparo à Ciência e Tecnologia do Estado de Pernambuco – FACEPE pela concessão da bolsa.

A todos os professores que contribuíram para minha formação, a todos os colegas do PGCAT, que me acolheram, por todo o aprendizado vivido durante as disciplinas e por todo o apoio e incentivo e em especial as minhas grandes amigas, que acompanharam o desenvolvimento do projeto e sempre que possível contribuíram de maneira direta ou indireta, Aliny Nascimento e Emanuela Mesquita, muito obrigada.

Aos funcionários da UAG e do CENLAG, aos técnicos e em especial as minhas amigas que sempre me apoiaram Gracineide Santos e Wellita Bastos.

Agradeço a todos que contribuíram para a realização deste trabalho, serei eternamente grata aos participantes da pesquisa e a todos colaboradores.

Muito obrigada!

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO.....</b>	<b>11</b>
<b>2</b>	<b>REVISÃO DE LITERATURA.....</b>	<b>13</b>
<b>2.1</b>	<b>Hantavirose.....</b>	<b>13</b>
2.1.1	Etiologia.....	13
2.1.2	Epidemiologia.....	14
2.1.3	Patogenia.....	18
2.1.4	Sinais clínicos e sintomas.....	19
2.1.5	Diagnóstico.....	20
2.1.6	Profilaxia.....	21
<b>2.2</b>	<b>Leptospirose.....</b>	<b>22</b>
2.2.1	Etiologia.....	22
2.2.2	Epidemiologia.....	23
2.2.3	Patogenia.....	26
2.2.4	Sinais clínicos e sintomas.....	27
2.2.5	Diagnóstico.....	28
2.2.6	Profilaxia.....	29
<b>3</b>	<b>OBJETIVO.....</b>	<b>30</b>
3.1	Geral.....	30
3.2	Específicos.....	30
	<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>31</b>
<b>5</b>	<b>ARTIGOS CIENTÍFICOS</b>	<b>41</b>
5.1	Pesquisa de anticorpos anti- <i>Leptospira</i> spp. em grupos ocupacionais do município de Garanhuns, Pernambuco	41
5.2	Inquérito sorológico para <i>Hantavirus</i> em trabalhadores urbanos e rurais em Pernambuco	56
<b>6</b>	<b>CONCLUSÃO</b>	<b>70</b>
	<b>APÊNDICES</b>	<b>71</b>
	<b>ANEXOS</b>	<b>77</b>



## RESUMO

Objetivou-se com o presente trabalho determinar a presença de anticorpos anti-*Hantavirus* e anti-*Leptospira* spp. em grupos ocupacionais do município de Garanhuns no Estado de Pernambuco, Brasil. Para a realização da sorologia para hantavirose e leptospirose, foram obtidas 156 e 154 amostras, respectivamente. O método utilizado para a detecção de anticorpos IgG contra a proteína N do *Hantavirus* Araraquara foi o ELISA *in house* e para a sorologia de leptospirose, utilizou-se a técnica de Soroaglutinação Microscópica (MAT). Para análise dos fatores de risco aplicou-se um questionário com perguntas objetivas. A prevalência de anticorpos anti-*Hantavirus* foi de 1,9% (3/156; I.C. 0,4% - 5,5%), com duas amostras reagentes com títulos de 200 (66,7%) e uma de 400 (33,3%). Todos os indivíduos sororreagentes para *Hantavirus* (100,0%) desta pesquisa eram do sexo masculino e da zona urbana. Em relação à idade, observou-se um maior número de sororreagentes na faixa etária entre 18 e 40 anos ( $p=0,009$ ). A prevalência de anticorpos anti-*Leptospira* spp. foi de 5,2% (8/154; I.C. 2,2% - 9,9%), sendo observada nos participantes da zona urbana uma prevalência de 5,7% (5/88; I.C. 1,8% - 12,7%) e nos da zona rural 4,6% (3/66; I.C. 0,9% - 12,7%). Os sorovares mais frequentes foram o Grippytyphosa (12,5%) na área rural, e na área urbana o Autumnalis (12,5%), enquanto o Wolffi (25,0%) e o Australis (50,0%) foram verificados tanto na área rural como na urbana. Na análise de fatores de risco não foi observada associação entre as variáveis estudadas e a sorologia. Este foi o primeiro estudo realizado no município de Garanhuns a relatar a presença de IgG anti-*Hantavirus* em amostras séricas humanas e relatar a presença de anticorpos anti-*Leptospira* spp. em trabalhadores urbanos e rurais do município. Estes achados alertam para a atenção e realização de pesquisas em áreas em que há uma baixa prevalência e até mesmo para áreas silenciosas, pois desta forma medidas de controle e prevenção poderão ser implementadas com o intuito de garantir a saúde da população exposta.

**Palavras-chave:** diagnóstico, epidemiologia, leptospirose, saúde pública, SCPH.

## ABSTRACT

The objective of the present work was to determine the presence of anti-*Hantavirus* antibodies and anti-*Leptospira* spp. occupational groups in the municipality of Garanhuns Pernambuco State, Brazil. To perform the serology for *Hantavirus* and leptospirosis, 156 and 154 samples were obtained, respectively. The method used for the detection of IgG antibodies to *Hantavirus* N protein was Araraquara in-house ELISA serology and leptospirosis was used technique Microscopic Agglutination Test (MAT). To analyze the risk factors applied a questionnaire with objective questions. The prevalence of anti-*Hantavirus* Antibodies were 1.9 % (3/156 CI 0.4 %-5.5%) , with two reagent samples with titers of 200 (66.7%) and 400 (33.3%). All seropositive individuals to *Hantavirus* (100.0%) in this study were male and the village. Regarding age, there was a higher number of seropositive subjects aged between 18 and 40 years (p=0.009). The prevalence of antibodies to *Leptospira* spp. was 5.2 % (8/154 CI 2.2%-9.9%), a prevalence of 5.7 % (5/88 CI 1.8 %-12.7 % ) participants was observed in the urban area, and countryside of 4.6% (3/66 , CI 0.9%-12.7%). The most common serotypes were the Grippotyphosa (12.5 %) in rural areas and in the urban area autumnalis (12.5 %), while the Wolffi (25.0%) and Australis (50.0%) were observed both in rural areas as in urban. In the analysis of risk factors, no association was observed between these variables and serology. This was the first study conducted in the city of Garanhuns to report the presence of IgG anti-*Hantavirus* in human serum samples and report the presence of anti-*Leptospira* spp. in urban and rural workers of the municipality. These findings draw attention to the care and conduct research in areas where there is a low prevalence and even silent areas, because this way of control and prevention measures can be implemented in order to ensure the health of the exposed population.

**Keywords:** diagnosis, epidemiology, leptospirosis, public health, SCPH.

## 1 INTRODUÇÃO

A hantavirose é uma antropozoonose viral aguda que pode se manifestar sob diferentes formas clínicas em infecções humanas, como inaparente ou subclínica, cuja suspeita diagnóstica é fundamentada nos antecedentes epidemiológicos, ou ainda de forma grave e bem característica, como a Febre Hemorrágica com Síndrome Renal (FHSR), típica da Europa e da Ásia, e a Síndrome Cardiopulmonar por *Hantavirus* (SCPH), detectada somente nas Américas (BRASIL, 2010). Entretanto, uma nova denominação para essas doenças tem sido proposta, sugerindo o uso apenas do termo “doença por hantavírus” em substituição à dicotomia FHSR/SCPH (RASMUSON et al., 2011; CLEMENT et al., 2012).

A ocorrência da infecção humana por *Hantavirus* está relacionada ao contato direto com os roedores, principais reservatórios do *Hantavirus*, essa pode ser contraída em áreas rurais com alta densidade desses animais, devido à presença de locais propícios à sua habitação como os paióis de fazenda ou galpões para armazenamento de grãos e ainda durante campanhas militares ou em áreas periurbanas com grande aglomeração populacional e baixas condições sanitárias (FERREIRA, 2003).

O gênero *Hantavirus*, cuja denominação deriva de um rio da Coreia, inclui vírus reconhecidos inicialmente nesse mesmo país e, posteriormente, em extensas áreas da Ásia e Europa, com vírus isolados em ratos infectados, sendo o *Apodemus agrarius* o principal reservatório na Coreia. Na década de 80 do século XX, foi isolado o *Seoul virus*, circulando em roedores urbanos – *Rattus rattus* e *Rattus norvegicus* (SCHATZMAYR, 2001).

Nas Américas, a hantavirose caracteriza-se como uma zoonose associada aos roedores silvestres da família *Muridae*, subfamílias *Sigmodontinae* (América do Norte, Central e do Sul) e *Arvicolinae* (América do Norte). É considerada uma doença emergente, cujo agente etiológico, pertence à família *Bunyaviridae* (BRASIL, 2004).

A leptospirose, por sua vez, também é uma antropozoonose, causada por bactérias do gênero *Leptospira* que pode provocar uma doença infecciosa febril de início abrupto e que, normalmente, apresenta-se de forma leve (infecções inaparentes), podendo ainda, evoluir para a forma grave (HORSCH, 1988).

O gênero *Leptospira* apresenta 13 espécies patogênicas com mais de 260 sorovares já identificadas (ADLER; MOCTEZUMA, 2010), sendo os roedores sinantrópicos das espécies *Rattus norvegicus*, *Rattus rattus* e *Mus musculus*, os reservatórios desse agente, que após infectarem-se não desenvolvem a doença e tornam-se portadores, eliminando-o na urina e desta forma contaminam água, solo e alimentos (BRASIL, 2009).

Considerada como uma doença de risco ocupacional, a leptospirose pode acometer, além da população residente em áreas com aglomeração populacional e baixas condições sanitárias que favorecem a proliferação de roedores, os trabalhadores em limpeza e desentupimento de esgotos, garis, catadores de lixo, agricultores, veterinários, dentre outros profissionais por apresentarem maior exposição ao agente (BRASIL, 2009).

Algumas situações, como as consequências do aumento populacional, a urbanização desestruturada com exclusão social e a ocupação de áreas naturais, anteriormente não ocupadas, são fatores já conhecidos para a ocorrência da enfermidade. Trata-se da ação antrópica desordenada, desestruturando o ecossistema e viabilizando a aproximação do próprio homem com agentes patogênicos desconhecidos. Desta forma, surgem oportunidades para a ampliação e utilização do conhecimento multiprofissional, auxiliando na orientação às práticas de prevenção da saúde, conforme as características de cada comunidade (SCHMIDT, 2007).

Tendo em vista que na região Nordeste do país, em especial no estado de Pernambuco, na cidade de Garanhuns, os relatos na literatura sobre a real situação da infecção por *Hantavirus* e *Leptospira* spp. em humanos são escassos. E que, nesta região há reservatórios desses agentes, foi realizado este estudo com o intuito de determinar a prevalência das infecções e identificar os possíveis fatores de risco associados, para que, a partir dos resultados obtidos, programas de promoção em saúde possam ser elaborados com o intuito de minimizar o risco para os grupos ocupacionais e conseqüentemente garantir uma melhor qualidade de saúde da população da região em estudo.

## 2 REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 Hantavirose

#### 2.1.1 Etiologia

A febre hemorrágica epidêmica foi detectada pela primeira vez em 1951, em soldados na Coreia, tendo como principal característica a grave disfunção renal (SMADEL, 1953). Desde então, muitos nomes foram utilizados para descrever o que parecia se tratar da mesma enfermidade (febre hemorrágica com síndrome renal ou hemorrágica nefrose-nefrite na antiga União Soviética e nefropatia epidêmica no norte da Escandinávia) (LEE; LEE; JOHSON, 1978).

A descoberta do agente etiológico da febre hemorrágica com síndrome renal foi concretizada por Ho Wang Lee em 1976, na Coreia (LEE; DALRYMPLE, 2003). Lee et al. (1978) concerniu o isolamento do agente etiológico da febre hemorrágica da Coreia, o *Hantavirus* hoje conhecido como *Hantaan virus*, de roedores da espécie *Apodemus agrarius*.

Após os surtos de doenças respiratórias na região de fronteira de Nova México, Arizona, Colorado e Utah no sudoeste dos Estados Unidos (Four Corners), foram iniciadas pesquisas com casos clínicos e com roedores com o objetivo de identificar a possível relação com *Hantavirus*. Nichol (1993) realizou pesquisas em populações de roedores da espécie *Peromyscus maniculatus* e a relação desses com os casos de doenças respiratórias e identificou que, esse roedor da América do Norte era um possível reservatório do *Hantavirus* que, posteriormente foi identificado como *Sin Nombre virus*, responsável por uma grave doença pulmonar.

O primeiro isolamento do vírus do gênero *Hantavirus* no Brasil, foi realizado por Leduc et al. (1985), em ratos da espécie *Rattus norvegicus*, capturados em Belém, estado do Pará. Até a década de 90, existiam apenas dois inquéritos sorológicos, tanto em roedores (LEDUC et al., 1985) quanto em humanos (IVERSSON et al., 1994), porém no ano de 1993, no estado de São Paulo, na cidade de Juquitiba, três pacientes foram diagnosticados com hantavirose (SILVA et al., 1997).

O gênero *Hantavirus* pertence à família *Bunyaviridae* e possui 24 espécies oficialmente identificadas: *Andes virus*, *Bayou virus*, *Black Creek Canal virus*, *Cano Delgadito virus*, *Dobrava-Belgrade virus*, *El Moro Canyon virus*, *Hantaan virus*, *Isla Vista virus*, *Khabarovsk vírus*, *Laguna Negra virus*, *Muleshoe virus*, *New York virus*, *Prospect Hill virus*, *Puumala virus*, *Rio Mamore virus*, *Rio Segundo virus*, *Saaremaa virus*, *Sangassou virus*, *Seoul virus*, *Sin Nombre virus*, *Thailand virus*, *Thottapalayam virus*, *Topografov vírus e Tula virus* (ICTV, 2013), além de outras cinco identificadas no Brasil, que estão associadas à Síndrome Cardiopulmonar por *Hantavirus* (SCPH), o Juquitiba/Araucária (SUZUKI et al., 2004),

Araraquara (SUZUKI et al., 2004), Laguna Negra (RABONI et al., 2009), Anajatuba (ROSA et al., 2010) e Castelos dos Sonhos (ROSA et al., 2011). Há dois *Hantavirus* que só foram identificadas em roedores, o Rio Mearim (ROSA et al., 2005) e Jabora (OLIVEIRA et al., 2012).

Os *Hantavirus* são RNA fita negativa, que possuem o material genético em três segmentos: o grande (L) que codifica a proteína L, responsável pelas funções de transcriptase ou replicase viral; o médio (M), que codifica uma poliproteína que quando clivada, gera as duas glicoproteínas do envelope ( $G_n$  e  $G_c$ ); e o pequeno (S) que codifica a proteína do nucleocapsídeo (ANTIC et al., 1992). Segundo os mesmos autores, o *Hantavirus* possui áreas que são conservadas entre todos os vírus do gênero para a mesma sequência de informação.

A sobrevivência do *Hantavirus* no ambiente ainda não é completamente conhecida, supõe-se que, em ambiente sob a luz solar, sobreviva até seis horas, enquanto em ambientes fechados e protegidos da luz solar e ação dos ventos, pode permanecer ativo no ambiente por até três dias. Ainda, conhece-se que esses são sensíveis a diversos desinfetantes, tais como: compostos fenólicos, solução de hipoclorito de sódio a 2,5%, lisofórmio, detergentes e álcool etílico a 70% (BRASIL, 2009).

### 2.1.2 Epidemiologia

Estudos sorológicos já foram realizados em vários países com o objetivo de determinar a prevalência da infecção por *Hantavirus*. Na Colômbia, Máttar e Parra (2004) determinaram uma prevalência de 13,5% (12/88) em amostras de trabalhadores de 12 comunidades da área rural da Córdoba e Sucre. Anualmente na Rússia, cerca de 10.000 a 12.000 casos clínicos de hantavirose (*Puumala virus* e *Dobrava Belgrade virus*), caracterizados por insuficiência renal são relatados (KLEMPA et al., 2008). Segundo dados do Centro de Controle de Doenças e Prevenção (CDC), até dezembro de 2012 foram contados 616 casos da síndrome pulmonar nos Estados Unidos, com uma mortalidade de 36% (CDC, 2013).

No Brasil, durante o período de 1993 a 2013, ocorreram 1.640 casos de hantavirose e 653 óbitos (BRASIL, 2013a; BRASIL, 2013b). Outros estudos sorológicos foram realizados em diversos estados do Brasil para determinar a prevalência da infecção por *Hantavirus*, conforme descrito na tabela 1.

Tabela 1 – Inquéritos sorológicos humanos, sobre a infecção por *Hantavirus*, realizados no Brasil.

<b>Autor</b>	<b>Ano</b>	<b>Estado</b>	<b>Prevalência (%)</b>	<b>Método diagnóstico</b>
Hindrichsen et al.	1993	PE	5,1	ELISA; RIFI.
Iversson et al.	1994	SP	4,0	ELISA; RIFI; Soroneutralização.
Morales	1999	BA	0,4	ELISA
Holmes et al.	2000	SP	1,2	ELISA
Mendes et al.	2004	MA	13,3	ELISA
Limongi et al.	2009	MG	3,0	ELISA
Medeiros et al.	2010	PA; MT	5,1	ELISA; RT-PCR.
Souza et al.	2011	SC	3,5	ELISA; RIFI.
Lima et al.	2011	CE	1,4 2,8	ELISA <i>Immunoblotting</i>
Santos-Júnior	2012	AL	4,0	ELISA
Badra et al.	2012	SP	4,7	ELISA
Raboni et al.	2012	PR	2,4	ELISA
Souza et al.	2012	SC	1,9	ELISA; RIFI.
Moreli et al.	2012	BA	0,6	ELISA
Gimaque et al.	2012	AM	0,6	ELISA
Pereira et al.	2012	SC	2,3	ELISA
Santos et al.	2013	MT	13	ELISA
Lamas et al.	2013	RJ	1,6	ELISA

Convenções: ELISA- Ensaio imunoenzimático; Imunofluorescência indireta; RT-PCR-Transcrição reversa- Reação em cadeia da polimerase.

A transmissão do agente ocorre quando os roedores infectados eliminam o vírus na urina, fezes e saliva e os hospedeiros susceptíveis inalam aerossóis, contendo o agente patogênico, formado a partir do ressecamento das excreções (FERREIRA, 2003).

A evidência de possível transmissão pessoa a pessoa do *Hantavirus* Andes, que parece ser característica somente desse *Hantavirus*, foi relatada por Padula et al. (1998).

A transmissão do *Hantavirus* entre os reservatórios ocorre de maneira horizontal e possui relação direta com a idade. A maior prevalência de anticorpos é observada em animais mais

velhos (SCHMALJOHN; HJELLE, 1997) e mostrou-se associada a fatores de idade e sexo, sendo mais comum nos adultos (PEREIRA et al., 2007).

Araújo et al. (2012) relataram outras espécies, além dos roedores, que também estão infectados com *Hantavirus*, na região de Mata Atlântica da cidade Biritiba Mirim - SP, ao detectarem *Hantavirus* em pulmões e rins de três espécies de marsupiais (*Micoureus paraguayanus*, *Monodelphis Ihering* e *Didelphis aurita*), e em duas espécies de morcegos (*Diphylla ecaudata* e *Anoura caudifer*), sugerindo a ocorrência de transmissão interespecie.

Na China, foi detectada a infecção por *Hantavirus* em morcegos da ordem Chiroptera e de acordo com Guo et al. (2013), a infecção poderia ter ocorrido inicialmente em morcegos (Chiroptera) ou mussaranho (Soricomorpha), antes de emergir em roedores. Jameson et al. (2013) relataram uma estirpe de *Seoul virus* (SEOV) em ratos de estimação na Inglaterra e no País de Gales.

Nas Américas, o agente possui como reservatório os roedores silvestres da subfamília *Sigmodontinae*. Várias espécies de *Hantavirus* foram reconhecidas no continente americano. O *Sin Nombre virus* (SNV) é responsável pela maioria dos casos de doença humana na América do Norte, enquanto na América do Sul outros *Hantavirus* estão envolvidos, como o Andes vírus na Argentina e Chile, Laguna Negra no Paraguai, e Rio Mamoré na Bolívia (FERREIRA et al., 2000).

No Brasil, as espécies de *Hantavirus* Araraquara e Juitituba são encontradas em biomas diferentes, de acordo com o *habitat* do seu reservatório. O *Necromys lasiurus*, reservatório do Araraquara, é encontrado nas regiões de Cerrado, e o *Oligoryzomys nigripes*, reservatório do Juitituba, na Mata Atlântica (PEREIRA et al., 2007). No estado do Maranhão foi demonstrada a ocorrência de casos de SCPH, tendo como responsável o Anajatuba vírus, que teve identificado como provável reservatório o *Oligoryzomys fornesi* (ROSA et al., 2010). O Castelo dos Sonhos vírus tem como possível reservatório o rato de arroz (*Oligoryzomys utiaritensis*), no município de Campo Novo do Parecis em Mato Grosso (ROSA et al., 2011).

No estado de Pernambuco, em Recife e Olinda, no período de setembro de 1982 a março de 1983, anticorpos anti-*Hantavirus* foram detectados em roedores *Rattus* spp. (LEDUC et al., 1985). Ainda, durante os anos de 2000, 2004 e 2005, no município de Triunfo - PE, foram capturados e testados para detecção de anticorpos anti-*Hantavirus*, roedores de diferentes espécies, dentre eles o *Necromys lasiurus* e *Oligoryzomys nigripis*, e todos foram negativos (SOBREIRA et al., 2008).

Os casos de hantavirose e o risco de transmissão se concentram em regiões que possuem clima úmido, se estendem desde a região costeira da Mata Atlântica de São Paulo, ao sul do Rio



Grande do Sul e leste do Paraguai e Argentina (DONALISIO; PETERSON, 2011). Para a ocorrência dessa enfermidade é necessário a presença de um dos fatores de risco, como por exemplo, a presença do reservatório do agente na região, observado onde há disponibilidade de alimento, fator este que explica a sobrevivência e circulação dos roedores nas regiões de cerrado em período seco (maio a outubro). Tal fator pode estar relacionado com a colheita de algumas culturas como: milho, soja, arroz, trigo, sorgo, aveia, capim braquiária, capim colômbio, cana-de-açúcar, batata doce, mandioca, plantio do pinheiro e eucalipto. No caso da cana-de-açúcar acontece de maneira diferente, o período seco é o de colheita da cana, quando ocorrem as queimadas e conseqüentemente migração dos roedores para as margens das culturas, bordas de mata e locais ocupados pelo homem (DONALISIO et al., 2008).

No Distrito Federal, foi identificado que as alterações do ecossistema local em virtude do surgimento de bairros adjacentes às matas e áreas com pastagens, além da existência de uma zona rural bastante dinâmica, com propriedades que são destinadas ao cultivo de milho, cana-de-açúcar, soja, capim braquiária e capim colômbio fez surgir condições propícias para o aumento da população de roedores silvestres e sinantrópicos que passaram a frequentar os domicílios e paióis, garagens, silos, pocilgas, galinheiros, entre outros (SANTOS; STEINKE; GARCIA-ZAPATA, 2011).

O ambiente é caracterizado como um intermediário vital em relação à transmissão do patógeno, enquanto a frequência de transmissão não é determinada somente pela abundância de reservatórios ou a presença do agente etiológico, mas por um conjunto de fatores, como o declínio da biodiversidade, elevação de florestas com amplos mastros e folhas, isso atribuindo mudança de *habitat* (REUSKEN; HEYMAN, 2013).

Em humanos, estudos epidemiológicos foram realizados para identificar os fatores de risco associados à infecção por *Hantavirus*. Limongi et al. (2007), identificaram que a faixa etária mais acometida foi a de indivíduos com 20-49 anos (78%), com predominância do sexo masculino (65%). A maioria dos casos ocorreu em moradores da zona rural (56,6%) e o contato com roedores foi relatado em momentos de lazer (35%), no peridomicílio (26%) e em atividades ocupacionais (39%), sendo que, o maior percentual de casos da SCPH (91%), ocorreu nas estações de outono e inverno (entre maio e julho). Campos et al. (2009), em estudo de casos de hantavirose em Ribeirão Preto - SP, relataram uma letalidade de 54,3% com maior predominância em indivíduos do sexo masculino (75,7%), com média de idade de 35,8 anos (68,5%) e maior incidência nos meses de estiagem (abril a setembro).

Rosa et al. (2010) identificaram no Maranhão uma relação de positivos masculino:feminino de 2:1, em áreas urbanas e rurais, além de observarem uma maior exposição

em indivíduos que viviam perto de campos de arroz, que realizavam atividades agrícolas e pesca, tinham roedores silvestres em torno do agregado familiar ou contato com roedores silvestres no local de trabalho, escola ou ambiente doméstico, além do armazenamento de arroz em casa. Raboni et al. (2005) no estado do Paraná, entre o período de setembro de 1998 a janeiro de 2004, identificaram que a idade dos acometidos foi em média de 31,7 anos e 93,8% eram do sexo masculino, além de relatarem também que a maioria dos casos foram associados com atividades rurais (88,7%), 63% dos casos ocorreram em áreas de reflorestamento de pinheiro e que 79,5% dos casos ocorreram entre os meses de julho a dezembro.

### 2.1.3 Patogenia

As hantavíroses, apesar de serem classificadas como síndromes distintas, apresentam uma característica patogênica comum, ou seja, a lesão capilar que pode levar a hemorragia e choque na FHSR ou edema pulmonar e asfixia na SCPH (PLYUSNIN; VAPALATHI; VAHERI, 1996). Há evidências da ocorrência de casos com a manifestação clínica das duas síndromes, como observado na Coreia, um caso de FHSR com coexistência da síndrome pulmonar descrito como hemorragia pulmonar incomum (HONG et al., 2012).

A patogênese da hantavirose não depende apenas do hospedeiro e da intensidade da resposta imunitária, mas também de fatores virais, como os elementos estruturais capazes de desviar-se da resposta imune antiviral, como por exemplo, a proteína  $G_n$  (BORGES; FIGUEIREDO, 2008).

A trombocitopenia e aumento da permeabilidade vascular que ocorrem na SCPH, podem estar relacionadas com a utilização das integrinas ( $\alpha_v \beta_3$ ) como receptores de superfície celular por *Hantavirus* (BORGES et al., 2006). Existem três pressuposições para explicar os mecanismos de aumento da permeabilidade capilar, ou seja, o ataque de células endoteliais infectadas por linfócitos T citotóxicos específicos para vírus (CTLs), o fator de necrose tumoral (TNF) -  $\alpha$  produzido por monócitos ou macrófagos infectados, e o efeito direto da infecção viral na função de células endoteliais (TERAJIMA et al., 2007). A ativação de linfócitos T e a produção de citocinas desempenham papéis importantes na patogênese de SCPH, bem como na disfunção renal (MORI et al., 1999).

A resposta inflamatória induz a ativação do sistema de secreção de citocinas, que interferem na função endotelial e na liberação de proteínas (KRAUTKRAMER; ZEIER; PLYUSNIN, 2012). As lesões ocorrem nas células endoteliais do pulmão resultando em extravasamento capilar e a redistribuição anormal dos fluidos corporais pode ser responsável

pela hipovolemia, hipoproteinemia e hemoconcentração encontrados na SCPH (SESTARO et al., 1999).

Saggiaro et al. (2007) após autópsias e realização de análises de imunohistoquímica e PCR de pacientes com hantavirose que foram a óbito, identificaram que tal agente induz uma miocardite associada a uma disfunção cardíaca, conduzindo a uma depressão e choque em casos de hantavirose.

Em geral, as hantavíroses exibem poucas evidências histopatológicas de dano celular, os órgãos que mais apresentam lesão na FHSR são a glândula pituitária e o átrio direito e na SCPH os pulmões (FERREIRA, 2003).

Histologicamente já foi relatado em pacientes com SCPH, uma moderada pneumonite intersticial com graus variáveis de congestão, edema e infiltração mononuclear celular nos pulmões. No interstício presença de células mononucleares, com a aparência de imunoblastos, células inflamatórias no interior dos alvéolos. Nos vasos pulmonares existiam neutrófilos e linfócitos atípicos contidos com a aparência de imunoblastos (MORI et al., 1999).

#### **2.1.4 Sinais clínicos e sintomas**

O período de incubação da SCPH pode variar de poucos dias a semanas, culminando com as manifestações clínicas iniciais. Podendo ser dividida, clinicamente, em três fases: a primeira, denominada de prodrômica, é descrita com ocorrência de febre não elevada, mialgia intensa, tosse seca, dispneia, vômitos, diarreia e cefaleia. Quando ocorre a evolução, a segunda fase denominada de cardiopulmonar é caracterizada por deterioração hemodinâmica e respiratória, representada por colapso circulatório e insuficiência respiratória aguda, edema pulmonar não cardiogênico e efusão pleural é comum nesta fase. A terceira fase é a de convalescença (MALHEIROS et al., 2004).

Desde que a FHSR foi identificada, apresenta um conjunto de lesões e sintomas, em diversos órgãos, como um aumento da permeabilidade capilar, associada com pequenas rupturas de vasos capilares, produção de petéquias e ainda hemorragias cutâneas extensas, pode afetar os sistemas urinário, gastrointestinal, endócrino, cardiorrespiratório, sistema nervoso central, com a ocorrência de hemorragias petequiais ou extravasamento de sangue em casos mais graves (GAJDUSEK, 1962).

Os principais sinais clínicos e sintomas observados por Limongi et al. (2007) em 23 pacientes com hantavirose foram: febre e dispneia, mialgias, tosse, hipotensão, cefaleia, taquicardia, náuseas/vômitos, dor torácica, dor abdominal, calafrios, sudorese, oligúria, diarreia,

hemorragia. Cinco casos (22%) apresentaram quadro de choque e insuficiência respiratória antes da chegada ao hospital, e evoluíram para óbito.

Campos et al. (2009) relataram após o período de incubação (de dois à 30 dias), febre, tosse, dispneia, cefaleia, náuseas, vômitos, indisposição, mialgia, diarreia, fenômenos hemorrágicos e adinamia, mantidos por três a seis dias. A evolução para insuficiência respiratória, hipotensão arterial e choque, ocorreu 24 a 48 horas após o terceiro ou quarto dia do surgimento dos sintomas.

Ao analisar 98 casos clínicos confirmados de hantavirose no Paraná, no período de 1998 a 2004, Raboni et al. (2005), evidenciaram que os sinais clínicos e sintomas mais comuns foram febre, cefaleia, tosse e mialgia, além de dor torácica, vômito, dispneia e hipotensão.

As manifestações iniciais com sintomas inespecíficos são semelhantes à gripe e, quando ocorrem complicações respiratórias, os principais diagnósticos diferenciais deverão incluir pneumonia bacteriana, influenza, leptospirose, peste pneumônica, febres hemorrágicas virais, e outras causas de síndrome angústia respiratória do adulto (FERREIRA et al., 2000).

### **2.1.5 Diagnóstico**

O diagnóstico da hantavirose deve ser realizado com a avaliação dos aspectos epidemiológicos associados a exames laboratoriais. A técnica preconizada pelo Ministério da Saúde para sorologia é o teste de ELISA, e para detecção do agente etiológico, utilizam-se as técnicas de Transcrição Reversa – Reação em Cadeia da Polimerase (RT-PCR) e imunohistoquímica (BRASIL, 2009). Outros testes podem ser utilizados para sorologia, tais como imunofluorescência ou *Western Blot* (SESTARO et al., 1999).

O ensaio *Western Blot*, utilizando antígenos específicos para diferenciar anticorpos IgM e IgG, obteve resultados semelhantes aos ensaios imunoenzimáticos (FERREIRA, 2003).

O isolamento viral pode ser realizado a partir da inoculação do material biológico do paciente com a SCPH ou do roedor, em culturas de células de rim de macaco verde africano (VERO-E6) (PINCELLI et al., 2003).

Até o sétimo dia, após o início dos sintomas, pode ser utilizado o soro, plasma, sangue, coágulo ou biópsia de pulmão para detecção do agente etiológico, utilizando-se como técnica a Reação em Cadeia da Polimerase (PCR). Para o diagnóstico *post-mortem* as técnicas de PCR e imunohistoquímica (IHQ), com fragmentos de pulmão, rim, baço, fígado, coração, linfonodo, pâncreas, glândulas pituitária e cérebro podem ser utilizadas (BRASIL, 2009).

Para ambas as formas da doença, o teste de ELISA é usado para diagnóstico (FERREIRA, 2003). A proteína N, recombinante expressa do *Hantavirus* utilizada em testes imunológicos, especialmente ELISA, aumenta a sensibilidade, quando comparado aos antígenos heterólogos (Seoul, Hantaan, Puumala, Prospect Hill) produzidos em culturas de células VERO-E6 (FELDMANN et al., 1993).

No Brasil, dois antígenos foram produzidos a partir da proteína N do *Hantavirus* Araucária/Juquitiba e Araraquara, e são utilizados em ensaios imunoenzimáticos (RABONI et al., 2007; FIGUEIREDO et al., 2008; FIGUEIREDO et al., 2009). As amostras testadas com o antígeno Araraquara vírus, pelo teste de ELISA, demonstraram uma sensibilidade de 97,2% e especificidade de 100%, um valor preditivo positivo de 100% e um valor preditivo negativo de 98,1%, utilizando amostras testadas com o antígeno Araraquara vírus, quando comparados às testadas com o Andes vírus (FIGUEIREDO et al., 2009).

#### **2.1.6 Profilaxia**

Medidas profiláticas podem ser adotadas na prevenção da hantavirose, evitando-se o contato com roedores selvagens e suas excreções. Para eliminar a presença de roedores nos domicílios, são necessárias modificações para impedir o acesso desses e evitar acúmulo de alimentos expostos, como depósitos de lixo abertos e vasilhas de alimentação para animais de estimação (FERREIRA et al., 2000).

Raboni et al. (2012) relataram que no estado do Paraná têm sido observadas altas taxas de degradação ambiental e crescimento populacional, considerando, portanto que há a necessidade de monitoramento dos impactos das perdas consequentes da biodiversidade na saúde humana e os fatores complexos envolvidos na dinâmica da hantavirose na natureza, para que assim seja possível o planejamento de ações de profilaxia.

O controle de roedores sinantrópicos tem como base o manejo integrado, envolve o conhecimento de biologia, hábitos comportamentais, habilidades e capacidades físicas do roedor associado ao conhecimento do meio ambiente onde estão instalados. Assim, compreende um conjunto de ações voltadas ao controle da infestação de roedores, como também sobre o meio ambiente que o cerca, praticados de forma simultânea, permitindo o seu controle. Esse manejo pode ser composto por fases, de inspeção, identificação e medidas corretivas e preventivas (BRASIL, 2006).

A vigilância e detecção dos possíveis casos de hantavirose são ferramentas essenciais para o diagnóstico e tratamento da enfermidade, contribuindo para o controle em áreas

endêmicas, além da importância da constante investigação epidemiológica dos casos suspeitos já que existem vários sinais clínicos comuns a outras enfermidades. O Brasil possui o Sistema de Informação de Agravos de Notificação (SINAN) que contribui para o monitoramento da enfermidade pela análise dos dados e investigação desses agravos (BRASIL, 2008).

De acordo com a Portaria nº 104, de 25 de Janeiro de 2011, a hantavirose deve ser notificada pelos profissionais de saúde às Secretarias Municipais e Estaduais de Saúde, em, no máximo, 24 horas a partir da suspeita inicial, e essas, por sua vez, deverão informar imediatamente à Secretaria de Vigilância em Saúde/Ministério da Saúde, tratando-se, portanto, de uma doença de notificação compulsória imediata (BRASIL, 2011), cuja notificação deve ser realizada no SINAN.

## 2.2 Leptospirose

### 2.2.1 Etiologia

Inicialmente, a doença foi descrita no homem por Weil em 1886, em Heidelberg, como uma doença que evolui com icterícia e esplenomegalia. A etiologia foi conhecida com a descrição das leptospiras patogênicas por Inada e Ido (1915) e dois grupos de investigadores alemães. Posteriormente, foram descobertas infecções por leptospiras na maioria dos animais silvestres e de criação zootécnica (HORSCH, 1988).

O agente etiológico da leptospirose é uma bactéria classificada como uma espiroqueta do gênero *Leptospira*. As leptospiras possuem flagelo em suas extremidades, que lhe conferem motilidade (PICARDEAU; BRENOT; GIRONS, 2001). Desde a década de 80 do século XX, já era compreendida a distinção da *Leptospira interrogans*, como patogênica e a *L. biflexa* como espécie saprófita (WAITKINS, 1986).

O Subcomitê de Taxonomia de Leptospiraceae, em reunião realizada em 2007 no Equador, decidiram manter os genomas espécies 1, 3, 4 e 5, compreendendo 13 espécies patogênicas de *Leptospira*: *L. alexanderi*, *L. alstonii*, *L. borgpetersenii*, *L. inadai*, *L. interrogans*, *L. fainei*, *L. kirschneri*, *L. licerasiae*, *L. noguchi*, *L. santarosai*, *L. terpstrae*, *L. weilii*, *L. wolffi*, com mais de 260 sorovares. As espécies saprófitas são: *L. biflexa*, *L. meyeri*, *L. yanagawae*, *L. kmetyi*, *L. vanthielii* e *L. wolbachii*, com mais de 60 sorovares (ADLER; MOCTEZUMA, 2010).

As leptospiras possuem a forma espiralada, delgadas, podendo ser visualizadas em campo escuro, por microscópio de contraste de fase ou microscopia eletrônica. São bactérias Gram-negativas, porém não são vistas em esfregaços fixados e corados na rotina, podem ser demonstradas por anticorpos fluorescentes ou por impregnação pela prata (LEFEBVRE, 2003).

São micro-organismos aeróbios estritos, que crescem melhor a uma temperatura de 29 a 30°C. O meio tradicional para seu crescimento é soro de coelho em soluções que variam de salina normal a misturas de peptonas, vitaminas, eletrólitos e tampões. A maioria dos meios são líquidos ou semissólidos. São oxidase e catalase positiva e muitas tem atividade de lipase. Não resistem ao ressecamento, congelamento, calor (50°C por 10 minutos), sabão, ácidos biliares, detergentes, ambientes acidíferos e putrefação, podem persistir em um ambiente úmido temperado em pH neutro a ligeiramente alcalino (LEFEBVRE, 2003).

### 2.2.2 Epidemiologia

A leptospirose é uma enfermidade de distribuição cosmopolita, sendo sua ocorrência na região do Oceano Índico, de forma endêmica. A incidência média é de nove casos por 100.000 habitantes na Ilha da Reunião e os sorogrupos Icterohaemorrhagiae e Canicola são diagnosticados com maior frequência. Na França continental a incidência de casos de leptospirose é de 0,5 casos por 100.000 habitantes, aproximadamente 300 casos por ano, mas é 10 a 100 vezes maior em territórios franceses ultramarinos (PICARDEAU, 2013).

Em um estudo no nordeste do Irã foi detectado uma frequência de anticorpos anti-*Leptospira* de 15,79% (45/285) para os sorovares Icterohaemorrhagiae, Hardjo, Grippotyphosa, Pomona, Canicola e Ballum (SAKHAE; POUR, 2011). No estado de Veracruz no México, em pacientes suspeitos de dengue, foi observada uma prevalência de anticorpos anti-*Leptospira* de 6,4% (SERGIO et al., 2012). Em funcionários de um zoológico na cidade de Pereira na Colômbia, Romero et al. (2011), observaram uma frequência de 25% (5/20) de anticorpos anti-*Leptospira*, cujos sorovares mais frequentes foram Bataviae, Grippotyphosa, Hurstbridge.

Em 12 pacientes com leptospirose hospitalizados em Taiwan, no período de maio de 1996 a agosto de 1999, o sorovar que apresentou maior prevalência foi o Shermani (9/12), além do Bratislava (1/12), Ballum (1/12) e Copenhageni (1/12) (YANG; WU; PAN, 2001).

Em um hospital das Antilhas Francesas (*Teaching Hospital of Point-à-Pitre in the French West Indies*), em 50% dos casos dos pacientes admitidos entre 1989 e 1993 diagnosticados com leptospirose foram identificados os sorovares Icterohaemorrhagiae, Ballum, Canicola, Australis e Sejroe (DUPONT et al., 1997).

No Brasil, durante o período de 1997 a 2011, ocorreram 52.729 casos confirmados e 5.565 óbitos de leptospirose, evidenciando uma letalidade de 7% para a enfermidade e uma média de 3.849 casos/ano. No Estado de Pernambuco, foram registrados 4.029 casos (7%) com 510 óbitos (9,2%) no mesmo período, enquanto em 2012 foram notificados 1.194 casos

confirmados e 99 óbitos em todo o território, sendo 25 casos (2%) e quatro óbitos (4%) confirmados no Estado de Pernambuco (BRASIL, 2012a; BRASIL, 2012b).

Outros inquéritos sorológicos em humanos foram realizados em algumas regiões do país, utilizando a técnica de microaglutinação (MAT), de acordo com os dados da tabela 2.

Tabela 2 - Inquéritos sorológicos humanos sobre a infecção por *Leptospira* spp., realizados no Brasil.

<b>Autor</b>	<b>Ano</b>	<b>Estado</b>	<b>Prevalência (%)</b>	<b>Sorovar predominante</b>
Pereira; Andrade	1990	RJ	25,5	Icterohaemorrhagiae; Djasiman.
Tavares-Neto et al.	1996	MG	46,7/19,3	Patoc; Panama; Australis; Icterohaemorrhagiae.
Almeida et al.	1994	RS	10,4	Castellonis; Australis.
Gonçalves et al.	2006	PR	4,0	Hardjo; Wolffi; Castellonis.
Aguiar et al.	2007	RO	10,2	Patoc.
Langoni et al.	2008	SP	23,53	Bratislava; Cynopteri.
Langoni et al.	2010	SP	1,33	Icterohaemorrhagiae; Panama.
Gonçalves et al.	2013	PR	12,1	Hardjo; Castellonis.

Em relação aos sorovares, em pesquisa realizada com casos de São Paulo, no período de 1986 a 1989, foi relatado os sorovares Copenhageni, Canicola, Castellonis e sorogrupo Pomona com sorovar não identificado (SAKATA et al., 1992). No estado de Pernambuco foi relatado Copenhageni, Icterohaemorrhagiae e Tarassovi (ALBUQUERQUE FILHO et al., 2011). Em Uberlândia/MG, foram identificados os sorovares Canicola, Hardjo, Tarassovi, Wolffi e Grippytyphosa (CASTRO et al., 2011).

A infecção ocorre em animais e homens, tratando-se, portanto de uma zoonose (HORSCH, 1988). Os homens são hospedeiros acidentais, e tanto o homem, quanto os animais infectam-se de maneira direta quando entram em contato com urina do reservatório, ou, indiretamente, por meio do contato com água, solo lamacento ou alimentos contaminados (WAITKINS, 1986). Frequentemente, a porta de entrada é por abrasões ou cortes na pele ou através da conjuntiva, sendo que a infecção pode ocorrer também através da pele intacta após imersão prolongada em água (LEVETT, 2001). As leptospiras ficam abrigadas nos rins dos reservatórios e dos hospedeiros de manutenção, sendo eliminada para o ambiente pela urina (ADLER; MOCTEZUMA, 2010).



Há diferentes espécies de roedores que podem ser reservatórios de sorovares distintos, sendo os ratos do genero *Rattus* considerados reservatórios para os sorovares dos sorogrupos Icterohaemorrhagiae e já os *Ballum* e os camundongos para o sorogrupo *Ballum* (LEVETT, 2001). Animais domésticos podem servir como hospedeiros de manutenção da *Leptospira* spp. adaptadas a suas espécies, como por exemplo, o cão infectado com o sorovar Canicola (WAITKINS, 1986). Existem adaptações de sorovares particulares com certas espécies de animais, que se comportam como portadores adaptados que mantem a bactéria, e contribuem para a manutenção do agente em um determinado local, mas a associação não é absoluta e a especificidade dessa manutenção não é conhecida (ADLER; MOCTEZUMA, 2010).

A *L. interrogans* já foi isolada de pássaros, répteis, anfíbios e invertebrados, porém, o significado epidemiológico de tais associações não foi estabelecido (LEFEBVRE, 2003). No estado do Rio Grande do Sul, foi identificado o gambá da orelha branca, o *Didelphis albiventris*, como um reservatório de *Leptospira borgpetersenii* sorovar Castellonis (JORGE et al., 2012).

A associação com o risco ocupacional é relatada, principalmente, nos países com atividades de agricultura e pecuária, e o risco de infecção mediada por roedores infectados nos países tropicais, onde muitos sorovares podem estar presentes (ADLER; MOCTEZUMA, 2010). A ocorrência maior em países tropicais pode ser explicada devido, sobretudo, ao maior tempo de sobrevivência de *Leptospira* spp. no ambiente em condições quentes e úmidas (LEVETT, 2001).

Nas áreas urbanas, os profissionais mais expostos ao risco de infecção, são os limpadores de caixas de água, fossas e valas (ÁVILA-PIRES, 2006), enquanto na área rural os que lidam com o gado, como por exemplo, os vaqueiros, veterinários e trabalhadores de matadouro, estão mais expostos ao risco de infecção (WAITKINS, 1986).

Nos países em desenvolvimento, onde a leptospirose ocorre de maneira endêmica e epidêmica, os fatores de risco não estão relacionados apenas ao risco ocupacional ou lazer, mas, para a população como um todo. E nos países em que ocorre aumento da população desordenada com crescente demografia, o homem é responsável por modificar a área urbana e favorecer a ocorrência das formas endêmicas e epidêmicas da leptospirose (PLANK; DEAN, 2000).

Alguns fatores como mudanças climáticas, resultantes da atividade humana e práticas de construção (como pavimentação, por exemplo), podem favorecer a ocorrência de inundações, o que facilita a dispersão de micro-organismos infecciosos a partir do solo ou de esgotos para as águas superficiais (PLANK; DEAN, 2000). As condições ambientais favorecem a transmissão do agente, possibilitando modificações da biologia da população, comportamento ou ecologia de espiroquetas e seus hospedeiros no local (BHARTI et al., 2003).

No Brasil, alguns fatores como êxodo rural e a ocupação desordenada das cidades principalmente em locais próximos a córregos e riachos, além da organização das redes de saneamento básico, aliados a grande aglomeração populacional de baixa renda e infestações de roedores, favoreceram o aumento na incidência de casos no meio urbano e periurbano (VASCONCELOS et al., 2012).

Em um estudo da distribuição geográfica dos casos de leptospirose no Estado de Pernambuco no período de 2001 a 2009, Vasconcelos et al. (2012) relataram que houve um total de 2.333 casos confirmados, 303 óbitos e uma letalidade de 13%, sendo a maioria dos casos oriundos da região metropolitana do Recife (73,1%). Os autores ainda identificaram que quanto maior é a densidade demográfica e quantidade de pessoas com nenhuma escolaridade, maior é o risco de ocorrer leptospirose (VASCONCELOS et al., 2012).

Os indivíduos do sexo masculino são os mais acometidos pela leptospirose, fato este, observado em diferentes estados do Brasil: Rio de Janeiro (ANDRADE; BRANDÃO, 1987), Bahia (COSTA et al., 2001), Minas Gerais (FIGUEIREDO et al., 2001), São Paulo (SOARES et al., 2010), Amazonas (JESUS et al., 2012) e Pernambuco (VASCONCELOS et al., 2012).

Em São Paulo, no período de 1998 a 2006, a maioria dos casos de leptospirose foi do sexo masculino (80,4%) e 45,4% eram da faixa etária entre 20 a 39 anos e estes ocorreram mesmo fora do período de enchentes, em locais com condições de moradia deficientes (SOARES et al., 2010). No período de 1996 a 2009, no município do Rio de Janeiro, Oliveira et al. (2012), relataram que foram confirmados 2.756 casos de leptospirose e 249 óbitos, além de observarem também que a maior incidência de leptospirose nesse período ocorreu em áreas mais sujeitas a inundações, que possuíam maior parte da população de baixa renda.

### **2.2.3 Patogenia**

A infecção ocorre quando as bactérias do gênero *Leptospira* penetram no organismo através de cortes ou abrasões, pode também ocorrer através das membranas mucosas ou pele úmida (ADLER; MOCTEZUMA, 2010). A infecção em humanos pode ocasionar desde uma infecção subclínica a uma síndrome grave, afetando vários órgãos e com alta mortalidade (LEVETT, 2001). Cerca de 90% dos casos são leves e autolimitados, sem necessidade de tratamento e resolvem-se somente com a atuação do sistema imunológico (PLANK; DEAN, 2000).

Após a penetração das bactérias no organismo, atingem a corrente sanguínea, migram para outros órgãos, ao chegarem ao fígado se multiplicam e alteram a função hepática. São encontradas no sangue e órgãos, aos oito dias após infecção, período este denominado de

bacteremia (HORSCH, 1988). Ocorrendo assim, dano ao endotélio de pequenos vasos sanguíneos que conduzem a isquemia localizada nos órgãos, o que resulta na insuficiência renal tubular, necrose hepatocelular e dano pulmonar, meningite miosite e placentite. Hemorragias e uma deficiência de plaquetas podem ocorrer em casos graves (ADLER; MOCTEZUMA, 2010).

As bactérias que possuem uma ação hematotóxica, dependendo do grau de hemólise instaurado podem induzir um quadro patológico grave, com hemoglobinemia, hemoglobinúria, anemia e icterícia. Quando se inicia a produção de anticorpos, após a fase septicêmica, as leptospiras são destruídas na corrente sanguínea, caracterizada como fase tóxica e, depois disso, alojam-se nos túbulos renais (HORSCH, 1988).

Histologicamente, os rins de indivíduos infectados podem apresentar uma nefrite intersticial, que pode ser resultado da presença do micro-organismo no tecido (BHARTI et al., 2003).

#### **2.2.4 Sinais clínicos e sintomas**

Os sinais clínicos e sintomas iniciais são dor de cabeça, febre, mal-estar, mialgia, sufusão conjuntival e, às vezes, uma erupção transitória. Uma das formas de leptospirose apresenta a manifestação respiratória, que envolve grave edema pulmonar e hemorragias, que tem sido a causa de morte em algumas epidemias. Em gestantes, a leptospirose em qualquer forma de apresentação, pode levar a infecção uterina e morte fetal (ADLER; MOCTEZUMA, 2010).

Na fase inicial da manifestação clínica, diarreia, artralgia, hiperemia, tosse seca, fotofobia, dor ocular e hemorragia conjuntival, exantema (10-20% dos pacientes), hepatomegalia, esplenomegalia e linfadenopatia podem estar presentes. Alguns sinais clínicos podem ajudar a diferenciar a fase precoce da leptospirose de outras doenças febris agudas, como a sufusão conjuntival, que é um achado característico da leptospirose observado em cerca de 30% dos pacientes assim como a intensa mialgia, principalmente na região lombar e nas panturrilhas. Porém, eles não são suficientes para diferenciar de outras doenças com sintomas semelhantes. Na fase tardia grave, a clássica síndrome de Weil é caracterizada pela tríade de icterícia rubínica (tonalidade alaranjada muito intensa), insuficiência renal aguda e hemorragias mais comumente pulmonares. Quando há comprometimento pulmonar, esse se expressa com tosse seca, dispneia, expectoração hemoptoica e, ocasionalmente, dor torácica e cianose (BRASIL, 2009).

Como diagnóstico diferencial, as seguintes enfermidades devem ser consideradas: dengue, dengue hemorrágica, hantavirose, riquetsioses (PLANK; DEAN, 2000), influenza (síndrome gripal), doença de Chagas aguda, toxoplasmose, febre tifoide, hepatites virais agudas,

febre amarela, malária, endocardite, pneumonias, pielonefrite aguda, apendicite aguda, sepse, meningites, colangite, colecistite aguda, síndrome hepatorenal e síndrome hemoliticoureêmica (BRASIL, 2009).

### 2.2.5 Diagnóstico

O método laboratorial de escolha para o diagnóstico depende da fase evolutiva em que se encontra o paciente. Na fase inicial, as leptospiros podem ser identificadas no sangue por meio de exame direto, de cultura em meios apropriados, inoculação em animais de laboratório ou PCR, porém o resultado da cultura somente se finaliza após algumas semanas, o que garante apenas um diagnóstico retrospectivo. Já na fase tardia, as leptospiros podem ser encontradas na urina, cultivadas ou inoculadas. Pelas dificuldades inerentes à realização dos exames anteriormente citados, os métodos sorológicos são eleitos para o diagnóstico da leptospirose e os mais utilizados são o teste ELISA-IgM e a microaglutinação (MAT) (BRASIL, 2009).

Ainda como método diagnóstico, gotas de sangue podem ser inoculadas em meios apropriados, semissólido ou líquido, o EMJH (*Ellinghausen-McCullough-Johnson-Harris*) ou Fletcher, durante os sete primeiros dias dos sintomas e como diagnóstico *post-mortem* a histopatologia e a imunohistoquímica, podem ser realizadas com fragmentos de tecidos como, cérebro, pulmão, rim, fígado, pâncreas, coração e músculo esquelético (panturrilha), (BRASIL, 2009). Na histopatologia e imunohistoquímica é possível a visualização de leptospiros ou seus antígenos em microscópios de campo escuro ou contraste de fase, por meio de colorações como Giemsa, Vermelho Congo e impregnações a base de prata, como Levaditi e Warthin-Starry (GOMES, 2013).

O teste sorológico padrão ouro é o teste de aglutinação microscópica (MAT). Este método, no entanto, depende da manutenção de culturas de sorovares de *Leptospira*, o que torna a técnica trabalhosa e onerosa, portanto, limitada a laboratórios de referência no diagnóstico. A interpretação do resultado da titulação deve ser criteriosa, pois um título elevado é indicativo de uma infecção atual ou recente, mas um baixo título numa única amostra é inconclusivo, visto que os anticorpos podem persistir por anos (GUERRA, 2013). Entretanto, apesar das limitações a sensibilidade e especificidade da MAT são altas (ADLER; MOCTEZUMA, 2010).

Os testes de ELISA (ensaio imunoenzimático) foram desenvolvidos utilizando uma grande variedade de preparações de antígeno. No entanto, a sensibilidade e especificidade não coincidem com as da MAT. Outros métodos de detecção de anticorpos incluem macroaglutinação, aglutinação em látex, ensaios de fluxo com pesquisa de IgM (ADLER; MOCTEZUMA, 2010).

O desenvolvimento e validação de testes para o diagnóstico precoce, como a PCR pode contribuir para melhorar a capacidade de detecção precoce e início do tratamento em doentes (GUERRA, 2013). A PCR é um método de rápida detecção do material genético da bactéria, quando comparado à cultura microbiológica que necessita de semanas para obtenção do resultado (MÉRIEN, et al. 1992). Para PCR o material de escolha é soro ou plasma, na fase aguda (BRASIL, 2009).

### **2.2.6 Profilaxia**

Como não é possível a eliminação do reservatório da leptospirose no ambiente, nem evitar os elevados índices de pluviosidade nas regiões de clima tropical, é fundamental a adoção de medidas higiênico-sanitárias, além da realização do tratamento precoce dos casos detectados. O saneamento ambiental e a educação em saúde são fundamentais para diminuir os danos causados pela leptospirose (OLIVEIRA et al., 2009).

Pereira et al. (2007) citam a necessidade de uma política sanitária que atue no sentido de estabelecer um sistema responsável por recolhimento e tratamento de detritos que permanecem a beira de rios e lagoas atraindo roedores, drenagem dos leitos fluviais e rede de esgoto.

A realização do manejo integrado para controle dos roedores, baseados na inspeção, identificação e implementação das medidas corretivas e preventivas também é importante para o controle da doença, associando-se o manejo do ambiente a ações sobre a população de roedores (BRASIL, 2006).

A viabilidade do desenvolvimento de vacinas para seres humanos, principalmente para populações de lugares endêmicos e carentes, ainda precisa ser estabelecida. Existem alguns entraves ao desenvolvimento de uma vacina, como a falta de conhecimento dos sorovares que circulam no local, avaliação da segurança e eficácia da vacina, e seu custo (GUERRA, 2013).

O Ministério da Saúde atua na vigilância dos agravos importantes para saúde pública e a detecção de casos é uma das ferramentas importantes para a profilaxia das enfermidades. Através da Portaria nº 104, de 25 de Janeiro de 2011, a leptospirose é de notificação compulsória às Secretarias Municipais e Estaduais de Saúde, a partir da suspeita inicial, e estas por sua vez deverão informar à Secretaria de Vigilância em Saúde/Ministério da Saúde (BRASIL, 2011).

## **OBJETIVOS**

### **2.3 Geral**

- Realizar uma análise epidemiológica da infecção por *Hantavirus* e *Leptospira* spp. em grupos ocupacionais do município de Garanhuns, no Estado de Pernambuco.

### **2.4 Específicos**

- Determinar a prevalência de anticorpos anti-*Hantavirus* e por anti-*Leptospira* na população de garis (coleta de lixo, coleta seletiva, capina e varrição) e trabalhadores rurais do município de Garanhuns no Estado de Pernambuco;
- Identificar os fatores de risco associados à presença de anticorpos anti-*Hantavirus* e anti-*Leptospira* spp.;
- Determinar a frequência dos diferentes sorogrupos de *Leptospira* spp. nos grupos ocupacionais do município de Garanhuns no Estado de Pernambuco.

## REFERÊNCIAS

- ADLER, B.; MOCTEZUMA, A. L. P. *Leptospira* and leptospirosis. **Veterinary Microbiology**. v.140. p. 287-296, 2010.
- AGUIAR, D. M. et al. Anti-*Leptospira* spp. and anti-*Brucella* spp. Antibodies in humans from rural area of Monte Negro municipality, state of Rondônia, Brazilian western Amazon. **Brazilian Journal of Microbiology**. v. 38. p. 93-96, 2007.
- ALBUQUERQUE FILHO, A. P. L. et al. Validation of a case definition for leptospirosis diagnosis in patients with acute severe febrile disease admitted in reference hospitals at the State of Pernambuco, Brazil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**. v. 44. n. 6. p. 735-739, 2011.
- ALMEIDA, L. P. et al. Levantamento soropidemiológico de leptospirose em trabalhadores do serviço de saneamento ambiental em localidade urbana na região Sul do Brasil. **Revista de Saúde Pública**. v. 1. n.28. p. 76-81, 1994.
- ANDRADE, J.; BRANDÃO, A. P. Contribuição ao conhecimento da epidemiologia da Leptospirose humana, com especial referência ao Grande Rio, Brasil, no período de 1970 a 1982. **Memorial do Instituto Oswaldo Cruz**. v. 82. n. 1. p. 91-100, 1987.
- ANTIC, D. et al. Comparison of the deduced gene products of the L, M and S genome segments of hantaviruses. **Virus Research**. v. 24. p. 35-46, 1992.
- ARAÚJO, J. et al. Detection of hantavírus in bats from remaining rain forest in Sao Paulo, Brazil. Biomed Central. 2012
- ÁVILA-PIRES, F. D. Leptospirose e enchentes: uma falsa correlação? **Revista de Patologia Tropical**. v.35. n. 3. p. 199-204, 2006.
- BADRA S. J. et al. A retrospective serologic survey of hantavirus in the county of Cássia dos Coqueiros, State of São Paulo, Brazil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**. v. 45. n.4. p. 468-470, 2012.
- BHARTI, A. R. Leptospirosis: a zoonotic disease of global importance. **The Lancet**. V.3.p. 757-771, 2003.
- BORGES, A. A.; FIGUEIREDO, L. T. M. Mechanisms of shock in hantavírus syndrome. **Current Opinion in Infectious Diseases**. v. 21. p. 293-297, 2008.
- BORGES, A. A. et al. Hantavirus cardiopulmonary syndrome: immune response and pathogenesis. **Microbes and Infection**. V. 8. P. 2324-2330, 2006.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de vigilância em Saúde - **Boletim Eletrônico Epidemiológico: Aspectos Epidemiológicos da Infecção e da Patogenicidade por Hantavírus (2004)**. Disponível em:<[www.saude.gov.br/svs](http://www.saude.gov.br/svs)> Acesso em: 20 de out. 2011.

\_\_\_\_\_. Fundação Nacional de Saúde. Manual de Saneamento. 3. ed. Brasília: 2006.

\_\_\_\_\_. Ministério da Saúde. Rede Interagencial de Informação para a Saúde – RIPSAs.

**Indicadores básicos para a saúde no Brasil: Conceitos e aplicações.** 2. ed. Brasília: Organização Pan-Americana da Saúde, 2008.

\_\_\_\_\_. Ministério da Saúde. **Guia de Vigilância Epidemiológica.** 7. ed. Brasília: Ministério da saúde, 2009.

\_\_\_\_\_. Ministério da Saúde. **Doenças infecciosas e parasitárias - Guia de Bolso.** 8. ed. Brasília: Ministério da saúde, 2010.

\_\_\_\_\_. Ministério da Saúde. **Portaria nº 104, de 25 de Janeiro de 2011.** Define as terminologias adotadas em legislação nacional, conforme o disposto no Regulamento Sanitário Internacional 2005 (RSI 2005), a relação de doenças, agravos e eventos em saúde pública de notificação compulsória em todo o território nacional e estabelece fluxo, critérios, responsabilidades e atribuições aos profissionais e serviços de Saúde. Disponível em: <  
<http://www.in.gov.br/imprensa/visualiza/index.jsp?jornal=1&pagina=37&data=26/01/2011> >. Acesso em: 20 Out. 2011.

\_\_\_\_\_. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde – Situação epidemiológica: **Casos confirmados de Hantavirose. Brasil, Grandes Regiões e Unidades Federadas. 1993-2013\*. 2013a.** Disponível em:<  
[http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/casos\\_confirmados\\_hantavirose.pdf](http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/casos_confirmados_hantavirose.pdf)> Acesso em: 24 Jun. 2013.

\_\_\_\_\_. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde – Situação epidemiológica: **Óbitos de Hantavirose. Brasil, Grandes Regiões e Unidades Federadas. 1993-2013\*. 2013b.** Disponível em:<  
[http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/obitos\\_confirmados\\_hantavirose.pdf](http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/obitos_confirmados_hantavirose.pdf)> Acesso em: 24 Jun. 2013.

\_\_\_\_\_. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde – Situação epidemiológica: **Casos confirmados de Leptospirose. Brasil, Grandes Regiões e Unidades Federadas. 1997-2012\*. 2012a.** Disponível em:<  
[http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/tab\\_casos\\_conf\\_ser\\_hist\\_1997\\_2012.pdf](http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/tab_casos_conf_ser_hist_1997_2012.pdf)> Acesso em: 31 Ago. 2012.

\_\_\_\_\_. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde – Situação epidemiológica: **Óbitos por Leptospirose. Brasil, Grandes Regiões e Unidades Federadas. 1997-2012\*. 2012b.** Disponível em:<



[http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/tab\\_obitos\\_leptospirose\\_2012.pdf](http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/tab_obitos_leptospirose_2012.pdf)> Acesso em: 31 Ago. 2012.

CAMPOS, G. et al. Síndrome pulmonar e cardiovascular por hantavirus: aspectos clínicos de uma doença emergente no sudeste brasileiro. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**. v. 42. n. 3. p. 282-289, 2009.

CASTRO, J. R. et al. Sorovares de *Leptospira* spp. Predominantes em exames sorológicos de caninos e humanos no município de Uberlândia, Estado de Minas Gerais. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**. v. 44. n. 2. p. 217-222, 2011.

CDC. Center for Disease Control e Prevention. Hantavirus. Disponível em:< <http://www.cdc.gov>> Acesso em: 05 Jul. 2013.

CLEMENT J. et al. A unifying hypothesis and a single name for a complex globally emerging infection: hantavirus disease. **European Journal of Clinical Microbiology e Infectious Diseases**. v. 31. p. 1-5, 2012.

COSTA, E. et al. Formas graves de leptospirose: aspectos clínicos, demográficos e ambientais. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**. v.34.n.3.p.261-267, 2001.

DONALISIO, M. R. et al. Aspectos climáticos em áreas de transmissão de hantavirose no Estado de São Paulo. **Caderno de Saúde Pública**. v. 24. n. 5. p. 1141-1150, 2008.

DONALISIO, M. R.; PETERSON, A. T. Environmental factors affecting transmission risk for hantaviruses in forested portions of southern Brazil. **Acta Tropica**. v. 119. p. 125-130, 2011.

DUPONT, H. et al. Leptospirosis: Prognostic factors associated with mortality. **Clinical Infectious Diseases**. v. 25. p. 720-724, 1997.

FELDMANN, H. et al. Utilization of autopsy RNA for the synthesis of the nucleocapsid antigen of a newly recognized virus associated with hantavirus pulmonary syndrome. **Virus Research**. v. 30. p. 351-367, 1993.

FIGUEIREDO, C. M. et al. Leptospirose humana no município de Belo Horizonte, Minas Gerais, Brasil: uma abordagem geográfica. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**. v.34.n.4.p.331-338, 2001.

FIGUEIREDO, L. T. M. et al. Expression of a hantavirus N protein and its efficacy as antigen in immune assays. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 41, p. 596-599, 2008.

FIGUEIREDO, L. T. M. et al. Evaluation of an enzyme-linked immunosorbent assay based on Araraquara virus recombinant nucleocapsid protein. **American Journal of Tropical Medicine Hygiene**. v.81, n.2, 273-276, 2009.

- FERREIRA, M. S. et al. Hantavirus pulmonary syndrome in Brazil: clinical aspects of three new cases. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**. v. 42. n. 1. p. 41-46, 2000.
- FERREIRA, M. S. Hantavíruses. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**. v. 36. n.1. p. 81-96, 2003.
- GAJDUSEK, D. C. Virus hemorrhagic fevers. **The Journal of Pediatrics**. v.60.n.6.p.841-857, 1962.
- GIMAQUE, J. B. L., et al. Serological evidence of hantavirus infection in rural and urban regions in the state of Amazonas, Brazil. **Memorial Instituto Oswaldo cruz**. v. 107.n.1. p. 135-137, 2012.
- GOMES, M. J. P. Gênero *Leptospira* spp. Faculdade de Veterinária, Universidade Federal de Rio grande do Sul, 2013. Disponível em:<  
<http://www.ufrgs.br/labacvet/files/G%C3%AAnero%20Leptospira%204-2013-2.pdf>> Acesso em: 18 Dez 2013.
- GONÇALVES, D. D. et al. Seroepidemiology and occupational and environmental variables for leptospirosis, brucellosis and toxoplasmosis in slaughterhouse workers in the Paraná state, Brazil. **Revista do Instituto de Medicina Tropical**, São Paulo, v. 48, n.2, p.135-140, 2006.
- GONÇALVES, D. D. et al. Zoonoses in humans from small rural properties in Jataizinho, Parana, Brazil. **Brazilian Journal of Microbiology**. v. 44. n. 1.p. 125-131, 2013.
- GUERRA, M. A. Leptospirosis: Public health perspectives. **Biologicals**. v. 41. p. 295-297, 2013.
- GUO, W. et al. Phylogeny and origins of hantaviruses harbored by bats, insectivores, and rodents. **PLOS Pathogens**. v. 9. n. 2. p. 1-13, 2013.
- HINDRICHSEN, S. et al. Hantavirus infection in brazilian patients from Recife with suspected leptospirosis. **The Lancet**. v. 341. p. 50, 1993.
- HOLMES, R. et al. Seroprevalence of human Hantavirus infection in the Ribeirão Preto Region of São Paulo, Brazil. **Emerging Infectious Diseases**. v. 6. n. 5. p. 560-561, 2000.
- HONG, Y. M. et al. Hemorrhagic fever with renal syndrome and coexisting hantavirus pulmonary syndrome. **Kidney Research and Clinical Practice**. v.31. p. 118-120, 2012.
- HORSCH, F. Leptospirose. In: Doenças infecciosas em animais domésticos. BEER, J. p. 305-324. São Paulo: Roca, 1988.
- ICT. International Committee on Taxonomy of viruses. **Hantavirus**. Disponível em:<  
<http://ictvonline.org/virusTaxonomy.asp>> Acesso em: 05 Jul. 2013.
- IVERSSON, L. B. et al. Infecção humana por Hantavirus no Sul e Sudeste do Brasil. **Revista da Associação Médica Brasileira**. v. 40. n. 2. p. 85-92, 1994.

- JAMESON, L. J. et al. Pet rats as a source of hantavirus in England and Wales. **Euro Surveillance**. v. 18. n. 9. p. 1-3, 2013.
- JESUS, M. S. et al. Cases distribution of leptospirosis in city of Manaus, state of Amazonas, Brazil, 2000-2010. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**. v. 45.n. 6. p.713-716, 2012.
- JORGE, S. et al. *Leptospira borgpetersenii* from free-living white-eared opossum (*Didelphis albiventris*): First isolation in Brazil. **Acta Tropica**. v.12. p. 147-151, 2012.
- KLEMPA, B. et al. Hemorrhagic fever with Renal Syndrome caused by 2 lineages of Dobrava hantavirus, Russia. **Emerging Infectious Diseases**. v. 14. n. 4, 2008.
- KRAUTKRAMER, E.; ZEIR, M.; PLYUSNIN, A. Hantavirus infection: an emerging infectious disease causing acute renal failure. **Kidney International**. v. 83. p. 23-27, 2012.
- LANGONI, H. et al. Epidemiological aspects in leptospirosis. Research of anti-*Leptospira* spp. antibodies, isolation and biomolecular research in bovines, rodents and workers in rural properties from Botucatu, SP, Brazil. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**. v. 45. n. 3. p. 190-199, 2008.
- LANGONI, H. et al. Aglutininas anti-Leptospiras em doadores de sangue. **Veterinária e Zootecnia**. v.17. n. 1. p. 79-84, 2010.
- LAMAS, C. C. et al. Hantavirus infection in HIV positive individuals in Rio de Janeiro, Brazil: a seroprevalence study. **The Brazilian Journal of Infectious Diseases**. v. 17. n. 1. p. 120-121, 2013.
- LEDUC, J. W. et al. Isolation of a hantaan-related virus from Brazilian rats and serologic evidence of its widespread distribution in South America. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**. v.34 n. 4. p. 810-815, 1985.
- LEE, H. W.; LEE, P. W.; JOHNSON, M. Isolation of the etiologic agent of Korean Hemorrhagic Fever. **The Journal of Infectious Diseases**. v. 137. n. 3. p. 298-308, 1978.
- LEE, H. W.; DALRYMPLE, J. M. Manual of Hemorrhagic Fever with Renal Syndrome. WHO Collaborating Center for Virus Reference and Research [Hemorrhagic Fever with Renal Syndrome] Institute for Viral Diseases, Korea University, 2003.
- LEFEBVRE, R. B. Leptospiras. In: HIRSH, D. C.; ZEE, Y. C. Microbiologia veterinária. p. 174-178. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2003.
- LEVETT, P. N. Leptospirosis. **Clinical Microbiology Reviews**. V.14. n. 2. p. 296-326, 2001.
- LIMA, D. M. et al. Hantavirus infection in suspected dengue cases from State of Ceará, Brazil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**. v. 44. n. 6. p. 795-796, 2011.

- LIMONGI, J. E. et al. Síndrome cardiopulmonary por hantavirus no Triângulo Mineiro e Alto do Paraíba, Minas Gerais, 1998-2005: aspectos clínico-epidemiológicos de 23 casos. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**. v. 40. n. 3. p. 295-299, 2007.
- LIMONGI, J. E. et al. Cross-sectional survey of hantavirus infection, Brazil. **Emerging Infectious Diseases**. v. 15, n. 12, p. 1981-1983, 2009.
- MALHEIROS, W. M. P. et al. Síndrome cardiopulmonar por Hantavírus. Relato de sete casos no Centro-oeste do Brasil. **Revista Brasileira Terapia Intensiva**. v. 16. n. 3, 2004.
- MÁTTAR, S.; PARRA, M. Serologic Evidence of Hantavirus Infection in Humans, Colombia. **Emerging Infectious Diseases**. v. 10. n. 12. p. 2263-2264, 2004.
- MEDEIROS, D. B. A. et al. Circulation of hantaviruses in the influence area of the Cuiabá-Santarém Highway. **Memorial Instituto Oswaldo cruz**. v. 105.n.5. p. 665-671, 2010.
- MENDES, W. S. et al. Hantavirus infection in Anajatuba, Maranhão, Brazil. **Emerging Infectious Diseases**. v. 10. n. 8. p. 1496-1498, 2004.
- MÉRIEN, F. et al. Polymerase chain reaction for detection of *Leptospira* spp. in clinical samples. **Journal Clinical Microbiology**. v. 30. n. 9. p. 2219-2224, 1992.
- MORALES, A. E. T. **Soro-epidemiologia da hantavirose em homens de Salvador – Bahia, Brasil**. 1999. 163 f. Tese (doutorado em Clínica Médica). Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas. Campinas-SP, 1999. Disponível em: <<http://cutter.unicamp.br/document/?code=vtls000203845>> Acesso em: 20 de out. 2011.
- MORELI, M. L.; COSTA, V. G.; PARIZ, F. R. A seroepidemiological survey of hantavirus in Ilheus county. **American Journal of Virology**. v. 1. n. 1. p. 18-23, 2012.
- MORI, M. et al. High levels of cytokine-producing cells in the lung tissues of patients with fatal hantavirus pulmonary syndrome. **The Journal of Infectious Diseases Society of America**. v. 179. p. 295-302, 1999.
- NICHOL, S. T. et al. Genetic identification of a hantavirus associated with an outbreak of acute respiratory illness. **Science**. v. 262. p. 914-917, 1993.
- OLIVEIRA, D. S. C.; GUIMARÃES, M. J. B.; MEDEIROS, Z. Modelo produtivo para leptospirose. **Revista de Patologia Tropical**. v. 38. n. 1. p. 17-26, 2009.
- OLIVEIRA, R. C. et al. Detection of the first incidence of *Akodon paranaensis* naturally infected with the Jabora vírus strain (Hantavirus) in Brazil. **Memorial Instituto Oswaldo Cruz**. v. 107. n.3. p. 424-428, 2012.
- OLIVEIRA, T. V. S. et al. Variáveis climáticas, condições de vida e saúde da população: a leptospirose no município do Rio de Janeiro de 1996 a 2009. **Ciência & Saúde Coletiva**. v.17.n. 6. p. 1569-1576, 2012.

- PADULA, P. J. et al. Hantavirus Pulmonary Syndrome outbreak in Argentina: Molecular evidence for person-to-person transmission of Andes virus. **Virology**. v. 241. p. 323-330, 1998.
- PEREIRA, M. M.; ANDRADE, J. Human leptospirosis in a slum área in the city of Rio de Janeiro, Brazil- A serological and epidemiological study. Memorial Instituto Oswaldo Cruz. v. 85. n. 1. p. 47-52, 1990.
- PEREIRA, L. E. et al. Estudo longitudinal da prevalência dos vírus *Juquitiba* e *Araraquara* em roedores das regiões da Mata Atlântica e do Cerrado do Brasil. v.4. n. 42, 2007.
- PEREIRA, J. C. B. et al. Leptospirose pulmonar. **Revista Portuguesa de Pneumologia**. v. 13. n. 6. 827-839, 2007.
- PEREIRA, G. W. et al. Prevalence of serum antibodies to hantavirus in a rural population from the Southern State of Santa Catarina, Brazil. **Revista da Sociedade de Medicina Tropical**. v. 45. n. 1. p. 117-119, 2012.
- PICARDEAU, M.; BRENOT, A.; GIRONS, I. S. First evidence for gene replacement in *Leptospira* spp. Inactivation of *L. biflexa* flaB results in no-motile mutants deficient in endoflagella. **Molecular Microbiology**. v. 40. n. 1. p. 189-199, 2001.
- PICARDEAU, M. Diagnosis and epidemiology of leptospirosis. **Médecine et maladies infectieuses**. v.43. p. 1-9, 2013.
- PINCELLI, M. P. et al. Síndrome pulmonar e cardiovascular por hantavirus. **Jornal Brasileiro de Pneumologia**. v. 29. n. 5. p. 309-324, 2003.
- PLANK, R.; DEAN, D. Overview of the epidemiology, microbiology, and pathogenesis of *Leptospira* spp. in humans. **Microbes and Infection**. v. 2. p. 1265-1276, 2000.
- PLYUSNIN, A.; VAPALAHTI, O.; VAHERI, A. Hantaviruses: genome structure, expression and evolution. **Journal of General Virology**. v. 77. p. 2677-2687, 1996.
- RABONI, S. M. et al. Clinical survey of Hantavirus in Southern Brazil and the development of specific molecular diagnosis tools. **The American Society of Tropical Medicine and Hygiene**. v. 72. n. 6. p. 800-804, 2005.
- RABONI, M. S. et al. Hantavirus infection in Brazil: development and evolution of an enzyme immunoassay and immunoblotting based on N recombinant protein. **Diagnostic Microbiology and Infectious Disease**. v. 58. p. 89-97, 2007.
- RABONI, M. S. et al. Evidence of circulation of Laguna Negra-like hantavirus in the Central west of Brazil: Case report. **Journal of Clinical Virology**. v. 45. p. 153-156, 2009.
- RABONI, S. M. et al. Hantavirus Infection Prevalence in Wild Rodents and Human Anti-Hantavirus Serological. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**. v. 87. n. 2. p. 371-378, 2012.

- RASMUSON J. et al. Time to revise the paradigm of hantavirus syndromes? Hantavirus pulmonary syndrome caused by European hantavirus. **European Journal Clinical Microbiology e Infectious Diseases**. v. 30. p. 685-690, 2011.
- REUSKEN, C.; HEYMAN, P. Factors driving hantavirus emergence in Europe. **Current Opinion in Virology**. v. 3. p. 1-8, 2013.
- ROMERO, M. H. et al. Anticuerpos contra *Leptospira* sp. en primates neotropicales y trabajadores de un zoológico colombiano. **Revista Salud Pública**. V. 13. N. 5. P. 814-823, 2011.
- ROSA, E. S. T. et al. Newly Reconized Hantaviruses associated with Hantavirus pulmonary syndrome in Northern Brazil: Partial Genetic Characterization of viruses and serologic implication of likely reservoirs. **Vector-borne and Zoonotic Diseases**. v. 5. n. 1. p. 11-19, 2005.
- ROSA, E. S. T. et al. Hantaviruses and Hantavirus pulmonar syndrome, Maranhão, Brazil. **Emerging Infectious Diseases**. v. 16. n. 12. p. 1952-1955, 2010.
- ROSA, E. S. T. et al. Pygmy rice rat as potential host of Castelo dos Sonhos hantavirus. **Emerging Infectious Diseases**. v. 17. n. 8, 2011.
- SAGGIORO, F. P. et al. Hantavirus infectious induces a typical myocarditis that may be responsible for myocardial depression and shock in Hantavirus Pulmonary Syndrome. **The Journal of Infections Diseases**. v. 195. p. 1541-1549, 2007.
- SAKATA. E. E. et al. Sorovares de *Leptospira interrogans* isolados de casos de leptospirose humana em São Paulo, Brasil. **Revista Instituto Medicina Tropical de São Paulo**. v. 34. n. 3. p. 217-221, 1992.
- SAKHAEI, E.; POUR, G. R. A. Detection of leptospiral antibodies by microscopic agglutination test in north-east of Iran. **Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine**. p. 227-229, 2011.
- SANTOS, I. O. et al. Serologic survey of hantavirus in a rural population from the northern state of Mato Grosso, Brazil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**. V.46. n. 1. P. 30-33, 2013.
- SANTOS, J. P.; STEINKE, E. T.; GARCÍA-ZAPATA, M. T. A. Uso e ocupação do solo e a disseminação da hantaviose na região de São Sebastião, Distrito Federal: 2004 – 2008. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**. v. 44. n.1. p.53-57, 2011.
- SANTOS-JÚNIOR, J. F. **Pesquisa de anticorpos anti-hantavirus na população do estado de Alagoas**. 2012. 109p. Dissertação (Mestrado em Ciências da Saúde). Universidade Federal de Alagoas. Instituto de Ciências Biológicas e da Saúde. Maceió. 2012.
- SCHMALJOHN, C.; HJELLE, B. Hantaviruses: A global disease problem. **Emerging Infectious Diseases**. v. 3. n. 2. p. 95-104, 1997.

- SCHMIDT, R. A. C. A questão ambiental na promoção da saúde: uma oportunidade de ação multiprofissional sobre doenças emergentes. **Revista de Saúde Coletiva**. v. 17. n. 2. p. 373-392, 2007.
- SCHATZMAYR, H. G. Viroses emergentes e reemergentes. **Caderno de Saúde Pública**. v. 17. p. 209-213, 2000.
- SERGIO, A. D. M. et al. Leptospirosis prevalence in patients with initial diagnosis of dengue. **Journal of Tropical Medicine**. p. 1-5, 2012.
- SESTARO, C.; FERNANDES, S. R. C.; VILELA, R. S.; HENRIQUES, W. N. Hantavirus pulmonar syndrome: an alert to Latin American Countries. **The Brazilian Journal of Infectious Diseases**. v. 3. n. 6. p. 203-214, 1999.
- SILVA, M. V. et al. Hantavirus Pulmonary Syndrome. Report of the first three cases in São Paulo, Brazil. **Revista do Instituto de Medicina Tropical São Paulo**. v. 39. n. 4. p. 1997.
- SMADEL, J. E. Epidemic Hemorrhagic Fever. **American Journal of Public Health**. v.43, 1953.
- SOBREIRA, M. et al. A serosurvey for hantavirus infection in wild rodents from the states of Rio de Janeiro and Pernambuco, Brazil. **Acta tropica**. v. 107. p. 150-152, 2008.
- SOARES, T. S. M.; OLIVEIRA LATORRE, M. R. D.; LAPORTA, G. Z.; BUZZAR, M. R. Análise espacial e sazonal da leptospirose no município de São Paulo, SP, 1998 a 2006. **Revista de Saúde Pública**. v. 44. n. 2. p. 283-291, 2010.
- SOUZA, W. M.; MACHADO, A. M.; FIGUEIREDO, L. T. M.; BOFF, E. Serosurvey of hantavírus infection in humans in the border region between Brazil and Argentina. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**. v. 44. n. 2. p. 131-135, 2011.
- SOUZA, W. M. et al. Antibody levels to Hantavirus in inhabitants of western Santa Catarina State, Brazil. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**. v. 54. n. 4. p. 193-196, 2012.
- SUZUKI, A. et al. Identifying rodent Hantavirus reservoirs, Brazil. **Emerging Infectious Diseases**. v. 10. n. 12. p. 2127-2134, 2004.
- TAVARES-NETO, J. et al. Frequência de aglutininas para leptospira observadas em habitantes de Uberaba, Minas Gerais. **Revista da sociedade Brasileira de Medicina Tropical**. v. 29. n. 1. p. 55-58, 1996.
- TERAJIMA, M. et al. Immunopathogenesis of hantavírus pulmonar syndrome and hemorrhagic fever with renal syndrome: Do CD8+T cells trigger capillary in viral hemorrhagic fevers? **Immunology Letters**. Pag. 117-120, 2007.

- VASCONCELOS, C. H. et al. Fatores ambientais e socioeconômicos relacionados à distribuição de casos de leptospirose no Estado de Pernambuco, Brasil, 2001-2009. **Cadernos Saúde Coletiva**. n.20, v.1, p. 49-56, 2012.
- WAITKINS, S. A. Leptospirosis as an occupational disease. **British Journal of Industrial Medicine**. v. 43. p. 721-725, 1986.
- YANG, C.; WU, M.; PAN, M. Leptospirosis renal disease. **Nephrol Dial Transplant**. v. 16. n. 5. p. 73-77, 2001.



## **5 ARTIGOS CIENTÍFICOS**

### **5.1 ARTIGO 1**

#### **PESQUISA DE ANTICORPOS ANTI-*Leptospira* spp. EM GRUPOS OCUPACIONAIS DO MUNICÍPIO DE GARANHUNS, PERNAMBUCO**

(Artigo será submetido à Revista Panamericana de Salud Pública)

## **Pesquisa de anticorpos anti-*Leptospira* spp. em grupos ocupacionais do município de Garanhuns, Pernambuco**

### **Resumo**

Objetivou-se com o presente trabalho determinar a prevalência de anticorpos anti-*Leptospira* spp. em grupos ocupacionais do município de Garanhuns no Estado de Pernambuco, Brasil. Um total de 154 amostras foram colhidas e aplicado um questionário, para a análise dos fatores de risco. Para o diagnóstico sorológico utilizou-se a técnica de Soroaglutinação Microscópica (MAT). A prevalência de anticorpos anti-*Leptospira* spp. foi de 5,19% (8/154; I.C. 2,27% - 9,98%), sendo observada nos participantes da zona urbana uma prevalência de 5,68% (5/88; I.C. 1,87% - 12,76%) e nos da zona rural 4,55% (3/66; I.C. 0,95% - 12,71%). Os sorovares mais frequentes foram o Grippytyphosa (12,5%) na área rural, e na área urbana o Autumnalis (12,5%), enquanto o Wolffi (25%) e o Australis (50%) foram verificados tanto na área rural como na urbana. Na análise de fatores de risco não foi observada associação entre as variáveis estudadas e a sorologia. Este foi o primeiro estudo a relatar a presença de anticorpos anti-*Leptospira* spp. em trabalhadores urbanos e rurais do município de Garanhuns, Pernambuco. Este achado alerta para a atenção e realização de pesquisas em áreas em que há uma baixa prevalência e até mesmo para áreas silenciosas, pois desta forma medidas de controle e prevenção poderão ser implementadas com o intuito de garantir a saúde da população exposta.

**Palavras-chave:** epidemiologia, leptospirose, saúde pública

### **Introdução**

A leptospirose é uma antropozoonose, causada por bactérias do gênero *Leptospira* que pode provocar uma doença infecciosa febril de início abrupto e apresenta-se de forma leve (infecções inaparentes), ou ainda pode evoluir para a forma grave (1).

O gênero *Leptospira* possui 13 espécies patogênicas e mais de 260 sorovares já foram identificados (2). As diferentes espécies de roedores podem ser reservatórios de sorovares

distintos (3). Os homens são hospedeiros acidentais, se infectam de maneira direta quando entram em contato com urina do reservatório contaminada, ou indiretamente por meio do contato com água, solo lamacento ou alimentos contaminados (4).

No Brasil, alguns estudos sorológicos foram realizados para determinar a prevalência da infecção por *Leptospira* spp. em humanos e observou-se uma variação de 1,3% a 25% (8-14).

Estudos de prevalência são realizados para investigação da infecção em diferentes partes do mundo, como o realizado no nordeste do Irã, com uma prevalência de anticorpos anti-*Leptospira* de 15,79% (45/285), para os sorovares Icterohaemorrhagiae, Hardjo, Grippotyphosa, Pomona, Canicola e Ballum (5). No estado de Veracruz no México foi observada uma prevalência de anticorpos anti-*Leptospira* de 6,4% (11/171) (6). Na cidade de Pereira na Colômbia foi detectada uma prevalência de 25% (5/20) em funcionários de um zoológico e os sorovares mais frequentes foram Bataviae, Grippotyphosa, Hurstbridge (7).

Em relação aos fatores de risco, estudo aponta que êxodo rural e a ocupação desordenada das cidades principalmente em lugares próximos a córregos e riachos, além da falta de organização das redes de saneamento básico, aliados a grande aglomeração populacional de baixa renda e infestações por roedores favoreceram o aumento na incidência de casos de leptospirose no meio urbano e peri-urbano (15).

Considerando a importância e risco ocupacional relacionado a essa enfermidade, objetivou-se com este estudo determinar a prevalência de anticorpos anti-*Leptospira* spp. em profissionais responsáveis pela limpeza urbana, catadores de material reciclado e trabalhadores rurais do município de Garanhuns do estado de Pernambuco, Brasil.

## **Material e Métodos**

O projeto foi submetido à apreciação e aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) da Plataforma Brasil, com número CAAE 03798812.3.0000.5207.

Para realização deste estudo utilizou-se uma análise epidemiológica descritiva transversal. Para determinar o tamanho da amostra utilizou-se uma prevalência esperada para infecção por *Leptospira* spp. de 10,4% (9), o que determinou uma amostragem mínima de 110 amostras, considerando o nível de confiança de 95% e erro estatístico de 5% (16). Como margem de segurança foram colhidas 154 amostras, sendo 95 do sexo masculino e 59 do sexo feminino, colhidas de profissionais que atuam na zona urbana e rural. Na zona urbana, foram selecionados: uma empresa terceirizada de limpeza urbana (n = 80) e uma associação de catadores de material para reciclagem (n = 8). Na zona rural, foram amostrados 66 trabalhadores rurais cadastrados no Posto de Saúde da Família (PSF) localizado no distrito de São Pedro, pertencente ao município de Garanhuns.

Não houve critérios de inclusão ou exclusão, os voluntários foram convidados a participar da pesquisa com antecedência e por demanda espontânea e nos dias agendados foram obtidas as amostras. Antes da colheita das amostras, foi esclarecido sobre os objetivos da pesquisa e os que concordaram em participar, assinaram e receberam uma via do TCLE – Termo de Consentimento Livre Esclarecido, conforme Resolução nº 466/12 do Conselho Nacional de Saúde (17). Foi aplicado um questionário com questões objetivas que incluía informações demográficas (sexo, idade, endereço, ocupação e tempo exercendo essa atividade) e perguntas relacionadas aos fatores de risco para a ocorrência da infecção (presença de roedores em casa ou no trabalho, destino do lixo, acúmulo de lixo próximo a casa). Foram colhidas amostras de aproximadamente 10 mL de sangue, com seringa e agulha descartáveis. Os tubos identificados posteriormente foram centrifugados a 5000 rpm por 10 minutos e as alíquotas de soro em tubos tipo *ependorfs* foram armazenadas a -20° C na Central de Laboratórios de Garanhuns da Unidade Acadêmica de Garanhuns - CENLAG, até a realização da sorologia.

Para o diagnóstico sorológico empregou-se a técnica de Soroaglutinação Microscópica (MAT) (18), na qual utilizaram-se como antígenos 24 sorovares de *Leptospira interrogans* vivas

cultivadas em meio EMJH (Ellinghausen-McCullough-Johnson-Harris), livres de contaminação e autoaglutinação, sendo eles: Andamana, Australis, Autumnalis, Bataviae, Bratislava, Butembo, Canicola, Castellonis, Copenhageni, Cynopteri, Hardjo, Hebdomadis, Grippotyphosa, Icterohaemorrhagiae, Javanica, Panama, Pomona, Patoc, Pyrogenes, Sentot, Shermani, Tarassovi, Whitcombi e Wolffii (19). Foram considerados positivos os soros que apresentaram aglutinação de pelo menos 50% das leptospiras no campo microscópico a partir da diluição 1:100 (14). Os reagentes na triagem (1:50), foram submetidos a múltiplas diluições a partir de 1:100, sendo considerado o maior título o último em que ainda foi observada aglutinação em mais de 50% do campo escuro.

Realizou-se a análise estatística descritiva para cálculos das frequências relativa e absoluta dos resultados obtidos no teste sorológico. Para identificar a associação entre as variáveis epidemiológicas e exame sorológico, aplicou-se análise univariada das variáveis de interesse pelo teste Exato de Fisher e foram submetidas a uma análise multivariada pelo modelo regressão logística. Para análise dos dados utilizou-se o *software* Epi Info, versão 7.1.1.0 - *Centers for Disease Control and Prevention (CDC)*.

## **Resultados**

A prevalência geral de anticorpos anti-*Leptospira* spp. foi de 5,19% (8/154; I.C. 2,27% - 9,98%), Na área urbana a prevalência foi de 5,68% (5/88; I.C. 1,87% - 12,76%) e na área rural foi de 4,55% (3/66; I.C. 0,95% - 12,71%).

Observou-se que a prevalência em relação ao sexo foi de 6,17% (5/81) em trabalhadores do sexo masculino na área urbana e 14,29% (2/14) na área rural. Para o sexo feminino observou-se prevalência de 1,82% (1/52) na área rural e nenhum reagente na área urbana.

A frequência dos sorovares para *Leptospira* spp. e distribuição por área urbana e rural está descrita na tabela 1.

A análise de associação entre as variáveis epidemiológicas e a sorologia para pesquisa de anticorpos anti-*Leptospira* spp. dos participantes da zona urbana, encontra-se disposta na tabela 2. Na área rural não foi identificada associação entre as variáveis analisadas: acúmulo de lixo próximo a casa ( $p=1,000$ ) e depósito de armazenamento de grãos (0,457).

Na regressão logística não foi identificada associação entre as variáveis analisadas para as áreas urbana e rural e infecção por *Leptospira* spp.

## **Discussão**

A prevalência neste estudo é diferente dos resultados obtidos em outros países, como no Irã (15,8%) (5) e Colômbia (25,0%) (7). Difere também de outros estudos realizados no Brasil com prevalências variando entre 10,2% a 25% (8, 9, 11, 12, 14).

Estas diferentes prevalências podem estar relacionadas às características ambientais, fatores de riscos aos quais, as populações que participaram dos inquéritos estavam expostas, área de estudo, amostragem realizada e tipos de sorovares empregados na sorologia.

A baixa prevalência encontrada neste estudo confere com os dados registrados no Sistema de Informação de Agravos de Notificação (SINAN), onde se constatou a ocorrência de três casos de leptospirose no município de Garanhuns, Pernambuco, no período de 2007 a 2012.

Ao analisar os sorovares observou-se neste estudo a ocorrência de Australis, Autumnalis, Grippotyphosa e Wolffi. Semelhante a este estudo, outros autores também relataram os sorovares Autumnalis (12), Australis (9), Grippotyphosa (5, 7) e Wolffi (10) como os mais prevalentes.

O sorovar mais prevalente neste estudo foi o Australis, este sorovar é relatado na literatura como responsável pela infecção em ovinos (20, 21), sendo estes uma possível fonte de infecção para os reagentes nesta pesquisa, visto que é comum na periferia da cidade a criação de animais de produção. O sorovar Autumnalis é descrito em estudos de prevalência em cães (22,

23), bovinos (24) e ovinos (20, 21, 25). Observou-se neste estudo que o participante reagente afirmou ter contato com cães e residia em um bairro na periferia.

Estes dois sorovares, Australis e Autumnalis foram identificados em dois casos de leptospirose aguda humana no município de Pelotas (RS) (26), o que demonstra a importância de conhecer os sorovares presentes nas diferentes áreas, pois a depender do sorovar identificado na região de estudo, medidas de controle e prevenção deverão ser específicas, observando as particularidades da cadeia de transmissão deste agente.

Em relação ao sorovar Wolffii identificado neste estudo, observou-se que um dos reagentes possuía o hábito de tomar banho em locais com água parada (açudes) e com acesso a animais de produção o que provavelmente proporcionou o contato com o sorovar encontrado, visto que este é relatado principalmente em bovinos, considerados hospedeiros de manutenção (27).

De acordo com Waitkins (4) os animais domésticos podem servir como hospedeiros de manutenção da *Leptospira* spp. adaptadas a suas espécies, como por exemplo, o cão infectado com o sorovar Canicola. Existem adaptações de sorovares particulares com certas espécies de animais, que se comportam como portadores adaptados que mantem a bactéria, e contribuem para a manutenção do agente em um determinado lugar, mas a associação não é absoluta e a especificidade dessa manutenção não é conhecida (2).

Ao observar a análise de associação entre as variáveis analisadas e a sorologia não foi identificado nenhum fator de risco. Entretanto, observou-se uma maior prevalência em indivíduos do sexo masculino o que pode estar relacionada ao risco ocupacional, já que geralmente as atividades de limpeza urbana são realizadas principalmente por homens. Outros estudos de casos com leptospirose também indicam uma maior ocorrência da infecção em pacientes do sexo masculino (28, 29, 30, 31, 32, 15).

Em relação ao fornecimento de água, observou-se uma maior prevalência nos trabalhadores que não possuíam em suas residências água encanada, observando associação significativa na análise univariada ( $p=0,048$ ). Constatou-se uma maior prevalência em trabalhadores que residiam em casas que alagavam durante as chuvas (12,5%). Estas duas variáveis estão diretamente relacionadas com a epidemiologia da doença, visto que a água quando não tratada pode veicular diversos patógenos para o homem, inclusive a *Leptospira* spp e que a leptospirose está diretamente relacionada com o contato com água contaminada com urina dos roedores e de animais infectados durante as enchentes. De acordo com Waitkins (4) os homens são hospedeiros acidentais, e tanto o homem, quanto os animais infectam-se de forma direta quando entram em contato com urina do reservatório contaminada, ou indireta por meio do contato com água, solo lamacento ou alimentos contaminados.

Não foi possível identificar neste estudo associação entre as variáveis: presença de roedor; trabalho em áreas de esgoto a céu aberto, valas, galerias e esgotos. Segundo Adler e Moctezuma (2) a associação com o risco ocupacional é relatada principalmente nos países com atividades de agricultura e pecuária e o risco de infecção mediada por roedores infectados nos países tropicais, onde muitos sorovares podem estar presentes (2). Nas áreas urbanas, os profissionais mais expostos ao risco de infecção, são os limpadores de caixas de água, fossas e valas (32), enquanto que na área rural os que lidam com o gado, como por exemplo, os vaqueiros, veterinários, trabalhadores de matadouro estão mais expostos ao risco de infecção (4).

Nos países em desenvolvimento, onde a leptospirose ocorre de maneira endêmica e epidêmica, os fatores de risco não estão relacionados apenas ao risco ocupacional ou lazer, mas, para a população como um todo. Já nos países onde ocorre aumento da população de forma desordenada com crescente demografia, o homem é responsável por modificar a área urbana e favorecer a ocorrência das formas endêmicas e epidêmicas da leptospirose (34).



Alguns fatores como mudanças climáticas, resultante da atividade humana e práticas de construção (como pavimentação, por exemplo) podem favorecer a ocorrência de inundações, o que facilita a dispersão de micro-organismos infecciosos a partir do solo ou de esgotos para as águas superficiais (34). As condições ambientais favorecem a transmissão do agente, possibilitando modificações da biologia da população, comportamento ou ecologia de espiroquetas e seus hospedeiros no local (35).

No Brasil, alguns fatores como êxodo rural e a ocupação desordenada das cidades principalmente em lugares próximos a córregos e riachos, além da falta de organização das redes de saneamento básico, aliados a grande aglomeração populacional de baixa renda e infestações de roedores propicia o aumento de casos no meio urbano e peri-urbano (15).

Para controlar e prevenir esta enfermidade é necessário que se adotem medidas como educação em saúde, saneamento ambiental, adoção de medidas higiênico-sanitárias e tratamento precoce dos casos detectados, visto que não é possível realizar a eliminação do principal reservatório desse agente (36).

## **Conclusão**

Este foi o primeiro estudo a relatar a presença de anticorpos anti-*Leptospira* spp. em trabalhadores urbanos e rurais do município de Garanhuns, Pernambuco. Este achado alerta para a atenção e realização de pesquisas em áreas em que há uma baixa prevalência e até mesmo para áreas silenciosas, pois desta forma medidas de controle e prevenção poderão ser implementadas com o intuito de garantir a saúde da população exposta.

## **Agradecimento**

A Fundação de Amparo à Ciência e Tecnologia do Estado de Pernambuco – FACEPE pela concessão da bolsa.

## Referências

1. Horsch F. Leptospirose. In: Beer J. Doenças infecciosas em animais domésticos. São Paulo: Roca, 1988; 305-324.
2. Adler B, Moctezuma ALP. *Leptospira* and leptospirosis. *Vet Microbiol* 2010; 140: 287-296.
3. Levett PN. Leptospirosis. *Clin Microbiol Rev* 2001; 14; 2: 296-326.
4. Waitkins SA. Leptospirosis as an occupational disease. *Br J Ind Med*. 1986; 43: 721-725.
5. Sakhaee E, Pour GRA. Detection of leptospiral antibodies by microscopic agglutination test in north-east of Iran. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*. 2011; 227-229.
6. Sergio ADM, Figueroa EG, Saadia VGM, Elizabeth SH, Beatriz RS, Victor MAA et al. Leptospirosis prevalence in patients with initial diagnosis of dengue. *J Trop Med* 2012; 1-5.
7. Romero MH, Astudillo M, Sánchez JÁ, González LM, Varela N. Anticuerpos contra *Leptospira* sp. en primates neotropicales y trabajadores de un zoológico colombiano. *Rev. Salud Publica* 2011; 13; 5: 814-823.
8. Pereira MM, Andrade J. Human leptospirosis in a slum area in the city of Rio de Janeiro, Brazil – A serological and epidemiological study. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 1990; 85; 1: 47-52.
9. Almeida LP, Martins LFS, Brod CS, Germano PML. Levantamento soroepidemiológico de leptospirose em trabalhadores do serviço de saneamento ambiental em localidade urbana na região Sul do Brasil. *Rev Saude Publica* 1994; 1; 28: 76-81.
10. Gonçalves DD, Teles PS, Reis CR, Lopes FMR, Freira RL, Navarro IT, et al. Seroepidemiology and occupational and environmental variables for leptospirosis, brucellosis and toxoplasmosis in slaughterhouse workers in the Paraná state, Brazil. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo* 2006; 48; 2:135-140.
11. Aguiar DM, Cavalcante GT, Camargo LMA, Labruna MB, Vasconcellos AS, Souza GO et al. Anti-*Leptospira* spp. and anti-*Brucella* spp. antibodies in humans from rural area of Monte

Negro municipality, state of Rondônia, Brazilian western Amazon. *Braz J Microbiol* 2007; 38: 93-96.

12. Langoni H, Souza LC, Silva AV, Cunha ELP, Silva RC. Epidemiological aspects in leptospirosis. Research of anti-*Leptospira* spp. antibodies, isolation and biomolecular research in bovines, rodents and workers in rural properties from Botucatu, SP, Brazil. *Braz J Vet Res Anim Sci* 2008; 45; 3: 190-199.

13. Langoni, H, Hage SSE, Peruca LCB, Lucheis SB, Deffune E. Aglutininas anti-*Leptospiras* em doadores de sangue. *Veterinária e Zootecnia* 2010; 17; 1: 79-84.

14. Gonçalves DD, Benitez A, Lopes-Mori FMR, Alves LA, Freire RL, Navarro IT et al. Zoonoses in humans from small rural properties in Jataizinho, Parana, Brazil. *Braz J Microbiol* 2013; 44; 1: 125-131.

15. Vasconcelos CH, Fonseca FR, Lise MLZ, Arsky MLNS. Fatores ambientais e socioeconômicos relacionados à distribuição de casos de leptospirose no Estado de Pernambuco, Brasil, 2001-2009. *Cad Saude Colet* 2012; 20; 1: 49-56.

16. Thrusfield, M.. *Epidemiologia Veterinária*. 2th. ed. São Paulo: Roca, p.556. 2004.

17. Brasil. Conselho nacional de Saúde. Resolução nº 466 de dezembro de 2012. 2012. A presente Resolução incorpora, sob a ótica do indivíduo e das coletividades, referenciais da bioética, tais como, autonomia, não maleficência, beneficência, justiça e equidade, dentre outros, e visa a assegurar os direitos e deveres que dizem respeito aos participantes da pesquisa, à comunidade científica e ao Estado. Available: <http://conselho.saude.gov.br/resolucoes/2012/Reso466.pdf> Accessed 31 August 2012.

18. Brasil. Ministério da Saúde. Guia de Vigilância Epidemiológica. 7th. ed. Brasília: Ministério da saúde, 2009.

19. Brasil. Fundação Nacional de Saúde. Manual de leptospirose. 2th. ed.. Brasília: Ministério da Saúde, 1995.

20. Aguiar DM, Cavalcante GT, Vasconcelos AS, Souza GO, Labruna MB, Camargo LMA et al. Anticorpos anti-*Leptospira* spp. em ovinos do município de Monte Negro, Estado de Rondônia. *Arq Inst Biol* 2010; 77; 3: 529-532.
21. Salaberry SRS, Castro V, Nassar AFC, Castro JR, Guimarães EC, Lima-Ribeiro MC. Seroprevalence and risk factors of antibodies against *Leptospira* spp. in ovines from Uberlândia municipality, Minas Gerais State, Brazil. *Braz J Microbiol* 2011; 42: 1427-1433.
22. Aguiar DM, Cavalcante GT, Marvulo MFV, Silva JCR, Pinter A, Vasconcelos SA et al. Fatores de risco associados à ocorrência de anticorpos anti-*Leptospira* spp. em cães do município de Monte Negro, Rondônia, Amazônia Ocidental Brasileira. *Arq Bras Med Vet Zootec* 2007a; 59; 1:70-76.
23. Batista CSA, Alves CJ, Azevedo SS, Vasconcelos AS, Moraes ZM, Clementino IJ et al. Soroprevalência e fatores de risco para a leptospirose em cães de Campina Grande, Paraíba. *Arq Bras Med Vet Zootec* 2005; 57: 179-185.
24. Ratnam S, Sundararaj T, Subramanian S. Serological evidence of leptospirosis in a human population following an outbreak of the disease in cattle. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 1983; 77; 1: 94-98.
25. Silva EF, Brod CS, Cerqueira GM, Bourscheidt D, Seyffert N, Queiroz A et al. Isolation of *Leptospira noguchii* from sheep. *Vet Microbiol* 2007; 121: 144-149.
26. Silva EF, Cerqueira GM, Seyffert N, Seixas FK, Hartwig, Athanazio DA et al. *Leptospira noguchii* and Human and Animal Leptospirosis, Southern Brazil. *Emerg Infect Dis* 2009; 15; 4: 621-623.
27. Langoni H, Meireles LR, Gotschalk S, Cabral KG, Silva AV. Perfil sorológico da leptospirose bovina em regiões do Estado de São Paulo. *Arq Inst Biol* 2000;67; 1.

28. Andrade J, Brandão, A. P. Contribuição ao conhecimento da epidemiologia da Leptospirose humana, com especial referência ao Grande Rio, Brasil, no período de 1970 a 1982. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 1987; 82; 1: 91-100.
29. Costa E, Costa YA, Lopes AA, Sacramento E, Bina JC. Formas graves de leptospirose: aspectos clínicos, demográficos e ambientais. *Rev Soc Bras Med Trop* 2001; 34; 3: 261-267.
30. Figueiredo CM, Mourão AC, Oliveira MAA, Alves WR, Ooteman MC, Chamone et al. Leptospirose humana no município de Belo Horizonte, Minas Gerais, Brasil: uma abordagem geográfica. *Rev Soc Bras Med Trop* v.34.n.4.p.331-338, 2001.
31. Soares TSM, Oliveira Latorre MRD, Laporta GZ, Buzzar MR. Análise espacial e sazonal da leptospirose no município de São Paulo, SP, 1998 a 2006. *Rev Saude Publica* 2010; 44; 2: 283-291.
32. Jesus M S, Silva LA, Lima K M S, Fernandes OCC. Cases distribution of leptospirosis in city of Manaus, state of Amazonas, Brazil, 2000-2010. *Rev Soc Bras Med Trop* 2012; 45; 6: 713-716.
33. Ávila-Pires FD. Leptospirose e enchentes: uma falsa correlação? *Rev Patol Trop* 2006; 35; 3: 199-204.
34. Plank R, Dean D. Overview of the epidemiology, microbiology, and pathogenesis of *Leptospira* spp. in humans. *Microbes Infect* 2000; 2: 1265-1276.
35. Bharti AR. Leptospirosis: a zoonotic disease of global importance. *The Lancet*. 2003; 3: 757-771.
36. Oliveira DSC, Guimarães MJB, Medeiros Z. Modelo produtivo para leptospirose. *Rev Patol Trop* 2009; 38; 1: 17-26.

Tabela 1 – Distribuição da frequência dos sorovares das amostras reagentes dos trabalhadores urbanos e rurais do município de Garanhuns, Pernambuco

Sorovar	Titulação					
	100		200		400	
	Urbana	Rural	Urbana	Rural	Urbana	Rural
Australis	2	1	-	-	1	-
Autumnalis	1	-	-	-	-	-
Grippotyphosa	-	-	-	1	-	-
Wolffi	-	1	1	-	-	-
Total	3	2	1	1	1	-

Tabela 2 Análise dos fatores de risco associados à infecção por *Leptospira* spp em profissionais responsáveis pela limpeza urbana, catadores de material reciclado do município de Garanhuns do Estado de Pernambuco, Brasil

VARIÁVEL	N	SOROLOGIA	ANÁLISE UNIVARIADA	P
		Reagente	OR (I.C. 95%)	
<b>Tempo da ocupação</b>				
Menos que 5 anos	60	4 (6,6%)	1,92 (0,20 - 18,09)	1,0000
Mais que 5 anos	28	1 (3,5%)		
<b>Qual o horário de trabalho?</b>				
Diurno	61	2 (3,2%)	-	0,0233*
Noturno	7	2 (28,5%)	11,80 (1,35 - 102,54)	
Ambos	20	1 (5,0%)	1,55 (0,13 - 18,09)	
<b>Trabalha em terrenos baldios?<sup>1</sup></b>				
Sim	62	2 (3,2%)	0,23 (0,03 - 1,49)	0,1300
Não	24	3 (12,5%)		
<b>Trabalha em áreas de esgoto a céu aberto?<sup>1</sup></b>				
Sim	67	3 (4,4%)	0,32 (0,05 - 2,15)	0,2449
Não	16	2 (12,5%)		
<b>Trabalha em lugares como valas, galerias e esgotos?<sup>1</sup></b>				
Sim	38	1 (2,6%)	0,29 (0,03 - 2,77)	0,3776
Não	48	4 (8,3%)		
<b>Observa roedor no local de trabalho?<sup>2</sup></b>				
Sim	66	2 (3,0%)	0,18 (0,03 - 1,21)	0,0884
Não	21	3 (14,2%)		
<b>Utiliza proteção no trabalho?<sup>3</sup></b>				
Sim	75	4 (5,3%)	0,50 (0,50 - 5,04)	0,4738
Não	10	1 (10,0%)		
<b>Participou de treinamento para iniciar no trabalho?<sup>2</sup></b>				

Sim	21	1 (4,76%)	0,77 (0,08 - 7,34)	1,0000
Não	66	4 (6,06%)		
<b>Qual a fonte de fornecimento de água na residência?</b>				
Água encanada	81	3 (3,7%)	0,09 (0,01 - 0,71)	0,0487*
Outras	7	2 (28,57%)		
<b>A casa alaga quando chove?</b>				
Sim	8	1 (12,5%)	2,71 (0,26 - 27,73)	0,3863
Não	80	4 (5,0%)		

N - Total de amostras; OR - *Odds Ratio*(Razão de Chance); IC - Intervalo de Confiança; \* Associação significativa ( $P < 0,05$ ); <sup>1</sup> Base utilizada (86); <sup>2</sup> Base utilizada (87); <sup>3</sup> Base utilizada (85).

## 5.2 ARTIGO 2

### **INQUÉRITO SOROLÓGICO PARA *Hantavirus* EM TRABALHADORES URBANOS E RURAIS EM PERNAMBUCO**

(Artigo submetido a PLOS Neglected Tropical Diseases)



## **Inquérito sorológico para *Hantavirus* em trabalhadores urbanos e rurais em Pernambuco**

### *Inquérito para Hantavirus*

**Resumo:** Objetivou-se com este estudo determinar a prevalência de anticorpos anti-*Hantavirus* em profissionais responsáveis pela limpeza urbana (coleta de lixo, capina e varrição), catadores de material reciclado e trabalhadores rurais do município de Garanhuns do Estado de Pernambuco, Brasil. Foram obtidas 156 amostras, colhidas de profissionais que atuam em uma empresa terceirizada de limpeza urbana, catadores de material para reciclagem e trabalhadores rurais. O método utilizado para a detecção de anticorpos IgG contra a proteína N do hantavirus *Araraquara* foi o ELISA *in house*. A prevalência de anticorpos anti-*Hantavirus* foi de 1,9% (3/156; I.C. 0,4%-5,5%). Após a realização da titulação, observou-se duas amostras reagentes com títulos de 200 (66,7%) e uma de 400 (33,3%). Todos os indivíduos sororreagentes (100,0%) eram do sexo masculino e da zona urbana. Em relação à idade, observou-se um maior número de sororreagentes na faixa etária entre 18 e 40 anos ( $p=0,009$ ). Este foi o primeiro estudo realizado no município de Garanhuns a relatar a presença de IgG anti-hantavirus em humanos, o que alerta para uma necessidade de atenção especial pelas autoridades em Vigilância Epidemiológica para investigação da ocorrência desta enfermidade.

**Palavras-chave:** diagnóstico, epidemiologia, SCPH.

### **Introdução**

A hantavirose é uma antropozoonose viral de curso agudo que pode se manifestar sob diferentes formas clínicas em infecções humanas: inaparente ou subclínica; de forma grave e bem característica como a Febre Hemorrágica com Síndrome Renal (FHRS) típica da Europa e da Ásia, ou ainda a Síndrome Cardiopulmonar por Hantavírus (SCPH) típica das Américas. [1]

Entretanto, uma nova denominação para essas doenças tem sido proposta, sugerindo o uso apenas do termo “doença por hantavírus” em substituição à dicotomia FHSR/SCPH. [2,3]

Nas Américas, a hantavirose caracteriza-se por estar associada aos roedores silvestres da família *Muridae*, subfamílias *Sigmodontinae* (América do Norte, Central e do Sul) e *Arvicolinae* (América do Norte). [4] É considerada uma doença emergente, cujo agente etiológico, o hantavírus, pertence à família *Bunyaviridae*. [5] Os roedores infectados eliminam os vírus na urina, fezes e saliva e a transmissão ocorre quando os hospedeiros susceptíveis inalam aerossóis, contendo o vírus, formado a partir do ressecamento das excreções. [6]

Segundo dados do Centro de Controle de Doenças e Prevenção (CDC), até dezembro de 2011 foram relatados 587 casos da síndrome pulmonar nos Estados Unidos, com uma mortalidade de 36%. [7] Anualmente na Rússia cerca de 10.000 a 12.000 casos clínicos de hantavirose (*Puumala vírus* e *Dobrava Belgrade vírus*), caracterizados por insuficiência renal são relatados. [8]

No Brasil, a doença foi diagnosticada pela primeira vez em 1993, no município de Juitiba, interior do Estado de São Paulo. [4] De acordo com dados atualizados do Ministério da Saúde, em maio de 2013, no período de 1993 a 2013 ocorreram 1.640 casos de hantavirose no Brasil e 653 óbitos. [9,10]

Considerando a escassez de dados sobre relatos de hantavírus no estado de Pernambuco, objetivou-se com o presente trabalho determinar a prevalência de anticorpos anti-*Hantavirus* em profissionais responsáveis pela limpeza urbana (coleta de lixo, capina e varrição), catadores de material reciclado e trabalhadores rurais do município de Garanhuns, Estado de Pernambuco, Brasil.

## **Material e Métodos**

O projeto foi submetido à apreciação e aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) da Plataforma Brasil, com número CAAE 03798812.3.0000.5207.

Para este estudo foi realizada uma análise epidemiológica descritiva transversal no município de Garanhuns, que possui uma população de 129.408 habitantes. [11]

O tamanho da amostra para compor o estudo de prevalência foi determinado considerando-se uma prevalência esperada para infecção por *Hantavirus* de 4,0% [12], o que determinou uma amostragem mínima de 60 amostras, considerando o nível de confiança de 95% e erro estatístico de 5%. [13] Como margem de segurança foram obtidas 156 amostras, sendo 97 do sexo masculino e 59 do sexo feminino, colhidas de profissionais que atuam na zona urbana e rural. Na zona urbana foram selecionadas uma empresa terceirizada de limpeza urbana (n = 80) e uma associação de catadores de material para reciclagem (n = 8). Na zona rural foram amostrados 68 trabalhadores rurais cadastrados no Posto de Saúde da Família (PSF) localizado no distrito de São Pedro, pertencente ao município de Garanhuns.

Não houve critérios de inclusão ou exclusão, os voluntários foram convidados a participar da pesquisa com antecedência e por demanda espontânea e nos dias agendados foram obtidas as amostras. Antes da colheita das amostras, foi esclarecido sobre os objetivos da pesquisa e os que concordaram em participar, assinaram e receberam uma via do TCLE – Termo de Consentimento Livre Esclarecido, conforme Resolução nº196/96 do Conselho Nacional de Saúde. [14] Foi aplicado um questionário com questões objetivas que incluía informações demográficas (sexo, idade, endereço, ocupação e tempo exercendo essa atividade) e perguntas relacionadas aos fatores de risco para a ocorrência da infecção (presença de roedores em casa ou no trabalho, destino do lixo, uso de equipamento de proteção, acúmulo de lixo próximo a casa). Foram colhidas amostras de aproximadamente 10 mL de sangue, com seringa e agulha descartáveis. Os tubos identificados posteriormente foram centrifugadas a 500 rpm por 10 minutos e as

alíquotas de soro em tubos tipo *ependorfs* foram armazenadas a  $-20^{\circ}\text{C}$  na Central de Laboratórios de Garanhuns da Unidade Acadêmica de Garanhuns - CENLAG, até a realização da sorologia.

O método utilizado para a detecção de anticorpos IgG contra a proteína N do hantavírus *Araraquara* foi o ELISA *in house*, conforme protocolo descrito por Figueiredo et al. [15] e adaptado por Santos Júnior. [12] Esse ensaio foi realizado utilizando-se uma proteína recombinante do hantavírus brasileiro *Araraquara*. [16] As amostras foram testadas em duplicata, e as amostras positivas foram repetidas, sendo que após a confirmação do resultado foram então tituladas. Foram consideradas positivas as amostras que apresentaram título  $\geq 200$ . [17] Utilizou-se como controle positivo uma alíquota de soro de um paciente sabidamente reagente para IgG, e como controle negativo, alíquota de soro de um indivíduo sabidamente negativo.

Realizou-se a análise estatística descritiva para cálculos das frequências relativa e absoluta dos resultados obtidos no teste sorológico. Para identificar a associação entre as variáveis epidemiológicas e exame sorológico para os participantes da zona urbana, aplicou-se análise univariada das variáveis de interesse pelo teste Exato de Fisher, utilizando o programa Epi Info, versão 3.5.1 - *Centers for Disease Control and Prevention (CDC)*.

## **Resultados**

A prevalência de anticorpos anti-*Hantavirus* foi de 1,9% (3/156; I.C. 0,4% -5,5%). Após a realização da titulação, observou-se duas amostras reagentes com títulos de 200 (66,7%) e uma de 400 (33,3%).

Em relação ao local de trabalho, dois (66,7%) deles trabalhavam na empresa terceirizada de limpeza urbana (capinação e oficina da empresa), e um (33,3%) na associação de coleta de material para a reciclagem; 66,7% (2/3) trabalham em áreas de esgoto a céu aberto.

A análise de associação entre as variáveis epidemiológicas estudadas e a sorologia para pesquisa de anticorpos anti-*Hantavirus* encontra-se disposta na tabela 1. Não foi possível realizar estudo de associação para os participantes da zona rural, pois 100,0% não reagiram no teste sorológico.

Tabela 1 – Distribuição das frequências relativa e absoluta, segundo o resultado e as variáveis do questionário aplicado aos trabalhadores da zona urbana, do município de Garanhuns, Pernambuco.

Variáveis	ELISA				Total		Valor de p
	Reagente		Não reagente		F.A.	F.R. (%)	
	F.A.	F.R. (%)	F.A.	F.R. (%)			
<b>Sexo</b>							
Masculino	3	3,7	78	96,3	81	100,0	0,777
Feminino	-	-	7	100,0	7	100,0	
<b>Idade (anos)</b>							
Entre 18 e 40	2	37,7	51	96,3	53	100,0	0,009*
Entre 41 e 60	-	-	32	100,0	32	100,0	
Acima de 60	1	33,3	2	66,7	3	100,0	
<b>Já trabalhou na limpeza de lugares como valas, galerias e esgotos<sup>a</sup></b>							
Sim	3	7,9	35	92,1	38	100,0	0,082
Não	-	-	48	100,0	48	100,0	
<b>Já observou a presença de roedores nos locais de coleta/varrição<sup>b</sup></b>							
Sim	2	3,0	64	97,0	66	100,0	0,568
Não	1	4,8	20	95,2	21	100,0	
<b>Já foi mordido por roedores</b>							
Sim	-	-	11	100,0	11	100,0	0,666
Não	3	3,9	74	96,1	77	100,0	
<b>Existe depósito ou acúmulo de lixo próximo à sua residência</b>							
Sim	1	4,0	24	96,0	25	100,0	0,638
Não	2	3,2	61	96,8	63	100,0	

<sup>a</sup>Base utilizada = 86; <sup>b</sup>Base utilizada = 87 \*Associação significativa

## Discussão

A prevalência encontrada neste estudo é semelhante a outras pesquisas descritas na literatura, como a sorologia realizada em 2006 no município de Uberlândia (MG), onde foi detectado uma prevalência de 3% (12/400). [18] No estado de Alagoas inquérito sorológico epidemiológico realizado no ano de 2012 demonstrou que 4,0% (4/250) dos trabalhadores rurais

do município de Coruripe possuíam anticorpos anti-*Hantavirus*. [12] Outro inquérito realizado em quatro cidades do Estado do Amazonas, no período de 2007 a 2009, demonstrou uma positividade de 0,6% (10/1.731) [19] e em Ilhéus (BA), em doadores de sangue, no período de Julho de 2008 a Dezembro de 2009, constatou uma prevalência de 0,6% (3/500). [20] Entretanto, difere da pesquisa realizada em Marcelândia (MT), que detectou uma prevalência de 13% (7/54) [21], onde casos da síndrome cardiopulmonar por hantavírus são comumente registrados.

No estado de Pernambuco, uma pesquisa realizada em pacientes suspeitos de leptospirose do Hospital Oswaldo Cruz e da Universidade Federal de Pernambuco, em Recife, determinou uma prevalência de 9,6% (15/156) de anticorpos anti-*Hantavirus*, destacando-se que dois desses pacientes apresentaram anticorpos IgM, o que caracterizou casos como agudos. [22]

A diferença deste estudo com os outros realizados no Brasil pode estar relacionada ao plano amostral utilizado nos diferentes estudos; [18, 19] condições ecológicas nos diferentes estados, onde já é comprovada a circulação viral; grupo populacional estudado; métodos de diagnóstico, e diferentes pontos de corte adotados pelos autores. [18, 19, 21]

A presença de reservatórios é necessária para que ocorra a transmissão do agente para humanos. Neste sentido, Leduc et al. [23] detectaram anticorpos anti-*Hantavirus* em 6% (2/36) de roedores sinantrópicos (*Rattus rattus* e *R. norvegicus*) capturados nas cidades de Recife-Olinda, no Estado de Pernambuco. Em outro estudo realizado também em Pernambuco, não foi detectada a presença de anticorpos em 218 roedores capturados do município de Triunfo. [24] De acordo com Raboni et al. [25] a presença de roedores sorologicamente positivos, por si só não é um indicativo suficiente para indicar uma determinada área como risco, porém outros fatores como sazonalidade, densidade populacional dos roedores e hábitos do comportamento humano devem ser incluídos nas análises de risco. A hantavirose possui vários aspectos que merecem ser melhor elucidados e a investigação de fatores ecológicos e ambientais é necessária para um melhor entendimento sobre o comportamento da doença. [26]

Em relação à titulação observou-se que 100,0% dos reagentes apresentaram títulos baixos (200 e 400). Em indivíduos clinicamente saudáveis, Frey et al. [27] descrevem que a infecção clinicamente inaparente varia em diferentes áreas e populações das Américas, por duas hipóteses propostas, a primeira que as estirpes na América do Sul são de menor patogenicidade, e a segunda de que ocorra a existência de ao menos dois fatores, a natureza da exposição e a construção genética da população hospedeira.

Não foi observada associação significativa entre a sorologia para hantavírus e a variável sexo. Todos os indivíduos sororreagentes (100,0%) dessa pesquisa eram do sexo masculino. Esses achados são semelhantes aos relatados em outras pesquisas [18, 20, 21] e podem estar relacionados ao risco ocupacional, já que geralmente homens desempenham atividades como armazenamento de alimentos (grãos) e limpeza de galpões, limpeza de terrenos, coleta de lixo, capinação tanto em áreas urbanas quanto em áreas rurais. [21]

Em relação à faixa etária, observou-se associação significativa nesta pesquisa. Dados semelhantes foram descritos por Moreli et al. [20], onde os indivíduos sororreagentes apresentaram idades entre 26 e 37 anos. Gimaque et al. [19], contudo, não relataram diferença significativa entre faixas etárias distintas dos participantes do estudo. Estudo realizado na Colômbia indicou uma prevalência maior nos grupos etários mais jovens. [28] A maior ocorrência de anticorpos em pessoas com a faixa etária entre 18 a 40 anos pode estar relacionada às atividades desenvolvidas por esse grupo, uma vez que estão inseridos na população economicamente ativa.

Observou-se que 100% dos reagentes foram procedentes da zona urbana, fato este provavelmente relacionado à exposição destes trabalhadores ao lixo durante suas atividades, varrição ou capinação em áreas abertas. Na área rural estudada, observou-se que os trabalhadores não exerciam atividades relacionadas às atividades de risco para infecção, como a varredura a seco em galpões de armazenamento de ração, ou paiós e ainda em casas abandonadas próximo a

mata silvestre, plantio e colheita em locais infestados por roedores. [29, 30] Para Badra et al. [17] é difícil separar exposições urbanas e rurais, porque muitos habitantes urbanos possuem pequenas propriedades rurais próximas à cidade onde eles mantêm atividades agrícolas, aumentando a possibilidade de contato com roedores ou suas excreções. Além disso, até mesmo as pessoas que vivem e trabalham em áreas urbanas podem ter acesso a fazendas para fins de recreação, tais como pesca durante a semana.

No Brasil, a infecção por hantavírus está predominantemente relacionada à atividade agrícola, especialmente nas pequenas cidades, ocorre pelo hábito da limpeza de galpões de armazenamento de grãos rurais. Outras formas relacionadas à transmissão da infecção, ocorrem pelo contato direto com roedores infectados ou atividades de lazer, como a pesca, a caça ou camping. [4]

De acordo com Peters e Khan [31], a ocorrência da hantavirose depende do estreito contato com roedores, como em áreas periurbanas onde ocorre aglomeração populacional e baixas condições higiênico-sanitárias; nesses locais, os domicílios, geralmente encontram-se infestados de roedores, compartilhando ambiente e alimento com seres humanos.

Entretanto, apesar da baixa prevalência determinada neste estudo sugere-se que a vigilância epidemiológica fique atenta aos novos casos de SPCH na região do estudo, capacitando os profissionais da saúde para um diagnóstico preciso e confiável. De acordo com Figueiredo et al. [32] para o controle da hantavirose é necessário divulgar informações sobre esta doença aos diversos segmentos da sociedade, principalmente aos profissionais de saúde (médicos, médicos veterinários, biólogos, biomédicos, técnicos de laboratórios), lideranças políticas e líderes das comunidades, enfatizando que é uma doença de notificação compulsória.

No município de Garanhuns ainda não foram realizados estudos sobre a ocorrência de anticorpos anti-hantavirus em roedores. Além da sorologia, estudos edafo-climáticos com isolamento viral são necessários para identificar as variáveis ecológicas e as variantes virais que



circulam na região, o que contribuirá para o entendimento da cadeia epidemiológica da hantavirose na região.

### **Conclusão**

Este foi o primeiro estudo realizado no município de Garanhuns a relatar a presença de IgG anti-hantavirus em amostras séricas humanas, o que alerta para uma necessidade de atenção especial pelas autoridades em Vigilância Epidemiológica para investigação da ocorrência dessa enfermidade na região.

### **Considerações éticas**

O presente estudo foi submetido e aprovado pelo Comitê de ética da Plataforma Brasil, com o número de protocolo CAAE 03798812.3.0000.5207.

### **Agradecimento**

A Fundação de Amparo à Ciência e Tecnologia do Estado de Pernambuco – FACEPE pela concessão da bolsa.

### **Referências**

1. Brasil 2010 (2010), Guia de vigilância epidemiológica. Brasília: Ministério da saúde; 2010.
2. Rasmuson J, Andersson C, Norrman E, Haney M, Evander M, et al (2011), Time to revise the paradigm of hantavirus syndromes? Hantavirus pulmonary syndrome caused by European hantavírus. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 30:685-690.
3. Clement J, Maes P, Lagrou K, Vanranst M, Lameire N (2012), A unifying hypothesis and a single name for a complex globally emerging infection: hantavirus disease. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 31:1-5.
4. Brasil (2004), Ministério da Saúde. Secretaria de vigilância em Saúde. Boletim Eletrônico Epidemiológico: Aspectos Epidemiológicos da Infecção e da Patogenicidade por

Hantavírus.. Available at:  
[http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/ano05\\_n03\\_asp\\_epid\\_patog\\_hanta\\_br.pdf](http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/ano05_n03_asp_epid_patog_hanta_br.pdf).

Accessed 24 June 2013

5. ICTV (2013), International Committee on Taxonomy of viruses. Available at:  
<http://ictvonline.org/virusTaxonomy.asp>. Accessed 05 July 2013.

6. Ferreira MS (2003), Hantavírose. Rev Soc Bras Med Trop 36:81-96.

7. CDC. Center for Disease Control e Prevention (2013), Available at:  
<http://www.cdc.gov/hantavirus/surveillance/index.html>. Accessed 01 September 2013.

8. Klempa B, Tkachenko EA, Dzagurova TK, Yunicheva YV, Morozov VG, et al (2008), Hemorrhagic fever with Renal Syndrome caused by 2 lineages of Dobrava hantavirus, Russia. Emerg Infect Dis 14:617-625.

9. Brasil (2013), Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Situação epidemiológica: Casos confirmados de Hantavírose. Brasil, Grandes Regiões e Unidades Federadas. Available at:

[http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/casos\\_confirmados\\_hantavirose.pdf](http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/casos_confirmados_hantavirose.pdf) Accessed 24 June 2013.

10. Brasil (2013), Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Situação epidemiológica: Óbitos de Hantavírose. Brasil, Grandes Regiões e Unidades Federadas. Available at: [http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/obitos\\_confirmados\\_hantavirose.pdf](http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/obitos_confirmados_hantavirose.pdf).

Accessed 24 June 2013.

11. IBGE (2010), Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Censo 2010. Available at:  
<http://www.ibge.gov.br/cidadesat/topwindow.htm>. Accessed 15 August 2013.

12. Santos-Júnior JA (2012), [Pesquisa de anticorpos anti-hantavirus na população do estado de Alagoas. Maceió (AL)]: Instituto de Ciências Biológicas e da Saúde/Universidade Federal de Alagoas.(dissertem)

13. Thrusfield M (2004), *Epidemiologia Veterinária*. São Paulo: 2th ed.: Roca. p.
14. Brasil (1996), Conselho Nacional da Saúde, Resolução nº 196, de 10 de outubro de 1996. Available at: [http://conselho.saude.gov.br/resolucoes/reso\\_96.htm](http://conselho.saude.gov.br/resolucoes/reso_96.htm). Accessed 01 September 2013.
15. Figueiredo LTM, Moreli ML, Borges AA, Figueiredo GG, Badra SJ, et al (2009), Evaluation of an Enzyme-Linked Immunosorbent Assay Based on Araraquara Virus Recombinant Nucleocapsid Protein. *Am J Trop Med Hyg* 81:273-276.
16. Figueiredo LTM, Moreli ML, Borges AA, Figueiredo GG, Souza RLM, et al (2008), Expression of a hantavirus N protein and its efficacy as antigen in immune assays. *Braz J Med Biol Res* 41:596-599.
17. Badra SJ, Maia FGM, Figueiredo GG, Santos Junior GS, Campos GM, et al. (2012) A retrospective serologic survey of hantavírus in the county of Cássia dos Coqueiros, State of São Paulo, Brazil. *Rev Soc Bras Med Trop* 45:468-470.
18. Limongi JE, Costa FC, Pinto RMC, Oliveira RC Bragagnolo C, et al (2009), Cross-sectional survey of hantavirus infection, Brazil. *Emerg Infect Dis* 15:1981-1983.
19. Gimaque JBL, Bastos MS, Braga WSM, Oliveira CMC, Castilho MC, et al (2012), Serological evidence of hantavirus infection in rural and urban regions in the state of Amazonas, Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 107:135-137.
20. Moreli ML, Costa VG, Pariz FR (2012), A seroepidemiological survey of hantavírus in Ilheus county. *Am J Virol* 1:18-23.
21. Santos IO, Figueiredo GG, Figueiredo LTM, Azevedo MRA, Novo NF, et al. (2013), Serologic survey of hantavirus in a rural population from the northern state of Mato Grosso, Brazil. *Rev Soc Bras Med Trop* 46: 30-33.

22. Hindrichsen S, Medeiros de Andrade A, Clement J, Leirs H, Kenna Mc P, et al. (1993), Hantavirus infection in brazilian patients from Recife with suspected leptospirosis. *Lancet* 341:50.
23. Leduc JW, Smith GA, Pinheiro FP, Vasconcelos PFC, Rosa EST, et al. (1985), 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.
24. Sobreira M, Souza GT, Moreli ML, Borges AA, Morais FA, et al. (2008), A serosurvey for hantavírus infection in wild rodents from the states of Rio de Janeiro and Pernambuco, Brazil. *Acta Trop* 107:150-152.
25. Raboni SM, Delfraro A, Borba L, Teixeira BR, Stella V, et al. (2012), Hantavirus Infection Prevalence in Wild Rodents and Human Anti-Hantavirus Serological. *Am J Trop Med Hyg* 87:371-378.
26. Santos ED, Garrest DO (2005), Avaliação do sistema de vigilância de hantavírus no Brasil. *Epidemiol Serv Saúde* 4:15-31.
27. Frey MT, Vial PC, Castillo CH, Godoy PM, Hjelle B, et al. (2003), Hantavirus prevalence in the IX region of Chile. *Emerg Infect Dis* 9:827-832.
28. Máttar S, Parra M (2004), Serologic Evidence of Hantavirus Infection in Humans, Colombia. *Emerg Infect Dis* 10:2263-2264.
29. Escutenaire S, Pastoret PP (2000), Hantavirus Infections. *Rev Sci Tech* 19:64-78.
30. Nunes ML, Maia-Elkhoury ANS, Pelissari DM, Elkhoury MR (2011), Caracterização clínica e epidemiológica dos casos confirmados de hantavirose com local provável de infecção no bioma Cerrado Brasileiro, 1996 a 2008. *Epidemiol Serv Saude* 20:537-545.
31. Peters CJ, Khan AS (2002), Hantavirus Pulmonary Syndrome: The New American Hemorrhagic Fever. *Clin Infect Dis* 34:1224–1231.

32. Figueiredo LTM, Forster AC, Fulharst C, Rodrigues EMS, Koster F, et al. (2000),  
Contribuição ao conhecimento sobre a hantavirose no Brasil. *Inf Epidemiol SUS* 9:167-178.

## 6 CONCLUSÃO

Este foi o primeiro estudo realizado no município de Garanhuns a relatar a presença de IgG anti-*Hantavirus* em amostras séricas humanas e relatar a presença de anticorpos anti-*Leptospira* spp. em trabalhadores urbanos e rurais do município. Estes achados alertam para a atenção e realização de pesquisas em áreas em que há uma baixa prevalência e até mesmo para áreas silenciosas, pois desta forma medidas de controle e prevenção poderão ser implementadas com o intuito de garantir a saúde da população exposta.

Diante os resultados obtidos sugerem-se capacitações pelos órgãos de saúde aos profissionais de saúde e aos grupos ocupacionais sobre a cadeia epidemiológica da hantavirose e leptospirose.

**APÊNDICE 1**  
**Termo de consentimento livre e esclarecido**  
**COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA UNIVERSIDADE DE**  
**PERNAMBUCO/PROPEGE/UPE**  
**TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO**  
 Resolução nº 196/96 – Conselho Nacional de Saúde

Sr.(a) foi selecionado e está sendo convidado para participar da pesquisa **intitulada**: “Soroprevalência e fatores de risco associados a infecção por *Hantavírus* e *Leptospira* spp. em garis e trabalhadores rurais do município de Garanhuns no Estado de Pernambuco”, que tem como **objetivo**: realizar um estudo soro-epidemiológico da infecção por *Hantavírus* e *Leptospira* spp. em garis e em trabalhadores rurais que residam no município de Garanhuns, do Estado de Pernambuco. Este é um estudo baseado em uma abordagem pessoal, utilizando como método a coleta de amostra de sangue e aplicação de um questionário. A pesquisa terá duração de dois anos, mas esta etapa será realizada em um único momento, uma única coleta e somente um questionário.

Suas respostas serão tratadas de forma **anônima** e **confidencial**, isto é, em nenhum momento será divulgado o seu nome em qualquer fase do estudo. Os **dados coletados** serão utilizados apenas **NESTA** pesquisa e os resultados divulgados em eventos e/ou revistas científicas.

Sua participação é **voluntária**, isto é, a qualquer momento você pode **recusar-se** a responder qualquer pergunta ou desistir de participar e **retirar seu consentimento**. Sua recusa não trará nenhum prejuízo em sua relação com o pesquisador ou com a instituição que forneceu os seus dados, como também na que trabalha.

Sua **participação** nesta pesquisa consistirá em responder as perguntas a serem realizadas sob a forma de questões de múltipla escolha, sob a forma de entrevistas e permitir a coleta de sangue através da venopunção.

Sr. (a) não terá nenhum **custo ou quaisquer compensações financeiras**. A coleta de sangue por se tratar de um procedimento invasivo, mesmo sendo realizada por pessoal técnico preparado e material específico e esterilizado, apresenta **riscos** mínimos como infecção, hematomas e pequenos sangramentos. Como **benefícios**, depois de esclarecido se há infecção por *Hantavírus* e/ou por *Leptospira* spp., é possível a implementação de medidas de educação em saúde que possam contribuir com a população, em especial os garis e trabalhadores rurais que devido as suas atividades e ao ambiente onde desempenham as mesmas, estão mais susceptíveis a ocorrência de enfermidades como estas pesquisadas e tantas outras que quando é possível caracterizá-las epidemiologicamente, pode-se identificar os principais fatores de risco para a ocorrência e educar a população para sua prevenção.

Sr.(a) receberá uma cópia deste termo onde consta o número do telefone do pesquisador responsável, e demais membros da equipe, podendo tirar as suas dúvidas sobre o projeto e sua participação, agora ou a qualquer momento.

Esta pesquisa foi submetida ao Comitê de Ética em Pesquisa Universidade de Pernambuco/PROPEGE, fone (81)3183-3782, por meio da Plataforma Brasil, do Ministério da Saúde e aprovada sob o protocolo nº. **CAAE**: 03798812.3.0000.5207 e parecer substanciado do CEP nº 79157.

Desde já agradecemos!

Contato: (87) 3761-0882 r. 254

Contato: (87) 3761 0882 r. 254

Garanhuns, \_\_ de \_\_\_\_\_ de 2012.

Declaro estar ciente do inteiro teor deste TERMO DE CONSENTIMENTO e estou de acordo em participar do estudo proposto, sabendo que dele poderei desistir a qualquer momento, sem sofrer qualquer punição ou constrangimento.

Participante da Pesquisa: \_\_\_\_\_

(assinatura)



## APÊNDICE 2

### Questionário para investigação dos fatores de risco da hantavirose e leptospirose (GARIS) em Garanhuns – PE

#### Identificação do trabalhador

Nome: \_\_\_\_\_ Amostra n°:

Idade: \_\_\_\_ Sexo: M ( ) F ( ) Fone: (\_\_\_\_) \_\_\_\_\_

Endereço: \_\_\_\_\_, n° \_\_\_\_\_

Município: \_\_\_\_\_ Bairro: \_\_\_\_\_ Zona: ( ) urbana ( ) rural

Ocupação: a) coleta de lixo: ( ) b) varrição: ( ) c) capinação: ( ).

Há quanto tempo? ( ) até 1 ano ( ) de 1 a 2 anos ( ) de 2 a 5 anos ( ) mais de 5 anos

#### Investigação epidemiológica

1. Qual a frequência da coleta de lixo? ( ) Diária ( ) 1x ao dia ( ) 2x ao dia ( )  
Outros: \_\_\_\_\_
2. Qual o horário de trabalho? ( ) Matutino ( ) Vespertino ( ) Noturno
3. Qual o local de trabalho? ( ) Centro ( ) 1 Bairro: \_\_\_\_\_ ( ) Mais de 1  
bairro: \_\_\_\_\_ ( ) Cidade toda
4. Já esteve em terrenos baldios para realizar coleta? Sim ( ) Não ( )
5. Tem contato com animais (cães/gatos) durante coleta? ( ) Cães ( ) Gatos ( ) Não
6. Coleta/varrição em áreas com esgoto corre a céu aberto? ( ) Sim ( ) Não
7. Já trabalhou na limpeza de lugares como valas, galerias, esgotos? ( ) Sim ( ) Não
8. Já observou a presença de roedores nos locais de coleta/varrição? ( ) Sim ( ) Não
9. Já foi mordido por roedores? ( ) Sim ( ) Não
10. Utiliza alguma proteção no trabalho? ( ) Sim ( ) Não  
Em caso positivo, qual (is)? ( ) Bota ( ) Luva ( ) Macacão ( ) Gorro ( ) Óculos
11. Participou de treinamento para o trabalho? ( ) Sim ( ) Não
12. Qual o destino final do lixo coletado? ( ) Lixão ( ) Aterro
  - a) Acompanha o caminhão da coleta até o destino final? ( ) Sim ( ) Não
  - b) Se sim, observou roedores no aterro? ( ) Sim ( ) Não
13. Existe depósito ou acúmulo de lixo próximo à sua residência? ( ) Sim ( ) Não
14. Qual a fonte de fornecimento de água na sua residência? ( ) COMPESA ( ) Poço

- Caso seja proveniente de poço, realiza tratamento? ( ) Sim ( ) Não
15. A sua casa alaga quando chove? ( ) Sim ( ) Não
16. O banheiro da moradia é: ( ) Interno ( ) Externo
17. Conhece alguma doença transmitida por roedores? Sim ( ) Não ( )  
Qual? \_\_\_\_\_

### APÊNDICE 3

#### Questionário para investigação dos fatores de risco da hantavirose e leptospirose (TRABALHADORES RURAIS) em Garanhuns - PE

##### Identificação do trabalhador

Nome: \_\_\_\_\_ Amostra n°:

Idade: \_\_\_\_\_ Sexo: M ( ) F ( ) Fone: (\_\_\_\_) \_\_\_\_\_

Endereço: \_\_\_\_\_, n° \_\_\_\_\_

Município: \_\_\_\_\_ PSF: \_\_\_\_\_

Ocupação: a) Tratador de animais: ( ) b) Plantio e colheita: ( ) c) Vaqueiro: ( )

Há quanto tempo exerce essa atividade? ( ) até 1 ano ( ) 1 a 2 anos ( ) 2 a 5 anos ( ) mais de 5 anos

##### Investigação epidemiológica

1. Qual o destino do lixo na propriedade?
  - ( ) Coleta ( ) Enterra ( ) Queima ( ) valas ( ) Acúmulo e queima ( )
  - Outro: \_\_\_\_\_
  - Com que frequência? ( ) 1x por semana ( ) > que 1x por semana ( ) > 30 dias
2. Existe acúmulo de lixo próximo à sua casa? ( ) Sim ( ) Não
3. A água de sua casa é proveniente de: ( ) COMPESA ( ) Poço ( ) Cacimba ( ) Açude
4. Recebe tratamento? ( ) Sim ( ) Não Qual? ( ) Cloro ( ) Outros ( ) 1x por semana ( ) 1x por mês
5. Existe depósito de armazenamento de alimentos/grãos? ( ) Sim ( ) Não – Caso não ir para pergunta 9.
6. Já observou a presença de roedores nos depósitos? ( ) Sim ( ) Não
7. Nos depósitos já observou a presença de excreta de roedores (fezes)? Sim ( ) Não ( )
  - Teve contato? ( ) Sim ( ) Não
8. Realiza a limpeza dos depósitos? ( ) Sim ( ) Não Como? ( ) Varrição a seco ( ) Água e sabão ( ) Água, sabão e desinfetante
  - 8.1 Utiliza máscaras durante a limpeza? ( ) Sim ( ) Não e botas? ( ) Sim ( ) Não
9. Já trabalhou em lugares de armazenamento de alimentos? ( ) Sim ( ) Não
  - 9.1. Existia roedores nesse ambiente? ( ) Sim ( ) Não
10. Próximo á sua casa já observou roedores? ( ) Sim ( ) Não
11. Já foi mordido por roedores? ( ) Sim ( ) Não

12. Cria animais na propriedade? ( ) Sim ( ) Não

( ) Suínos ( ) Bovinos ( ) Ovinos ( ) Caprinos ( ) Cães/ gatos  
Qt. \_\_\_\_\_

13. Já teve contato com água parada na propriedade? ( ) Sim ( ) Não

14. O banheiro da moradia é: ( ) Interno ( ) Externo

Conhece alguma doença transmitida por roedores? ( ) Sim ( ) Não

Qual? \_\_\_\_\_

## ANEXO 1

### Normas do Periódico PLOS Neglected Tropical Diseases

#### Preparation of Research Articles

*PLOS Neglected Tropical Diseases* publishes original research articles of importance to the NTDs community and the wider health community. We will consider manuscripts of any length; we encourage the submission of both substantial full-length bodies of work and shorter manuscripts that report novel findings that might be based on a more limited range of experiments.

The writing style should be concise and accessible, avoiding jargon so that the paper is understandable for readers outside a specialty or those whose first language is not English. Editors will make suggestions for how to achieve this, as well as suggestions for cuts or additions that could be made to the article to strengthen the argument. Our aim is to make the editorial process rigorous and consistent, but not intrusive or overbearing. Authors are encouraged to use their own voice and to decide how best to present their ideas, results, and conclusions. Although we encourage submissions from around the globe, we require that manuscripts be submitted in English. Authors who do not use English as a first language may contact us for additional information. As a step towards overcoming language barriers on acceptance of the paper, we encourage authors fluent in other languages to provide copies of their full articles or abstracts in other languages. We will publish these translations as supporting information and list them, together with other supporting information files, at the end of the article text.

#### Cover Letter

Please include a cover letter explaining why this manuscript is suitable for publication in *PLOS Neglected Tropical Diseases*. Why will your research paper inspire the NTDs community, and how will it drive the understanding of NTD pathobiology, epidemiology, prevention, treatment, control, or policy?

If your study addresses an infection that is outside our detailed scope, you must first send a pre-submission inquiry indicating why you consider the infection to be a neglected tropical disease.

#### Electronic Formats

Our submission system supports a limited range of formats for text and graphics. The following file formats/types and manuscript information are required before submission. If you are concerned about the suitability of your files, please contact us at [plosntds \[at\] plos.org](mailto:plosntds@plos.org).

#### Manuscript and Table Files

Articles can be submitted for review in DOC, DOCX, RTF, or PDF. Any articles that have been prepared in LaTeX will be accepted for review, but only in PDF format. After acceptance, only text files (RTF or DOC) of the revised manuscript and tables can be accepted for use in the production process.

#### Math Equations and DOCX

If your manuscript is or will be in DOCX and contains equations, you must follow the instructions below to make sure that your equations are editable when the file enters production.

If you have not yet composed your article, you can ensure that the equations in your DOCX file remain editable in DOC by enabling “Compatibility Mode” before you begin. To do this, open a new document and save as Word 97-2003 (\*.doc). Several features of Word 2007/10 will now be inactive, including the built-in equation editing tool. You can insert equations in one of the two ways listed below.

If you have already composed your article as DOCX and used its built-in equation editing tool, your equations will become images when the file is saved down to DOC. To resolve this problem, re-key your equations in one of the two following ways.

1. Use MathType to create the equation. MathType is the recommended method for creating equations.
2. Go to Insert > Object > Microsoft Equation 3.0 and create the equation.

If, when saving your final document, you see a message saying “Equations will be converted to images,” your equations are no longer editable and PLOS will not be able to accept your file.

## **LaTeX**

Articles prepared in LaTeX may be submitted in PDF format for use during the review process. After acceptance, however, .tex files and formatting information will be required as a zipped file. Please consult our LaTeX Guidelines for a list of what will be required.

## **Tables**

Tables must conform to our Guidelines for Figure and Table Preparation and placed at the end of the article DOC or RTF file. Accepted LaTeX submissions only should have table files—which must also conform to these guidelines—uploaded individually into the online submission system.

## **Figure Files**

Graphics files can only be submitted in EPS or TIF format. For the article to be accepted for publication, the author will need to supply high-resolution versions of the figures. When preparing your figures, please ensure that the files conform to our Guidelines for Table and Figure Preparation.

If you are uploading your files in EPS format, please use the "create outlines" option under the type menu in Illustrator so that all text and fonts appear as intended in print. If you need additional help with figure preparation, please contact **figures [at] plos.org**.

Authors are encouraged to provide a striking image to accompany their article, if one is available. This image may be chosen to highlight the article on our journal Web site.

PLOS does not accept vector EPS figures generated using LaTeX. We only accept LaTeX generated figures in TIFF format. Export your LaTeX files as PDFs, and then open them in GIMP or Photoshop and save as TIFF. In general, Figures must be generated in a standalone

graphics application such as Adobe Illustrator, InkScape, PyMol, MatLab, SAS, etc. Please see our Figure Guidelines for more information.

PLOS applies the Creative Commons Attribution (CC BY) license to all figures we publish, which allows them to be freely used, distributed, and built upon as long as proper attribution is given. Please do not submit any figures that have been previously copyrighted unless you have express written permission from the copyright holder to publish under the CC BY license.

### **Financial Disclosure**

This section should describe sources of funding that have supported the work. Please include relevant grant numbers and the URL of any funder's Web site. Please also include this sentence: "The funders had no role in study design, data collection and analysis, decision to publish, or preparation of the manuscript." If this statement is not correct, you must describe the role of any sponsors or funders, and amend the aforementioned sentence as needed.

### **Competing Interests**

The submitting author is asked at submission to declare, on behalf of all authors, whether there are any financial, personal, or professional interests that could be construed to have influenced the paper. The information entered here will appear in the published version, so please do not include the same in the manuscript file.

Reviewers are also asked to declare any interests that might interfere with their objective assessment of a manuscript. Any relevant competing interests of authors must be available to editors and reviewers during the review process and will be stated in published articles. Read more about PLOS's Competing Interests Policy.

### **Abbreviations**

Please keep abbreviations to a minimum and define them upon first use in the text. Non-standard abbreviations should not be used unless they appear at least three times in the text.

### **Nomenclature**

The use of standardized nomenclature in all fields of science and medicine is an essential step toward the integration and linking of scientific information reported in published literature. We will enforce the use of correct and established nomenclature wherever possible:

- We strongly encourage the use of SI units. If you do not use these exclusively, please provide the SI value in parentheses after each value.
- Species names should be italicized (e.g., *Homo sapiens*) and the full genus and species must be written out in full, both in the title of the manuscript and at the first mention of an organism in a paper; after that, the first letter of the genus name, followed by the full species name may be used.
- Genes, mutations, genotypes, and alleles should be indicated in italics. Use the recommended name by consulting the appropriate genetic nomenclature database, e.g., HUGO for human genes. It is sometimes advisable to indicate the synonyms for the gene the first time it appears in the text. Gene prefixes such as those used for oncogenes or cellular localization should be shown in roman: v-fes, c-MYC, etc.

- The Recommended International Non-Proprietary Name (rINN) of drugs should be provided.

### Accession Numbers

All appropriate datasets, images, and information should be deposited in public resources. Please provide the relevant accession numbers (and version numbers, if appropriate). Accession numbers should be provided in parentheses after the entity on first use. Suggested databases include, but are not limited to:

- ArrayExpress
- BioModels Database
- Database of Interacting Proteins
- DNA Data Bank of Japan [DDBJ]
- DRYAD
- EMBL Nucleotide Sequence Database
- GenBank
- Gene Expression Omnibus [GEO]
- Protein Data Bank
- UniProtKB/Swiss-Prot
- ClinicalTrials.gov

In addition, as much as possible, please provide accession numbers or identifiers for all entities such as genes, proteins, mutants, diseases, etc., for which there is an entry in a public database, for example:

- Ensembl
- Entrez Gene
- FlyBase
- InterPro
- Mouse Genome Database (MGD)
- Online Mendelian Inheritance in Man (OMIM)
- PubChem

Providing accession numbers allows linking to and from established databases and integrates your article with a broader collection of scientific information.

### Organization of the Manuscript

Most articles published in *PLOS Neglected Tropical Diseases* are organized into the following sections: Title, Authors and Affiliations, Abstract, Author Summary, Introduction, Methods, Results, Discussion, Acknowledgments, References, Figure Legends, and Tables. Uniformity in format facilitates the experience of readers and users of the journal. To provide flexibility, however, the Results and Discussion can be combined into one Results/Discussion section. All manuscripts must contain line numbers. Although we have no firm length restrictions for the entire manuscript, we urge authors to present and discuss their findings concisely.

### Title (150 characters)



The title should be specific to the study yet concise, and should allow sensitive and specific electronic retrieval of the article. It should be comprehensible to readers outside your field. Avoid specialist abbreviations if possible. Titles should be presented in title case, meaning that all words except for prepositions, articles, and conjunctions should be capitalized. If the paper is a randomized controlled trial or a meta-analysis, this description should be in the title.

Examples:

- Climate Change and Spread of Lymphatic Filariasis in Sub-Saharan Africa
- A Cluster-Randomized Controlled Trial of a Nurse-Led Deworming Program for Soil-Transmitted Helminths

Please also provide a brief Short Title of no more than 50 characters (including spaces).

### **Authors and Affiliations**

Provide the first names or initials (if used), middle names or initials (if used), surnames, and affiliations—department, university or organization, city, state/province (if applicable), and country—for all authors. One of the authors should be designated as the corresponding author. It is the corresponding author's responsibility to ensure that the author list, and the summary of the author contributions to the study are accurate and complete. If the article has been submitted on behalf of a consortium, all consortium members and affiliations should be listed after the Acknowledgments.

(For authorship criteria, see Supporting Information and Materials Required at Submission)

### **Abstract**

The abstract succinctly introduces the paper. We advise that it should not exceed 250 – 300 words. It should mention the techniques used without going into methodological detail and summarize the most important results with important numerical results given. The abstract is conceptually divided into the following three sections with these headings: Background, Methodology/Principal Findings, and Conclusions/Significance. Please do not include any citations in the abstract. Avoid specialist abbreviations.

### **Author Summary**

We ask that all authors of research articles include a 150- to 200-word non-technical summary of the work, immediately following the Abstract. Subject to editorial review and author revision, this short text is published with all research articles as a highlighted text box.

Distinct from the scientific abstract, the author summary should highlight where the work fits in a broader context of life science knowledge and why these findings are important to an audience that includes both scientists and non-scientists. Ideally aimed to a level of understanding of an undergraduate student, the significance of the work should be presented simply, objectively, and without exaggeration.

Authors should avoid the use of acronyms and complex scientific terms and write the author summary using the first-person voice. Authors may benefit from consulting with a science writer or press officer to ensure that they effectively communicate their findings to a general audience.

Examples are available at:

Pseudogenization of a Sweet-Receptor Gene Accounts for Cats' Indifference toward Sugar

A Hybrid Photoreceptor Expressing Both Rod and Cone Genes in a Mouse Model of Enhanced S-Cone Syndrome

Life in Hot Carbon Monoxide: The Complete Genome Sequence of Carboxydothemus hydrogenoformans Z-2901

## **Introduction**

The introduction should discuss the purpose of the study in the broader context. As you compose the introduction, think of readers who are not experts in this field. Include a brief review of the key literature. If there are relevant controversies or disagreements in the field, they should be mentioned so that a non-expert reader can delve into these issues further. The introduction should conclude with a brief statement of the overall aim of the experiments and a comment about whether that aim was achieved.

## **Methods**

This section should provide enough detail for reproduction of the findings. Protocols for new methods should be included, but well-established protocols may simply be referenced. Detailed methodology or supporting information relevant to the methodology can be published on our Web site.

This section should also include a section with descriptions of any statistical methods employed. These should conform to the criteria outlined by the Uniform Requirements, as follows: "Describe statistical methods with enough detail to enable a knowledgeable reader with access to the original data to verify the reported results. When possible, quantify findings and present them with appropriate indicators of measurement error or uncertainty (such as confidence intervals). Avoid relying solely on statistical hypothesis testing, such as the use of P values, which fails to convey important quantitative information. Discuss the eligibility of research participants. Give details about randomization. Describe the methods for and success of any blinding of observations. Report complications of treatment. Give numbers of observations. Report losses to observation (such as dropouts from a clinical trial). References for the design of the study and statistical methods should be to standard works when possible (with pages stated) rather than to papers in which the designs or methods were originally reported. Specify any general-use computer programs used."

## **Results**

The results section should include all relevant positive and negative findings. The section may be divided into subsections, each with a concise subheading. Large datasets, including raw data, should be submitted as supporting files; these are published online alongside the accepted article. The results section should be written in past tense.

As outlined in the Uniform requirements, authors that present statistical data in the Results section, should "...specify the statistical methods used to analyze them. Restrict tables and figures to those needed to explain the argument of the paper and to assess its support. Use graphs

as an alternative to tables with many entries; do not duplicate data in graphs and tables. Avoid nontechnical uses of technical terms in statistics, such as "random" (which implies a randomizing device), "normal," "significant," "correlations," and "sample." Define statistical terms, abbreviations, and most symbols."

## Discussion

The discussion should be concise and tightly argued. It should start with a brief summary of the main findings. It should include paragraphs on the generalisability, clinical relevance, strengths, and, most importantly, the limitations of your study. You may wish to discuss the following points also. How do the conclusions affect the existing knowledge in the field? How can future research build on these observations? What are the key experiments that must be done?

## Acknowledgments

People who contributed to the work, but do not fit the criteria for authors should be listed in the Acknowledgments, along with their contributions. You must also ensure that anyone named in the acknowledgments agrees to being so named.

Details of the funding sources that have supported the work should be confined to the funding statement provided in the online submission system. Do not include them in the acknowledgments.

## References

Only published or accepted manuscripts should be included in the reference list. Papers that have been submitted but not yet accepted should not be cited. Limited citation of unpublished work should be included in the body of the text only as "unpublished data." All "personal communications" citations should be supported by a letter from the relevant authors.

Style information:

- PLOS uses the numbered citation (citation-sequence) method and first five authors, et al.
- References are listed and numbered in the order that they appear in the text.
- In the text, citations should be indicated by the reference number in brackets.
- The parts of the manuscript should be in the correct order *before* ordering the citations: body, boxes, figure captions, tables, and supporting information captions.
- Abstracts and author summaries may not contain citations.
- Journal name abbreviations should be those found in the NCBI databases: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/nlmcatalog/journals>.

Because all references will be linked electronically as much as possible to the papers they cite, proper formatting of the references is crucial. For convenience, a number of reference software companies supply PLOS style files (e.g., Reference Manager, EndNote).

*Published*

*Papers*

1. Hou WR, Hou YL, Wu GF, Song Y, Su XL, et al. (2011) cDNA, genomic sequence cloning and overexpression of ribosomal protein gene L9 (rpL9) of the giant panda (*Ailuropoda melanoleuca*). Genet Mol Res 10: 1576-1588.

Note: Use of a DOI number for the full-text article is acceptable as an alternative to or in addition to traditional volume and page numbers.

*Accepted, unpublished papers*

Same as above, but “In press” appears instead of the page numbers.

*Electronic Journal Articles*

1. Huynen MMTE, Martens P, Hilderlink HBM (2005) The health impacts of globalisation: a conceptual framework. *Global Health* 1: 14. Available: <http://www.globalizationandhealth.com/content/1/1/14>. Accessed 25 January 2012.

*Books*

1. Bates B (1992) *Bargaining for life: A social history of tuberculosis*. Philadelphia: University of Pennsylvania Press. 435 p.

*Book Chapters*

1. Hansen B (1991) New York City epidemics and history for the public. In: Harden VA, Risse GB, editors. *AIDS and the historian*. Bethesda: National Institutes of Health. pp. 21-28.

**Figure Legends**

The aim of the figure legend should be to describe the key messages of the figure, but the figure should also be discussed in the text. An enlarged version of the figure and its full legend will often be viewed in a separate window online, and it should be possible for a reader to understand the figure without switching back and forth between this window and the relevant parts of the text. Each legend should have a concise title of no more than 15 words that can stand alone, without the use of figure part labels. The overall legend itself should be succinct, while still explaining all figure parts, symbols, and abbreviations. Avoid lengthy descriptions of methods.

**Tables**

All tables should have a concise title. Footnotes can be used to explain abbreviations. Citations should be indicated using the same style as outlined above. Tables should not occupy more than one printed page; larger tables can be published as online supporting information. Tables must be cell-based; do not use picture elements, text boxes, tabs, or returns in tables. Please ensure that the files conform to our Guidelines for Figure and Table Preparation when preparing your tables for production.

Tables should be placed at the end of the manuscript file, rather than uploaded separately into the submission system.

**Multimedia Files and Supporting Information**

We encourage authors to submit essential supporting files and multimedia files along with their manuscripts. All supporting material will be subject to peer review, and should be smaller than 10 MB in size because of the difficulties that some users will experience in loading or downloading files of a greater size.

Supporting files should fall into one of the following categories: Dataset, Figure, Table, Text, Protocol, Audio, or Video. All supporting information should be referred to in the manuscript with a leading capital S (e.g., Figure S4 for the fourth supporting information figure). The numbered title and caption for each supporting information file should be included in the main article file, after the titles and captions for the main figures.

Supporting files may be submitted in a variety of formats, but should be publication-ready, as these files are not copyedited. Carefully consider whether your supporting information needs to be searchable and/or editable, and choose the most suitable format accordingly. See the Supporting Information Guidelines for more details about our requirements for supporting information and multimedia files.

## **9. Submission of Research Manuscripts**

### **Are You Ready to Submit Your Manuscript?**

We have provided an author checklist to help you prepare your materials for submission and to make the online submission process as straightforward as possible. Please take the time to look through the list before submitting your article.

If you are submitting a revised manuscript, you will have been given substantial guidance by the editors. We have provided a checklist for revised manuscripts.

### **Electronic Submission**

Detailed instructions for submission can be found on the *PLOS Neglected Tropical Diseases* Manuscript Submission and Peer Review Web site. Files are uploaded individually and are combined into a single PDF file, which must be approved by the author at the end of the submission process.

Text files can be submitted in DOC or RTF format. Please convert LaTeX files to one of the acceptable formats.

Graphics files can only be submitted in EPS or TIF format. If possible, please label all figures with a standard font such as Arial or Times New Roman. Please read the Guidelines for Figure Preparation before submitting figures.

## **10. Other Types of Articles**

### **Articles for the Magazine Section**

In addition to publishing original research papers, *PLOS Neglected Tropical Diseases* will have an engaging magazine section with dedicated editors. Articles in the magazine section will mostly be commissioned, but we welcome your ideas for articles. If you would like to write a magazine-section article, please submit a presubmission inquiry or a full submission. If you wish to submit a full submission, please note that you must submit your manuscript as a "Research Article" - please kindly make a note in the "Comments" box of your submission form and we will change the article categorization for you.

Word counts for magazine-section articles are given in the descriptions below. Very long documents can be hosted as supplementary files (Supporting Information) with the magazine-section articles.

### **Editorial**

These 600- to 800-word articles are written in-house by the Editor-in-Chief or a member of the Editorial Board.

### **Viewpoints**

Viewpoints are opinion pieces grounded in evidence. The word limit is 1,500 words. Authors are encouraged to cite up to 15 references in support of their key assertions, and to use a logical structure for their piece. We encourage all authors to include a display item (a figure, photo, or illustration), which will be published under the Creative Commons Attribution License. Please see Guidelines for Table and Figure Preparation.

### **Debate**

The Debate highlights topical, emerging, or controversial issues in the NTDs field, such as controversies about the best treatment or prevention approach. Debates will be commissioned from two or more authors with differing points of view. Each author has up to 800 words and 10 references to outline their initial viewpoint, and then 400 words and 5 references to respond to the opposing viewpoint. We encourage each author to include a display item (a figure, photo, or illustration), which will be published under the Creative Commons Attribution License. Please see Guidelines for Table and Figure Preparation.

### **Policy Platform**

These articles provide a platform to discuss specific policies that could improve the lives of those at risk of, or affected by, the NTDs. New and specific policy proposals that arise from high-level national or international meetings will be considered for this section, but we will not publish traditional "meeting reports." These articles are usually 2,000 words, with up to 25 references. In very exceptional circumstances (i.e., when the article is of particular public-health importance), we will give authors a higher word limit, but this must be negotiated with the editors ahead of writing the article. We encourage all authors to include 3-5 display items (figures, photos, illustrations), which will be published under the Creative Commons Attribution License. Please see Guidelines for Table and Figure Preparation.

### **Review**

In these articles, the author reviews the best available evidence on a topic relevant to the NTDs community. Authors must include a short abstract and a brief "Methods" section that tells readers how they searched and appraised the literature in preparing the review. The word limit is 3,000 words, with 50-80 references. In very exceptional circumstances (i.e., when the article is of particular public-health importance), we will give authors a higher word limit, but this must be negotiated with the editors ahead of writing the article. Authors must include two boxes:

- A box that lists the 3-5 key learning points in their review
- A box that lists the 5 key papers in the field

We encourage all authors to include 3-5 display items (figures, tables, photos, or illustrations), which will be published under the Creative Commons Attribution License. Please see Guidelines for Table and Figure Preparation.

### **Expert Commentary**

In this article, we commission an expert to comment on a Research Article published in *PLOS Neglected Tropical Diseases*. The author will usually be the Academic Editor who oversaw the peer review of the Research Article, or one of the peer reviewers. The word limit is 1,000 words, with up to 15 references. We may also commission expert commentaries on research papers in other journals, provided that these papers are freely available online. We encourage all authors to include a display item (a figure, photo, or illustration), which will be published under the Creative Commons Attribution License. Please see Guidelines for Table and Figure Preparation.

### **From Innovation to Application**

These short articles (1,000 words, 10 references) discuss new technologies, such as drugs, vaccines, and diagnostics, relevant to NTDs. Authors are asked to take an objective and critical view, and they should include a box that lists up to 3 advantages and 3 disadvantages of the new technology. We will ask for a second box or table depending on what kind of tool is described (for example, if the tool is a new diagnostic tool, we will ask for a table that gives the sensitivity and specificity of the new tool compared with the existing gold standard). Authors with competing interests related to the technology (e.g., financial ties) will not be allowed to write for this section. We encourage all authors to include a display item (a figure, photo, or illustration), which will be published under the Creative Commons Attribution License. Please see Guidelines for Table and Figure Preparation.

### **Photo Quiz**

These articles provide question-and-answer challenges that illustrate a key clinical issue in the diagnosis, management, or prevention of a neglected tropical disease. Submissions should follow this format:

#### Case Discussion and Question

1. Initial brief presentation of a clinical case with key images that invite a diagnosis from the reader.
2. The question portion may state the history of the case and note the findings and the outcome, but it should not provide the diagnosis. The case presentation and question should be written in a single paragraph of no more than 150 words and should be accompanied by no more than 2 images/figures. Please see Guidelines for Table and Figure Preparation.
3. Similar to the Clinical Symposium manuscripts, authors must obtain written consent from the patient using our consent form (also available in French, Portuguese, and Spanish).
  - Answer/Discussion. The Answer section should give the diagnosis, followed by a discussion of the most relevant clinical issues (no more than 1,200 words).
  - Key Learning Points. Authors must include a box that lists 3-5 key learning points of the case, similar to other clinical sections of *PLOS Neglected Tropical Diseases*.
  - References. No more than 10 references.

## Symposium

This section has four sub-types: Laboratory Symposium; Clinical Symposium; Control Symposium; Social, Cultural, Economic Symposium

In each case, the article begins by presenting a short "real-world" problem or challenge, and then uses this problem as the basis for an educational piece of up to 2,000 words, with 25 references. Further details for each type of symposium are given below:

### Laboratory Symposium

These are problem-based learning articles, up to 2,000 words long. They begin with a description of a "real-world" problem (not a hypothetical one), which will be in the form of a set of laboratory results (e.g., microscopy, hematology results, drug susceptibility tests, alternative diagnoses) that are interesting, illuminating, or unusual and that will appeal to the journal's wider audience. This is then followed by a tutorial in the form of a series of questions and answers that help readers make sense of, and learn from, this set of laboratory results. Authors must include a box that lists the 3-5 key learning points of the article. We cannot publish any data that would identify a patient unless we have the patient's written consent, using our consent form (also available in French, Portuguese, and Spanish). We encourage all authors to include 3-5 display items (figures, photos, illustrations), which will be published under the Creative Commons Attribution License. Please see Guidelines for Table and Figure Preparation.

### Clinical Symposium

There are two types of article that we will publish in the Clinical Symposium section:

Case-based learning articles, up to 2,000 words long. These begin with a description of how the patient presented, under the heading "Description of Case." This is then followed by a tutorial in the form of clinical questions and answers interspersed with further details of the case. An example of how this type of article is structured is at <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pmed.0020229>. The title should succinctly describe the problem but should not reveal the diagnosis (e.g., "A 17-Year-Old with Gradual Onset Blindness" or "A 45-Year-Old Woman with Chronic Itching"). Authors must obtain written consent from the patient using our consent form (also available in French, Portuguese, and Spanish). Authors must include a box that lists the 3-5 key learning points of the article. We strongly recommend that authors include examples of the patient's investigations (e.g., imaging, electrocardiograms, a video of the patient's clinical signs), all of which will be published under the Creative Commons Attribution License.

Case reports, up to 1,000 words long. Case reports will not be commissioned. To inquire about submitting a case report, please e-mail **plosntds [at] plos.org**. Authors must obtain written consent from the patient using our consent form (also available in French, Portuguese, and Spanish). We will publish only cases that contain a valuable lesson or clinical reminder, and authors must include a box that lists the 3-5 key learning points of the article. An example of how case reports in *PLOS Neglected Tropical Diseases* should be structured is at <http://dx.doi.org/doi:10.1371/journal.pmed.0010015>. We strongly recommend that authors include examples of the patient's investigations (e.g., imaging, electrocardiograms, a video of the patient's clinical signs), all of which will be published under the Creative Commons Attribution License. Please see Guidelines for Table and Figure Preparation.



## ANEXO 2

### Normas da Revista Panamericana de Salud Pública

A **Revista Panamericana de Salud Pública / Pan American Journal of Public Health** é a principal revista de informação técnica e científica da Organização Pan-Americana da Saúde - OPAS, substituindo os antigos **Boletín de la Oficina Sanitaria Panamericana** e **Bulletin of the Pan American Health Organization**. A revista é um importante veículo para divulgar os avanços mais recentes da pesquisa em saúde pública nas Américas, em função dos objetivos fundamentais da OPAS: promover as ações e coordenar os esforços dos países da Região para preservar a saúde, combater as doenças, prolongar a vida e estimular a melhoria da qualidade física, mental e social de seus habitantes.

A Revista objetiva divulgar informações de interesse para a saúde pública, sobretudo as relacionadas com os programas de cooperação técnica da Organização, bem como notícias sobre políticas, ações e resultados da própria OPAS e dos Estados Membros na busca por melhorar as condições de saúde e fortalecer o setor de saúde em todo o hemisfério.

#### **Crítérios para a aceitação de manuscritos**

A RPSP/PAJPH reserva todos os direitos legais de reprodução de seu conteúdo. Os manuscritos aprovados para publicação somente são aceitos com o entendimento de que não tenham sido publicados, parcial ou totalmente, em nenhuma outra parte e de que não o serão republicados sem a autorização expressa da OPAS. Os artigos serão considerados simultaneamente para publicação em inglês, espanhol ou português (ver seção II.C - Idioma).

A seleção do material proposto para publicação se baseia nos seguintes critérios gerais: grau de prioridade do tema para a Organização e os Estados Membros; solidez científica, originalidade, atualidade e oportunidade da informação; possibilidade de que a experiência descrita seja aplicável em âmbito regional e não somente no lugar de origem; respeito às normas de ética médica no que se refere à experimentação com seres humanos e animais; respeito pelos Estados Membros e pelos povos que representam; variedade dos temas e da procedência geográfica da informação. A aceitação ou recusa de um manuscrito depende de um processo de seleção objetivo que está descrito mais adiante (ver seção II.O - Processo de seleção).

Enfatiza-se especialmente a importância de que o trabalho tenha uma apresentação apropriada (forma de abordar o problema proposto e plano para alcançar o objetivo do estudo), uma vez que as falhas nesse aspecto invalidam toda a informação e são a causa mais frequente da recusa de manuscritos.

Os manuscritos apresentados em reuniões e conferências não os qualificam necessariamente como artigos científicos, já que não se ajustam aos objetivos e estrutura requeridos. Não são aceitos artigos sobre resultados preliminares, mas somente os definitivos. Em geral, tampouco são aceitos artigos destinados à publicação em série relacionados a diversos aspectos de uma única investigação.

As opiniões expressas pelos autores são de sua exclusiva responsabilidade, não refletindo necessariamente os critérios nem a política da Organização Pan-Americana da Saúde, nem dos Estados Membros. A menção de determinadas sociedades comerciais ou do nome comercial de

certos produtos não implica que a OPAS os aprove ou recomende preferencialmente a outros similares.

### **Conteúdo da revista**

Os artigos originais sobre saúde pública e disciplinas afins formam a parte principal da RPSP/PAJPH. Informações sobre os princípios, decisões e resultados da PAHO também são publicadas.

Entre os temas específicos que são abordados figuram os de saúde materna e infantil doenças transmissíveis, doenças crônicas, alimentação e nutrição, prevenção de acidentes, saúde mental, saúde do trabalhador, saúde dos idosos, assistência aos incapacitados, saúde dental, higiene ambiental, desastres, saúde pública veterinária, epidemiologia, estatística sanitária, informática, pesquisa e tecnologia, informação científica e técnica, administração, legislação, políticas, planejamento estratégico, sistemas e serviços de saúde, recursos humanos, financiamento e custos, participação comunitária, educação para a saúde, coordenação intersectorial e muitos outros.

O conteúdo é organizado da seguinte forma:

1. **Reflexões do Diretor.** À moda de editorial, divulga os princípios políticos da Organização, as tendências atuais e prioridades da saúde pública na Região das Américas.
2. **Artigos.** Podem ser informes de pesquisas originais, revisões críticas, revisões bibliográficas ou comunicações de experiências particulares aplicáveis em âmbito regional. Ocasionalmente, são publicadas comunicações breves com o objetivo de divulgar novas técnicas ou metodologias ou resultados que ofereçam interesse particular.
3. **Temas da atualidade.** Esta seção inclui comentários de menor extensão que os artigos, relatos de experiências e acontecimentos nacionais e regionais, informes sobre o desenvolvimento de projetos e programas, resultados de reuniões, simpósios e conferências nos quais participam a Organização e os países membros, bem como outras comunicações relativas à prática da saúde.
4. **Instantâneas** (somente em espanhol). Nesta seção aparecem resumos de artigos recém-publicados em outras revistas destacadas ou em jornais, assim como *press releases*. Os materiais são selecionados segundo a sua pertinência no contexto da saúde pública da Região.
5. **Publicações.** Aqui são apresentados pequenos resumos de novas publicações, assim como resenhas esporádicas de livros recém-publicados sobre os diversos aspectos da saúde pública e temas afins. Os leitores são convidados a enviar resenhas de obras sobre temas no campo de sua competência, com o entendimento de que a sua publicação é responsabilidade da equipe editorial e dependerá em grande medida da observação das normas para a redação de resenhas. Estas serão enviadas por correio sob solicitação.
6. **Cartas.** Cartas dirigidas à Redação são publicadas com a intenção de esclarecer, discutir ou comentar de maneira construtiva as idéias expostas na RPSP/PAJPH. Devem ser assinadas pelo autor, e incluir sua afiliação profissional e endereço completo.

### **Instruções para a apresentação de manuscritos propostos para publicação**

#### **A. Especificações**

A RPSP/PAJPH segue, em geral, as normas definidas no documento "Requisitos uniformes para preparar manuscritos enviados a revistas biomédicas", elaborado pelo Comitê Internacional de Diretores de Revistas Médicas (5a. ed., 1997). Tais normas são conhecidas também como "normas de Vancouver" (ver Bibliografia).

A seguir, são oferecidas instruções práticas para elaborar o manuscrito, ilustradas com exemplos representativos. Os autores que não obedecerem as normas de apresentação se expõem à recusa imediata de seus artigos.

## **B. Envio do manuscrito**

O original, três cópias e um disquete com o texto completo do manuscrito (ver seção II.E - Extensão e apresentação) devem ser enviados ao Chefe do Programa de Publicações e Serviços Editoriais (DBI), que acusará o recebimento do manuscrito mediante carta ao autor.

## **C. Idioma**

A RPSP/PAJPH publica artigos em espanhol, inglês e português, embora sejam aceitos manuscritos redigidos em qualquer dos idiomas oficiais da OPAS (inglês, francês, português e espanhol). É recomendado encarecidamente aos autores que escrevam em sua língua materna; o uso inadequado de uma língua estrangeira obscurece o sentido e enfraquece o rigor científico.

Os artigos selecionados para a RPSP/PAJPH nem sempre serão publicados no idioma em que foram originalmente escritos; o idioma de publicação será decidido segundo a procedência do público para o qual o conteúdo apresente maior interesse científico e prático.

## **D. Direitos de autor (Copyright)**

Cada artigo deverá ser acompanhado de uma declaração especificando que o manuscrito não foi publicado previamente e que não será apresentado a nenhuma outra revista antes de a decisão da OPAS ser conhecida. Os autores anexarão ainda uma declaração assinada indicando que, se o manuscrito for aceito para publicação, os direitos de autor pertencerão à OPAS.

Solicita-se aos autores que incluam informações completas sobre qualquer bolsa de estudos ou subvenções recebidas da OMS, da OPAS ou de outro organismo para custear o trabalho no qual o artigo é baseado.

Os autores assumirão a responsabilidade de obter as permissões necessárias para reproduzir qualquer material protegido por direitos autorais. O manuscrito deverá ser acompanhado da carta original outorgando essa permissão; nela deverá ser especificado com exatidão o número do quadro ou figura ou o texto exato que será citado e como será usado, além da referência bibliográfica completa (ver seção II.J - Referências bibliográficas).

Somente devem constar como autores aqueles que tenham participado diretamente da pesquisa ou da elaboração do artigo, e que poderão ser publicamente responsabilizados pelo seu conteúdo. A inclusão de outras pessoas como autores, por amizade, reconhecimento ou outras razões não científicas, constitui falta de ética.

## **E. Extensão e apresentação**

O manuscrito completo não deverá exceder 15 a 20 folhas tamanho carta (8,5 x 11") ou ISO A4 (212 x 297 mm). Estas devem ser datilografadas com tinta preta em um só lado do papel, com espaço duplo ou triplo e com margens superior e inferior de cerca de 2,4 cm. As margens direita e esquerda deverão medir pelo menos 2,4 cm. As palavras não deverão ser hifenizadas ao final das linhas. As páginas deverão ser numeradas sucessivamente. O original deverá ser acompanhado de três cópias de boa qualidade. Não serão aceitas cópias feitas com carbono.

Dá-se preferência aos manuscritos preparados em computador ou processador de textos, sendo que uma versão em disquete (de 3,5" ou 5,25") deve ser enviada junto com a versão final impressa. Embora seja aceito qualquer equipamento compatível com IBM ou Macintosh, o melhor programa é Microsoft Word. O autor deve indicar o programa que foi usado na elaboração do artigo.

Não serão aceitos manuscritos que não cumpram as especificações aqui detalhadas. No caso de trabalhos ou citações traduzidos, em parte ou na sua totalidade, uma cópia do texto no idioma original deverá acompanhar o manuscrito.

Os artigos aceitos serão submetidos a um processamento editorial que pode incluir, se necessário, a condensação do texto e a supressão ou adição de quadros, ilustrações e anexos. A versão editada será remetida ao autor para sua aprovação.

#### **F. Título e autores**

O título deve limitar-se a 10 palavras, se possível, e não deve exceder 15. Deve descrever o conteúdo de forma específica, clara, breve e concisa. Palavras ambíguas, jargões e abreviaturas deverão ser evitados. Um bom título permite aos leitores identificar o tema facilmente e, além disso, ajuda aos centros de documentação a catalogar e classificar o material com exatidão.

Imediatamente sob o título, deverão figurar o nome e o sobrenome de cada autor, bem como o nome da instituição em que trabalha. A RPSP/PAJPH não publica os títulos, distinções acadêmicas etc. dos autores.

É preciso informar o endereço completo do autor principal ou daquele que deverá se encarregar de responder toda a correspondência relativa ao artigo. Se uma caixa postal for usada, também é necessário indicar outro endereço onde possa chegar um serviço de entrega comercial.

#### **G. Resumo e palavras-chave**

Cada trabalho, incluindo as comunicações breves, deverá ser acompanhado de um resumo — de cerca de 150 palavras se for descritivo, ou de 250 se for estruturado — que indique claramente: a) os propósitos do estudo; b) lugar e datas de sua realização; c) procedimentos básicos (seleção de amostras e métodos de observação e análise); d) resultados principais (dados específicos e, se for o caso, sua interpretação estatística); e e) as principais conclusões. Deve-se enfatizar os aspectos novos e relevantes.

Nenhuma informação ou conclusão que não apareça no texto deverá ser incluída. É conveniente redigi-lo em estilo impessoal e não incluir abreviaturas, remissões ao texto principal ou referências bibliográficas.

O resumo permite aos leitores determinar a pertinência do conteúdo e decidir se lhes interessa ler o documento em sua totalidade. De fato, é a única parte do artigo que muitas pessoas lêem e, junto com o título, a que é incluída nos sistemas de disseminação de informação bibliográfica, como o Index Medicus.

Depois do resumo, 3 a 10 palavras-chave ou frases curtas devem ser indicadas para fins de indexação em bases de dados como o Index Medicus, cuja lista "Cabeçalhos de assuntos médicos" (*Medical Subject Headings*) deve servir de guia.

## **H. Corpo do artigo**

Em geral, os trabalhos que apresentam pesquisas ou estudos se dividem nas seguintes seções correspondentes ao chamado "formato IMRED": introdução, materiais e métodos, resultados e discussão. Os trabalhos de atualização e revisão bibliográfica costumam requerer outros títulos e subtítulos de acordo com o conteúdo.

No caso das comunicações breves, as divisões habituais deverão ser suprimidas, mantendo-se entretanto essa seqüência no texto.

## **I. Notas de rodapé**

São as explicações que, num tipo de letra menor, aparecem na parte inferior de uma página. Serão utilizadas para identificar a afiliação (instituição e departamento) e endereço dos autores e algumas fontes de informação inéditas (ver seção J.4 - Fontes inéditas e resumos). Essas notas deverão ser separadas do texto mediante uma linha horizontal e identificadas por números consecutivos ao longo do artigo, colocados como expoentes.

## **J. Referências bibliográficas**

São essenciais para identificar as fontes originais de conceitos, métodos e técnicas provenientes de pesquisas, estudos e experiências anteriores; para apoiar os fatos e opiniões expressos pelo autor, e orientar o leitor interessado a informar-se com maior detalhe sobre determinados aspectos do conteúdo do documento.

Com exceção dos artigos de revisão bibliográfica e das comunicações breves, a RPSP/PAJPH requer no mínimo 20 referências bibliográficas pertinentes e atualizadas. Os artigos de revisão em geral terão um maior número de fontes, e as comunicações breves, um máximo de 15.

Todas as referências devem ser citadas no texto com números consecutivos, entre parênteses, da seguinte forma:

"Observou-se (3, 4) que..."

Ou:

"Vários autores (1-5) assinalaram que..."

A lista de referências deverá ser numerada consecutivamente seguindo a ordem das citações no texto. Por sua vez, as fontes bibliográficas consultadas mas não citadas no texto serão denominadas "bibliografia" e serão ordenadas alfabeticamente pelo sobrenome dos autores.

A lista de referências ou a bibliografia deverá ser apresentada em folhas separadas, ao final do artigo, e elaborada de acordo com as normas descritas a seguir.

**1. Artigos de revistas.** É necessário fornecer a seguinte informação: autor(es), título do artigo, título abreviado da revista em que foi publicado (sublinhado ou em itálico); ano; volume (em números arábicos), número (pode ser omitido se a revista tiver paginação contínua ao longo de um volume) e páginas inicial e final. Toda a informação será apresentada na língua original do trabalho citado. Os seguintes exemplos ilustram o "estilo de Vancouver" para a elaboração e pontuação de citações bibliográficas que devem ser observadas.

**a. Autores individuais.** Os sobrenomes e iniciais dos primeiros seis autores deverão ser mencionados; se são mais, a expressão "et al." deverá ser usada. Exemplos:

Brownie C, Habicht JP, Cogill B. Comparing indicators of health and nutritional status. *Am J Epidemiol* 1986;124:1031-1044.

Herrero R, Brinton L, Hartge P, Reeves W, Brenes M, Urcuyo R, et al. Determinants of the geographic variation of invasive cervical cancer in Costa Rica. *Bull Pan Am Health Organ* 1993; 27:15-25.

**b. Artigos que possuem várias partes**

Fitzharding PM, Stevens EM. The small-for-date infant: II, neurological and intellectual sequelae. *Pediatrics* 1972; 50:50-57.

**c. Autor corporativo.** Se consta de vários elementos, mencionar da maior para a menor. Em revistas publicadas por organismos governamentais ou internacionais, os trabalhos sem autor podem ser atribuídos ao organismo responsável:

Pan American Health Organization, Expanded Program on Immunization. Strategies for the certification of the eradication of wild poliovirus transmission in the Americas. *Bull Pan Am Health Organ* 1993; 27:287-295.

**d. Artigo sem autor dentro de uma seção regular de uma revista:**

World Health Organization. Tuberculosis control and research strategies for the 1990s: memorandum from a WHO meeting. *Bull World Health Organ* 1992;70:17-22.

**e. Tipos especiais de artigos e outras comunicações.** São indicados entre colchetes:

Wedeen RD. In vivo tibial XFR measurement of bone lead [editorial]. *Archives Environ Health* 1990; 45:69-71.

**f. Suplemento de um volume:**

Maheshwari RK. The role of cytokines in malaria infection. *Bull World Health Organ* 1990; 68 (suppl):138-144.

**2. Trabalhos apresentados em conferências, congressos, simpósios etc.** Somente devem constar nas referências se as atas correspondentes tiverem sido publicadas.

Koeberle F. Pathologic anatomy of entero-megaly in Chagas' disease. *Proceedings of the 2nd biennial meeting of the Bockus Alumni International Society of Gastroenterology*, Rio de Janeiro. 1962;92-103.

**3. Livros e outras monografias.** Deverão ser incluídos os sobrenomes e iniciais de todos os autores (ou editores, compiladores etc.) ou o nome completo da entidade coletiva; título sublinhado (ou em itálico); número da edição; lugar de publicação, casa publicadora e ano. Quando procedente, os números do volume e as páginas consultadas deverão ser acrescentados, assim como a série a que pertence e o seu número correspondente na série.

**a. Autores individuais:**

Eisen HN. *Immunology: an introduction to molecular and cellular principles of immune response*. 5th ed. New York: Harper and Row; 1974: 215-217.

**b. Autor corporativo que é também editor:**

World Health Organization. *The SI for the health professions*. Geneva: WHO; 1977.

**c. Como citar um capítulo:**

Weinstein L, Swartz MN. Pathogenic properties of invading microorganisms. In: Sodeman WA Jr, Sodeman WA, eds. *Pathologic physiology: mechanisms of disease*. Philadelphia: WB Saunders; 1974:457-472.

**d. Como indicar o número de volumes ou citar um volume em particular:**

Pan American Health Organization. Volume II: *Health conditions in the Americas*. 1990 ed. Washington, DC: PAHO;1990. (Scientific publication 524).

Pan American Health Organization. *Health conditions in the Americas*. 1990 ed. Washington, DC: PAHO; 1990. (Scientific publication 524; 2 vol).

**e. Como citar um volume que tem título próprio:**

World Health Organization, Volume 2: *Instruction manual*. In: *International Classification of Diseases and Related Health Problems*. 10th rev. Geneva: WHO; 1992.

**f. Atas publicadas de congressos, simpósios, conferências etc.:**

DuPont B. Bone marrow transplantation in severe combined immunodeficiency with an unrelated MLC compatible donor. In: White HJ, Smith R, eds. *Proceedings of the third annual meeting of the International Society for Experimental Hematology*. Houston: International Society for Experimental Hematology; 1974: 44-46.

**g. Informes e documentos completos sem autor.** Somente serão oferecidos detalhes sobre informes escritos que os leitores possam solicitar e obter. É importante indicar o nome exato da entidade coletiva responsável pelo documento, título completo, cidade, ano e número. Se possível, deve-se dar a fonte do documento. Exemplos:

National Center for Health Services Research. *Health technology assessment reports*, 1984. Rockville, Maryland: National Center for Health Services Research; 1985; DHHS publication no (PHS) 85-3373. Available from: National Technical Information Service, Springfield, VA 22161.

**4. Fontes inéditas e resumos (*abstracts*).** Não são consideradas referências apropriadas os resumos (*abstracts*) de artigos, os artigos que ainda não tenham sido aceitos para publicação, as teses quando ainda são inéditas e os trabalhos não publicados mesmo que tenham sido apresentados em conferências. Excetuam-se os artigos já aceitos mas ainda não publicados (no prelo). Se for absolutamente necessário citar fontes inéditas, deve-se mencioná-las no texto (entre parênteses) ou como notas de rodapé. A citação no texto deverá ser feita da seguinte maneira:

Observou-se<sup>1</sup> que . . .

e ao pé da mesma página do manuscrito aparecerá a nota correspondente:

<sup>1</sup> Herrick JB, [and others]. [Letter to Frank R Morton, Secretary, Chicago Medical Society]. Herrick papers. [1923]. Located at: University of Chicago Special Collections, Chicago, Illinois.

No caso de artigos já aceitos mas ainda não publicados (no prelo), deve-se seguir o exemplo:

It has been demonstrated (Little DA, Ecology Center of New York, unpublished observations, 1990) that . . .

**5. Comunicações pessoais.** Devem ser incluídas unicamente quando oferecerem informação essencial não obtível de uma fonte pública. Somente figuram no texto entre parênteses, sem nota de rodapé, da seguinte forma:

Dr. D.A. Little (Ecology Center of New York, personal communication, 1991) has pointed out that . . .

**6. Outros materiais.** Devem seguir em geral as indicações para referenciar um livro, especificando sua procedência (autores ou entidade responsável), título, tipo do material, local de publicação e data. Também devem ser descritos os sistemas necessários para o uso de informação em formatos eletrônicos.

**a. Videocassetes:**

World Health Organization. *Before disaster strikes* [videocassette]. Geneva: WHO; 1991.

**b. Diapositivos (*slides*):**

*Sinusitis: a slide lecture series of the American Academy of Otolaryngology—Head and Neck Surgery Foundation* [slide show]. Washington DC: The Academy; 1988. [54 slides and a guide by HC Pillsbury and ME Johns].

**c. Programas de computador:**



*Wechsler interpretation system* [computer program]. Wakefield, Rhode Island: Applied Innovations; 1983. [1 diskette; 1 guide].

**d. Audiocassetes:**

Clark RR, et al, eds. American Society for Microbiology prods. *Topics in clinical microbiology* [audiocassette]. Baltimore: Williams and Wilkins; 1976. [24 audiocassettes: 480 min; accompanied by 120 slides and one manual].

**e. Bases de dados / CD-ROMs:**

*Compact library: AIDS* [CD-ROM database updated quarterly]. Version 1.55a. Boston: Massachusetts Medical Society, Medical Publishing Group; 1980. [1 compact disk; operating system: IBM PC, PS/2 or compatible; 640K memory; MS-DOS 3.0 or later].

**f. Sites na Internet:**

Pritzker TJ. *An early fragment from Central Nepal* [Internet site]. Ingress Communications. Available: <http://www.ingress.com/~astanart/pritzker/pritzker.html>. Accessed 8 June 1995.

**g. Materiais instrucionais:**

Card No. 8 Use of cervical mucus examination as a method for avoiding pregnancy. In: World Health Organization and Blithe Centre for Health and Medical Education. *Education on family fertility: instructional materials on natural methods of family planning for use by educators* [pamphlets, cards, and posters]. Geneva: WHO; 1982.

**K. Quadros (ou tabelas)**

Os quadros são conjuntos ordenados e sistemáticos de valores agrupados em linhas e colunas. Devem ser usados para apresentar informação essencial de tipo repetitivo — em termos de variáveis, características ou atributos — em uma forma facilmente compreensível para o leitor. Podem mostrar frequências, relações, contrastes, variações e tendências mediante a apresentação ordenada da informação. Devem ser compreensíveis por si mesmos e complementar — não duplicar — o texto. Os quadros não devem conter excesso de informação estatística porque resultam incompreensíveis, diminuem o interesse do leitor e podem chegar a confundi-lo.

Cada quadro deve ser apresentado em uma folha separada ao final do artigo, e ser identificado com um número correspondente. Deverá apresentar um título breve e claro de maneira que o leitor possa determinar sem dificuldades quais dados foram tabulados e o que indicarão, além do lugar, data e fonte da informação. O cabeçalho de cada coluna deve incluir a unidade de medida e ser o mais breve possível; a base das medidas relativas (porcentagens, taxas, índices) deve ser indicada claramente quando forem utilizadas. Somente devem ser deixados em branco os espaços correspondentes a dados que não são aplicáveis; se falta informação porque não foram feitas observações, os espaços deverão ser preenchidos por um pontilhado.

Linhas verticais não deverão ser usadas, assim como somente três horizontais deverão aparecer: uma após o título, outra após os cabeçalhos de coluna e a última ao final do quadro, antes das notas, se houver. As chamadas para as notas ao final do quadro deverão ser feitas mediante letras

colocadas como expoentes, em ordem alfabética; cifras, asteriscos ou outros símbolos quaisquer não deverão ser utilizados com esse propósito.

As comunicações breves poderão apresentar até o limite máximo de dois quadros ou figuras.

## **L. Figuras**

As ilustrações (gráficos, diagramas, desenhos lineares, mapas, fotografias etc.) devem ser utilizadas para destacar tendências e ilustrar comparações de forma clara e exata. Devem ser fáceis de compreender e agregar informação, não duplicá-la. As figuras deverão ser apresentadas em forma de desenhos manuais ou fotografias em branco e preto em papel brilhante, ou geradas por computador. Os desenhos e legendas devem ser bem elaborados para que possam ser reproduzidos diretamente; deverão ser enviados entre folhas de papelão duro que os protejam durante o transporte. Todas as figuras deverão ser perfeitamente identificadas no verso. Seus títulos serão tão concisos quanto possível e, ao mesmo tempo, bastante explícitos. Notas não deverão ser utilizadas na figura, mas a fonte deverá ser indicada no caso de haver sido retirada de outra publicação.

Os títulos de todas as figuras deverão ser anotados em ordem numérica numa folha separada. Se houver espaço suficiente, a explicação dos gráficos ou mapas poderá ser incluída dentro da própria figura, mas se não for possível, será incorporada ao título da figura. Os mapas e desenhos apresentarão uma escala em unidades SI (ver seção II.N - Unidades de medida).

As fotografias são preferíveis em branco e preto, devendo ter grande nitidez e excelente contraste, e incluir antecedentes, escala, fonte de origem e data. Cada fotografia deverá ser identificada no verso com um número e incluir um título claro e breve. Essa informação deverá ser escrita numa etiqueta adesiva no verso da fotografia.

O excesso de quadros, material gráfico ou ambos diminui o efeito que se deseja alcançar. Essa razão, mais o fato de que os quadros e ilustrações são custosos e ocupam muito espaço, obriga a uma seleção cuidadosa para realçar o texto.

## **M. Abreviaturas e siglas**

Serão utilizadas o menos possível. É preciso definir cada uma delas na primeira vez em que aparecer no texto, escrevendo o termo completo e em seguida a sigla ou abreviatura entre parênteses, por exemplo, Programa Ampliado de Imunização (PAI). Serão citadas em espanhol ou português, por exemplo, DP (desvio padrão) e não SD (standard deviation), exceto quando correspondam a entidades de alcance nacional (FBI) ou sejam conhecidas internacionalmente por suas siglas não espanholas ou portuguesas (UNICEF), ou se refiram a substâncias químicas cujas siglas inglesas estejam estabelecidas como denominação internacional, como GH (hormônio do crescimento), e não HC. (Ver também a seção II.N - Unidades de medida).

## **N. Unidades de medida**

Deverão ser usadas as unidades do Sistema Internacional (SI), que é essencialmente uma versão ampliada do sistema métrico decimal (ver bibliografia).

De acordo com esse sistema, os símbolos das unidades não são expressos no plural (5 km e não 5 kms), nem são seguidos de ponto (10 mL e não 10 mL.), salvo se estiverem no final de uma frase

e que por razões ortográficas deverão levá-lo. Em português, os números decimais são expressos usando-se a vírgula. As cifras devem ser agrupadas em trios, dispostos à direita e à esquerda da vírgula decimal, e separados entre si por um espaço simples. Não devem ser separados por nenhum sinal de pontuação.

*Forma correta:*

12 500 350 (doze milhões quinhentos mil trezentos cinqüenta)

1 900,05 (mil novecentos e cinco centavos)

*Formas incorretas:*

12,500,350 / 1.900,05 / 1,900.05

## **O. Processo de seleção**

Os manuscritos recebidos passam por um processo de seleção mediante o sistema de arbitragem por especialistas na matéria. Numa primeira revisão, é determinado se o manuscrito obedece os critérios gerais descritos anteriormente. Na segunda revisão, são examinados o valor científico do documento e a utilidade de sua publicação; esta parte é responsabilidade de profissionais especialistas no tema, que avaliam os manuscritos independentemente.

Na terceira revisão, baseando-se nos critérios gerais, no valor científico do artigo e na utilidade de sua publicação, toma-se uma decisão que pode ser: recusa, em cujo caso o documento é devolvido ao autor; aceitação condicional, segundo a qual se solicita ao autor para redigir um novo texto revisado, incorporando os comentários e recomendações dos especialistas; ou aceitação definitiva. Os textos revisados são submetidos a uma quarta revisão para verificar se as condições e exigências feitas na aceitação condicional foram cumpridas; se sim, o manuscrito é aceito de forma definitiva; do contrário, é recusado. Toda decisão é comunicada por escrito ao autor com a maior rapidez possível. O prazo depende da complexidade do tema e da disponibilidade de revisores especialistas.

## **P. Publicação do artigo aceito**

Os manuscritos serão aceitos com o entendimento de que o editor se reserva o direito de fazer revisões visando uma maior uniformidade, clareza e conformidade do texto com o estilo da RPSP/PAJPH. Os manuscritos aceitos para publicação serão editados e enviados ao autor responsável pela correspondência para que responda às perguntas ou esclareça dúvidas editoriais, aprove as correções. As provas tipográficas não serão enviadas aos autores, razão pela qual estes deverão ler detidamente o manuscrito editado. Recomenda-se enfaticamente a devolução do manuscrito aprovado pelo autor no prazo indicado na carta que o acompanha, para que a programação do número correspondente da revista possa ser cumprida. Salvo circunstâncias excepcionais, decorrem aproximadamente três meses entre a data do recebimento do artigo aprovado pelo autor e sua publicação.

## **Q. Exemplares enviados ao autor**

O autor receberá 10 exemplares da revista em que aparece seu artigo tão logo seja publicada.

## ANEXO 3

### Parecer do Comitê de ética

UNIVERSIDADE DE  
PERNAMBUCO/ PROPEGE/



#### PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

##### DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

**Título da Pesquisa:** SOROPREVALÊNCIA E FATORES DE RISCO ASSOCIADOS À INFECÇÃO POR HANTAVÍRUS E POR LEPTOSPIRA spp. EM GARIS E TRABALHADORES RURAIS DO MUNICÍPIO DE GARANHUNS NO ESTADO DE PERNAMBUCO.

**Pesquisador:** José Wilton Pinheiro Júnior

**Área Temática:**

**Versão:** 3

**CAAE:** 03798812.3.0000.5207

**Instituição Proponente:** UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO

##### DADOS DO PARECER

**Número do Parecer:** 139.856

**Data da Relatoria:** 08/11/2012

##### Apresentação do Projeto:

Trata-se de estudo descritivo transversal que busca investigar se há infecção por hantavírus e por leptospira spp. A hantavirose e a leptospirose são enfermidades que embora tenham diferenças em sua etiologia e cadeia epidemiológica, ambas tem como reservatório os roedores e são enfermidades relacionadas ao risco ocupacional. O objetivo é de realizar um estudo soro-epidemiológico da infecção por Hantavírus e por Leptospira spp. em garis e trabalhadores rurais que residam no município de Garanhuns, do estado de Pernambuco. Pretende-se realizar uma análise descritiva transversal, onde serão realizadas as coletas de amostras de sangue dos garis e trabalhadores rurais e realizadas as provas sorológicas, o ELISA para a infecção por Hantavírus e soroaglutinação microscópica (SAM) para Leptospira spp. Será aplicado um questionário, que busca os fatores de risco para a ocorrência dessas infecções. Espera-se caracterizar a epidemiologia das infecções por Hantavírus e Leptospira em Garanhuns e também relacionar os fatores de risco responsáveis

pela ocorrência da infecção com as condições ambientais e o risco ocupacional dos trabalhadores com a ocorrência da hantavirose e leptospirose. Participará do estudo 360 sujeitos sendo que 180 garis e 180 trabalhadores rurais. O tamanho da amostra para compor o estudo de prevalência será determinado considerando-se uma prevalência esperada para infecção por Hantavirus de 14,3% (CAMPOS, 2002) e por Leptospira de 10,4% (ALMEIDA et al., 1994), que determinará uma amostragem mínima de 189 amostras para pesquisa de Hantavirus e

144 para *Leptospira* spp., considerando o nível de confiança de 95% e erro estatístico de 5% (THRUSFIELD, 2004). Sem critérios de inclusão e exclusão.

**Objetivo da Pesquisa:**

Objetivo geral:

Realizar um estudo soro-epidemiológico da infecção por Hantavírus e *Leptospira* spp. em garis e em trabalhadores rurais que residam no município de Garanhuns, do Estado de Pernambuco.

Objetivos Específicos:

Determinar a prevalência da infecção por Hantavírus e por *Leptospira* na população de garis responsáveis pela limpeza urbana e trabalhadores rurais do município de Garanhuns do Estado de Pernambuco;

Identificar os fatores de risco associados as infecções por Hantavírus e por *Leptospira*.

Os Objetivos estão coerentes com a metodologia a ser utilizada e exequíveis.

**Avaliação dos Riscos e Benefícios:**

O estudo apresenta riscos aos participantes embora a venopunção para coleta seja feita por pessoal técnico preparado (neste estudo o técnico de enfermagem) e com material específico e esterilizado. Os riscos está relacionado com a própria técnica e o manuseio do material bem como a imunidade do paciente. Por se tratar de um procedimento invasivo os riscos mínimos como infecção, hematomas, sangramento poderão ocorrer e foram informados no TCLE.

Conforme descrito no estudo a pesquisa não apresenta riscos à população participante, visto que, será realizada apenas uma coleta de amostra de sangue por uma equipe técnica preparada para tal procedimento, e aplicado um questionário que busca informações que possam esclarecer o risco de Avaliação dos Riscos e Benefícios: infecção pelos agentes (*Hantavírus* e *Leptospira* spp.). Além, disso os participantes serão esclarecidos a

respeito do objetivo da pesquisa e assinarão o termo de consentimento livre e esclarecido, sendo mantido o sigilo das informações dos participantes.

Benefícios:

Como benefícios, depois de esclarecido se há infecção por Hantavírus e/ou por *Leptospira* spp., é possível a implementação de medidas de educação em saúde que possam contribuir com a população, em especial os garis e trabalhadores rurais que devido as suas atividades e ao ambiente onde desempenham as mesmas, estão mais susceptíveis a ocorrência de enfermidades como estas pesquisadas e tantas outras que quando é possível caracteriza-las epidemiologicamente, pode-se identificar os principais fatores de risco para a ocorrência e educar a população para sua prevenção Quanto aos benefícios descrito é relevante tendo em vista aos inúmeros fatores que a pesquisa irá propiciar.

**Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:**

Trata-se de estudo relevante sobre o hantavírus e leptospira spp a ser realizado no Município de Garanhuns, onde a metodologia atende aos objetivos propostos. Estudo tipo descritivo e transversal, onde para análise sorológica será utilizado o teste de ELISA para infecção por hantavírus e soroaglutinação microscópica para Leptospira spp. Será feita análise estatística descritiva para cálculo das frequências relativa e absoluta dos resultados obtidos no teste sorológico. Para identificar os fatores de risco associados à infecção por Hantavirus e Leptospira spp será realizada uma análise univariada das variáveis de interesse através do teste qui-quadrado de Pearson, ou Exato de Fisher, quando necessário. Posteriormente será feita uma análise multivariada através do modelo de regressão logística considerando como variável dependente o status sorológico do animal (positivo ou negativo). As variáveis independentes ou explanatórias consideradas no modelo serão aquelas que apresentaram significância estatística 0,20. Essa probabilidade será estipulada para que possíveis fatores de risco do evento não sejam excluídos da análise. O programa SPSS for Windows, versão 18,0 - Statistical Package for the Social Science, será utilizado para a execução dos cálculos estatísticos.

**Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:**

Trata-se de estudo relevante sobre o hantavírus e leptospira spp a ser realizado no Município de Garanhuns, onde a metodologia atende aos objetivos propostos. Estudo tipo descritivo e transversal, onde para análise sorológica será utilizado o teste de ELISA para infecção por hantavírus e soroaglutinação microscópica para Leptospira spp. Será feita análise estatística descritiva para cálculo das frequências relativa e absoluta dos resultados obtidos no teste sorológico. Para identificar os fatores de risco associados à infecção por Hantavirus e Leptospira spp será realizada uma análise univariada das variáveis de interesse através do teste qui-quadrado de Pearson, ou Exato de Fisher, quando necessário. Posteriormente será feita uma análise multivariada através do modelo de regressão logística considerando como variável dependente o status sorológico do animal (positivo ou negativo). As variáveis independentes ou explanatórias consideradas no modelo serão aquelas que apresentaram significância estatística 0,20. Essa probabilidade será estipulada para que possíveis fatores de risco do evento não sejam excluídos da análise. O programa SPSS for Windows, versão 18,0 - Statistical Package for the Social Science, será utilizado para a execução dos cálculos estatísticos.

**Recomendações:**

Há TCLE, e está de acordo. Os objetivos condiz com o apresentado no projeto.

UNIVERSIDADE DE  
PERNAMBUCO/ PROPEGE/



Apresenta questionários para aplicação em garis e trabalhadores rurais em comentários.

O Cronograma está ajustado. Apresenta carta de anuência.

Projeto pode ser homologado pelo Colegiado do CEP

**Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:**

Projeto atende aos ajustes solicitados. Está claro e não implica em questões éticas que envolva os sujeitos e pesquisadores.

**Situação do Parecer:**

Aprovado

**Necessita Apreciação da CONEP:**

Não

**Considerações Finais a critério do CEP:**

O Pleno acompanha o parecer do relator.

RECIFE, 06 de Novembro de 2012

---

**Assinador por:**  
**Nelson Rubens Mendes Loretto**  
**(Coordenador)**