

Estudo longitudinal da prevalência dos vírus *Juquitiba* e *Araraquara* em roedores das regiões da Mata Atlântica e do Cerrado do Brasil

Longitudinal study of the prevalence of Juquitiba and Araraquara virus in rodents provenient of the regions of Cerrado and Atlantic Rainforest in Brazil

Luiz Eloy Pereira¹, Akemi Suzuki¹, Ivani Bisordi¹, Renato Pereira de Souza¹, Luiza Terezinha Madia de Souza¹, Fabiola Maiumi Oshiro¹, Matheus de Paula Cerroni¹, Raymundo Soares de Azevedo Neto², João Renato Rebello Pinho¹

¹Seção Vírus Transmitidos por Artrópodos, do Instituto Adolfo Lutz, da Coordenadoria de Controle de Doenças, da Secretaria de Estado da Saúde de São Paulo – IAL/CCD/SES-SP, ²Departamento de Patologia, da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo – FMUSP

Resumo

Com base nos estudos realizados no período de 1993 a 2003, durante a vigilância ecoepidemiológica de hantavírus em regiões de Mata Atlântica e do Cerrado do Brasil, relata-se a prevalência e os fatores relacionados à infecção pelos hantavírus *Araraquara* e *Juquitiba* nas populações de *Bolomys lasiurus* e *Oligoryzomys nigripes*, respectivamente. Foram realizadas capturas mensais de roedores em diversas localidades do País, nas quais foram detectados casos humanos de síndrome cardiopulmonar por hantavírus. Foram coletadas amostras de sangue para sorologia e detecção de anticorpos específicos para hantavírus e obteve-se de cada roedor dados referentes à espécie, peso, idade, sexo, condições reprodutivas e presença de cicatrizes. As variáveis qualitativas nominais foram organizadas em software de planilha eletrônica e analisadas pelo teste do qui-quadrado, sendo escolhido como critério o nível de significância de 5%. Os resultados mostram, pelas altas prevalências observadas em *Bolomys lasiurus* e *Oligoryzomys nigripes*, que estas espécies atuam como reservatório no Cerrado e na Mata Atlântica, respectivamente. Observa-se que a dinâmica ecológica está intimamente relacionada com a transmissão e manutenção de hantavírus na natureza, ficando claro que a atividade reprodutiva é o que mais influencia a ocorrência de roedores soropositivos com cicatrizes, devido às brigas por acasalamento. A prevalência de hantavírus em roedores mostrou-se associada a fatores de idade e sexo, sendo mais comum nos adultos e discretamente mais freqüente nos machos. A sazonalidade da infecção varia de acordo com a espécie de roedor reservatório, sendo que para o *Bolomys lasiurus* o pico da infecção ocorre no inverno e para *Oligoryzomys nigripes*, na primavera. Percebeu-se, também, que a prevalência da infecção por hantavírus entre roedores foi maior no Cerrado que na Mata Atlântica, e a sazonalidade dessa prevalência determinou picos na primavera para a Mata Atlântica e no inverno para o Cerrado.

Palavras-chave: hantavírus; infecções por hantavírus; vírus *Juquitiba*; vírus *Araraquara*; síndrome pulmonar por hantavírus; ecoepidemiologia de hantavírus; roedores; sigmodontinae; *Bolomys lasiurus*; *Oligoryzomys nigripes*; Cerrado; Mata Atlântica.

Abstract

On the basis of the studies carried through in the period of 1993 the 2003, during the ecoepidemiológica monitoring of hantavírus in regions of Atlantic Rainforest and Cerrado of Brazil, prevalence is told to it and the factors related to the infection for hantavírus *Araraquara* and *Juquitiba* in the populations of *Bolomys lasiurus* and *Oligoryzomys nigripes*, respectively. Monthly captures of rodents had been carried through, in diverse Brazil

localities, where human cases of Cardiopulmonar Syndrome had been detected for Hantavírus. Samples of blood had been collected, for serology and detection of specific antibodies for hantavírus and were gotten of each referring rodent, data to the species, weight, age, sex, reproductive conditions and the presence of scars. The nominal qualitative variable had been organized in “software” of electronic spread sheet and analyzed by the test of the qui-square, being chosen the level of significance of 5% as criterion. The results respectively show for the high prevalence observed in *Bolomys lasiurus* and *Oligoryzomys nigripes* that these species act as reservoir in the Cerrado and Atlantic Rainforest. It is observed that the ecological dynamics intimately is related with the transmission and maintenance of hantavírus in the nature, being clearly that the reproductive activity is what more influences the occurrence of seropositive rodents with scars, had to the fight for breeding. The prevalence of hantavírus in rodents revealed associated the factors of age and sex, being more common in the rodents adult and discrete more frequent in the male rodents. The seasonality the infection in accordance with varies the species of rodent reservoir, being that for the *Bolomys lasiurus* the peak of the infection occurs in the winter and for *Oligoryzomys nigripes* the same occurs in the spring. One also perceived that the prevalence of the infection for hantavírus between rodents was bigger in the Cerrado what in Atlantic Rainforest, and the seasonality of this prevalence determined peaks in the spring for Atlantic Rainforest and in the winter for the Cerrado.

Key words: hantavirus; infections due to hantavirus; *Juquitiba* virus; *Araraquara* virus; lung syndrome due to hantavirus; hantavirus echoepidemiology; rodents; sigmodontinae; *Bolomys lasiurus*; *Oligoryzomys nigripes*; woody pasture; Atlantic forest.

Introdução

Os hantavírus são reconhecidos como um problema de saúde pública mundial. No Velho Mundo, a febre hemorrágica por hantavírus (FHSR) emergiu a partir de 1951 na Eurásia, envolvendo roedores da subfamília *Murinae* e *Arvicolinae*^{4,8,9,10,12,16}. Os hantavírus que causam síndrome cardiopulmonar por hantavírus (SCPH) estão associados a roedores da subfamília *Sigmodontinae*, típicos do continente americano. Emergiram a partir de julho de 1993, com o isolamento do hantavírus *Sin Nombre*, responsável pela epidemia de doença respiratória grave, na região do Sudoeste dos Estados Unidos, representando o primeiro registro de SCPH no mundo¹².

Sabe-se que esta epidemia foi desencadeada por um desequilíbrio da população do roedor hospedeiro “Deer Mouse” *Peromyscus maniculatus*³, após um período prolongado de chuvas, causado pelo fenômeno climático El Niño. Com as chuvas, a oferta de alimento nessa região desértica aumentou, levando a um incremento da população de roedores silvestres. Com o restabelecimento das condições climáticas a oferta de alimento diminuiu, levando a população de roedores a procurar alimentos nas residências rurais, ocasionando, desta forma, o maior contato do homem com os animais transmissores do vírus e, conseqüentemente, o aparecimento da doença¹³.

No Brasil, em dezembro de 1993, no município de Juquitiba, no Estado de São Paulo, foi documentada pela primeira vez a ocorrência de casos humanos de SCPH, causados por um vírus semelhante ao *Sin Nombre*, posteriormente denominado vírus *Juquitiba*^{7,9,17}. O súbito aparecimento deste surto relacionou-se a dois fatores. O primeiro, a ocorrência do fenômeno natural conhecido como “ratada”, que é um incremento da população de roedores após aumento da oferta de sementes produzidas durante a floração cíclica de várias espécies de bambus nativos da Mata Atlântica¹⁴. O segundo está relacionado com o desmatamento de uma área de mata nativa para a formação de uma chácara, concomitantemente à “ratada”, o que provocou a invasão de roedores silvestres para o interior da casa de pau-a-pique que abrigava família dos posseiros¹⁵.

A partir de 1994 foram notificadas centenas de casos de SCPH associados ao vírus *Juquitiba* em regiões de Mata Atlântica dos Estados de São Paulo, Paraná, Santa Catarina e Rio Grande do Sul. A ocorrência de casos foi observada durante o ano, sendo que a maior incidência aconteceu durante a primavera e verão. A maioria dos acometidos desenvolvia atividades ocupacionais ligadas ao ramo da agricultura ou exploração florestal. A proximidade das habitações em relação às áreas de mata e de agricultura foi o fator que mais contribuiu para a ocorrência dos casos. Posteriormente, estudos de biologia molecular permitiram identificar o vírus *Juquitiba* e relacioná-lo aos casos ocorridos na região de Mata Atlântica e ao *Oligoryzomys nigripes*, seu roedor reservatório^{9,18}.

A partir daquele ano foram detectados casos em diversas regiões do Brasil e outros tipos de hantavírus foram identificados, tais como: *Castelo dos Sonhos*, associado com um único caso SCPH humano detectado na Mata

Amazônica (município de Castelo dos Sonhos, Pará)⁹, cujo roedor hospedeiro ainda é desconhecido; vírus *Araraquara*, responsável pela ocorrência de centenas de casos de SCPH em regiões de Cerrado dos Estados de São Paulo, Minas Gerais, Mato Grosso, Goiás e Brasília, posteriormente relacionado ao roedor *Bolomys lasiurus* como seu reservatório^{9,18}.

A maior incidência dos casos de SCPH ocorreu no outono e inverno, provavelmente devido ao aumento da população de *Bolomys lasiurus* infectados, o que pode ser explicado pela restrição do ambiente durante os períodos secos, característicos dessas estações do ano no Cerrado antropizado. Observou-se que a maioria dos casos ocorreu principalmente em habitações humanas localizadas próximas de culturas de capim braquiária, seguida, em menor escala, das de milho, cana-de-açúcar, soja, arroz e plantio para reflorestamento.

O presente trabalho busca relatar a prevalência e os fatores relacionados à infecção pelos hantavírus *Araraquara* e *Juquitiba* nas populações de *Bolomys lasiurus* e *Oligoryzomys nigripes*, respectivamente, conforme estudos de vigilância ecoepidemiológica realizados em regiões de Mata Atlântica e de Cerrado do Brasil, no período de 1998 a 2003.

Material e métodos

Amostras de roedores

Para os estudos ecológicos e sorológicos foram analisados dados ecológicos e materiais biológicos obtidos de 3.469 *Bolomys lasiurus* e de 1.254 *Oligoryzomys nigripes*, capturados no período de 1998 a 2003, procedentes de São Paulo, Paraná, Santa Catarina, Rio Grande do Sul, Minas Gerais e Goiás.

Todos os animais utilizados neste estudo estão depositados na coleção da Seção de Vírus Transmitidos por Artrópodos do Instituto Adolfo Lutz, órgão da Coordenadoria de Controle de Doenças, da Secretaria de Estado da Saúde de São Paulo (IAL/CCD/SES-SP).

Localidades de coletas

As localidades estudadas foram selecionadas em função da detecção de casos humanos de SCPH associados aos biomas Mata Atlântica e Cerrado (Figura 1). Foram consideradas como localidades pertencentes ao bioma Mata Atlântica todas aquelas onde ocorreram casos dentro do Sistema da Serra do Mar no Estado de São Paulo e áreas do Paraná, Santa Catarina e Rio Grande do Sul. Para o Cerrado, foram levados em consideração os casos ocorridos nas regiões Nordeste e Noroeste paulista e áreas de Minas Gerais e Goiás.

Os habitats estudados foram selecionados em função da sua proximidade com o local freqüentado pelos casos de SCPH comprovados laboratorialmente. As áreas estudadas foram aquelas que apresentaram condições naturais para a manutenção de populações de roedores silvestres.

Captura de roedores

Para a captura dos roedores foram utilizadas armadilhas tipo "Sherman" de 8x9x22 cm (H.B Sherman Trap Company, Tallahassee, FL. USA.), e "Tomahawk" de 41x13x13 cm (Tomahawk Live Trap Company, Tomahawk, WI. USA). As armadilhas foram colocadas nos ambientes domiciliar, peridomiciliar, agrícolas e silvestres.

Em cada expedição de captura foram utilizadas 400 armadilhas do tipo "Sherman", organizadas em linhas de 40 unidades. Como isca, utilizou-se uma mistura de pasta de amendoim e aveia em flocos. As armadilhas foram colocadas em pontos estratégicos, antes do escurecer, e verificadas no dia seguinte, logo ao amanhecer. As coletas repetiram-se por quatro noites consecutivas em cada localidade, período ideal para captura de roedores em uma área selecionada. Desta forma, utilizou-se um esforço de 138.000 noites de captura (sucesso de captura de 7,69%) no período de 1998 a 2003.

Coleta de material biológico

Amostras de sangue foram obtidas do sino retro orbital de roedores anestesiados em éter etílico, utilizando-se um tubo capilar heparinizado. Todo roedor que teve sangue coletado foi sacrificado pelo deslocamento cervical,

e, uma vez detectada a morte do animal, foram tomadas medidas biométricas e procedeu-se à coleta de vísceras. Os dados biométricos tomados de cada animal foram: peso, comprimento total, da cauda, da orelha e das patas traseiras.

Os roedores foram identificados no campo até espécie, sexados e classificados quanto às condições reprodutivas no momento (macho escrotado ou não escrotado, fêmeas com a vagina aberta ou fechada). Em cada animal foi verificada, também, a presença ou ausência de cicatrizes. Para cada um foi anotada a procedência específica (localidade e linha de armadilha), permitindo assim o resgate de dados ecológicos. Todo o processamento dos roedores em campo foi realizado mediante normas de biossegurança nível três.

As vísceras – como fígado, rins, baço, coração e pulmão – foram retiradas com auxílio de pinça e colocadas em flaconetes criogênicos, devidamente etiquetados. Entre as fêmeas prenhas foi verificado o número de embriões presentes.

As carcaças dos roedores receberam uma identificação numérica e foram descontaminadas em formalina a 10% durante sete dias, para, posteriormente, serem conservadas em álcool 70% ou taxidermadas.

Sorologia

As análises sorológicas dos roedores foram realizadas utilizando-se teste de ensaio imunoenzimático (ELISA) para detecção de anticorpos da classe IgG. Os antígenos recombinantes, produzidos no Centers for Disease Control and Prevention (CDC), em Atlanta (EUA), foram obtidos a partir dos vírus *Sin Nombre* e *Laguna Negra*³.

Casos humanos foram diagnosticados pelo teste ELISA para detecção, por captura, de anticorpos das classes IgM ou IgG¹⁰. Em alguns casos, a validação do diagnóstico positivo foi feita pela Seção de Patologia do IAL, por reação de imunohistoquímica, utilizando anticorpos monoclonais e policlonais para confirmação da presença do antígeno viral em tecidos e fragmentos de órgãos^{19,20}.

Análise estatística

As variáveis qualitativas nominais foram organizadas em software de planilha eletrônica (MS-Excel, versão 97, Microsoft Co.) e analisadas bivariadamente pelo teste do qui-quadrado, utilizando-se o software Minitab, versão 13.1 (Minitab Inc.), sendo escolhido o nível de significância de 5% como critério.

Resultados

Foram capturados 4.723 roedores em regiões de Cerrado e Mata Atlântica do Brasil, dos quais 3.469 (73%) *Bolomys lasiurus* e 1.254 (27%) *Oligoryzomys nigripes*. No bioma Cerrado foram capturados 3.440 (99,16%) *Bolomys lasiurus* e 451 (36%) *Oligoryzomys nigripes* e na Mata Atlântica, 29 (2,31%) *Bolomys lasiurus* e 803 (64,03%) *Oligoryzomys nigripes*. O total de 370 (10,7%) *Bolomys lasiurus* apresentou soropositividade para hantavírus no Cerrado e nenhum na Mata Atlântica. Com relação à espécie *Oligoryzomys nigripes*, foram encontrados 49 (6,1%) exemplares soropositivos na Mata Atlântica e 8 (06%) no Cerrado.

De forma geral, destaca-se a alta prevalência de *Bolomys lasiurus* no ambiente de Cerrado (10,7%) e de *Oligoryzomys nigripes*, na Mata Atlântica (6,1%), ambas as espécies muito bem amostradas durante a coleta.

Com relação à frequência e à sazonalidade da infecção por hantavírus em *Bolomys lasiurus*, reservatório do vírus *Araraquara*, foram construídos os gráficos contidos nas Figuras 1 a 13, e nos quais são analisados dados referentes a todos os roedores encontrados com anticorpos para hantavírus segundo idade, distribuição sazonal, sexo e presença de cicatrizes.

A Figura 1 ilustra os dados referentes à frequência de anticorpos em *Bolomys lasiurus*, de acordo com a idade dos roedores. Observa-se que a proporção de adultos infectados (17%) é significativamente ($p < 0,001$) maior que a de jovens (7,1%).

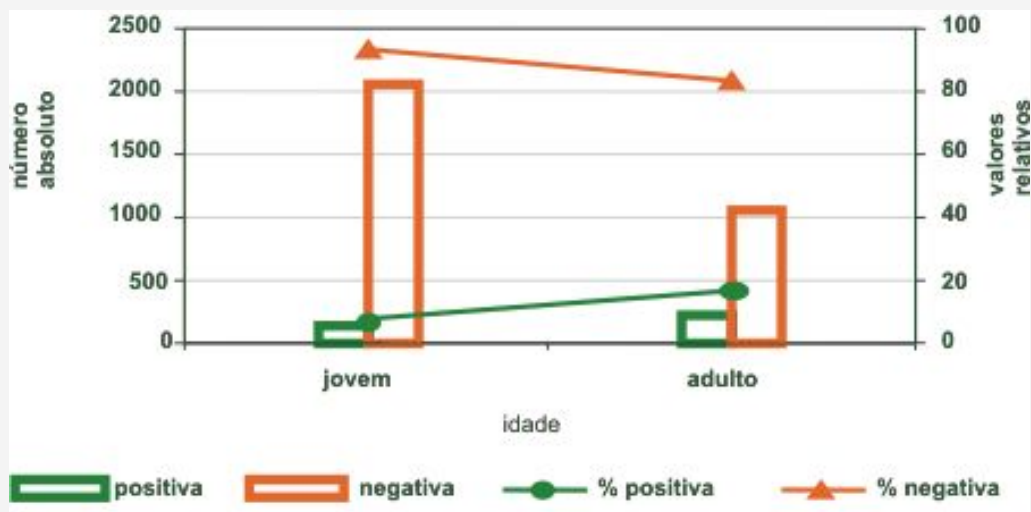


Figura 1. *Bolomys lasiurus* encontrados com anticorpos para hantavírus, segundo a idade, 1998 a 2003.

Na Figura 2 pode-se observar a variação sazonal da proporção de *Bolomys lasiurus* infectados. Percebe-se significativo ($p < 0,001$) aumento na proporção de roedores infectados no inverno (13,3%) e verão (12,8%), com taxas menores de roedores infectados no outono (7,5%) e na primavera (6,3%).

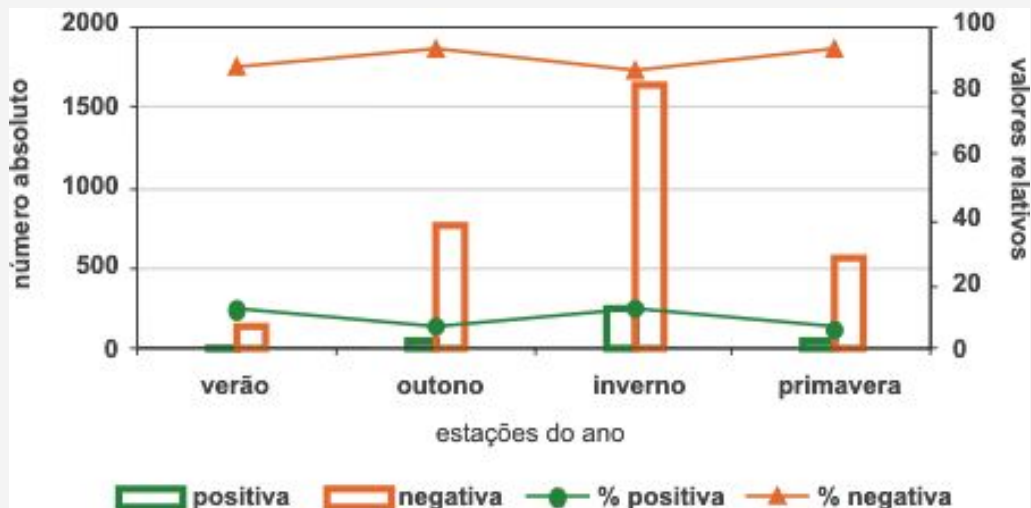


Figura 2. Distribuição de *Bolomys lasiurus* encontrados com anticorpos para hantavírus segundo a estação do ano, 1998 a 2003.

A distribuição percentual de *Bolomys lasiurus* encontrados naturalmente infectados por hantavírus segundo o sexo pode ser vista na Figura 3. Observa-se que a proporção de machos infectados (12,0%) é significativamente ($p = 0,007$) maior que a de fêmeas (9,2%).

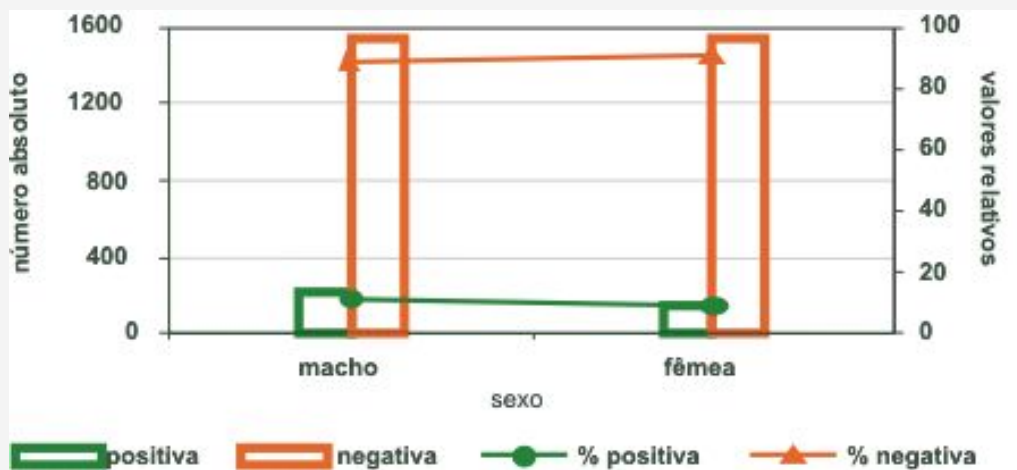


Figura 3. *Bolomys lasiurus* encontrados com anticorpos para hantavírus segundo o sexo, 1998 a 2003.

A Figura 4 apresenta o número de *Bolomys lasiurus* encontrados infectados com relação a cicatrizes. Verifica-se que a presença de anticorpos é significativamente maior ($p < 0,001$) nos roedores com cicatrizes (17,5%) que nos roedores sem cicatrizes (8,0%).

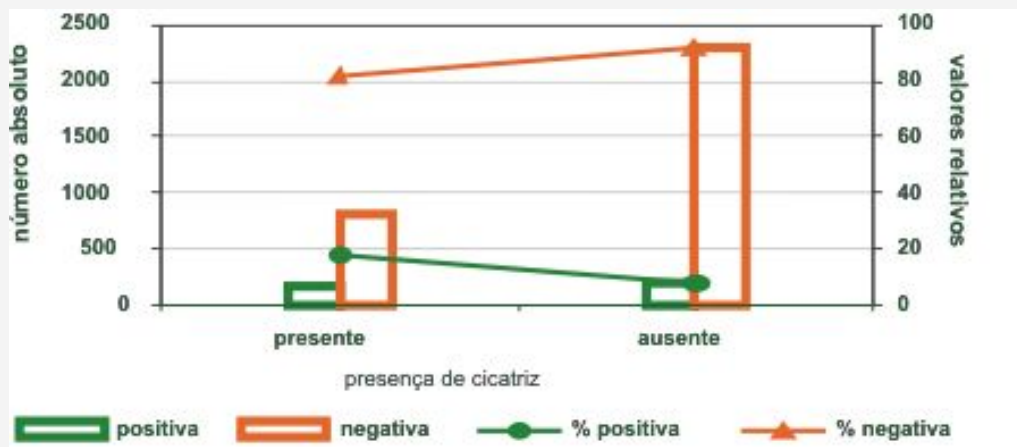


Figura 4. *Bolomys lasiurus* encontrados com anticorpos para hantavírus segundo a presença de cicatrizes, 1998 a 2003.

A Figura 5 mostra os dados relativos aos machos de *Bolomys lasiurus* encontrados naturalmente infectados segundo a idade. Observa-se que a proporção de machos adultos (19,7%) infectados é significativamente ($p < 0,001$) maior que a de jovens (6,5%).

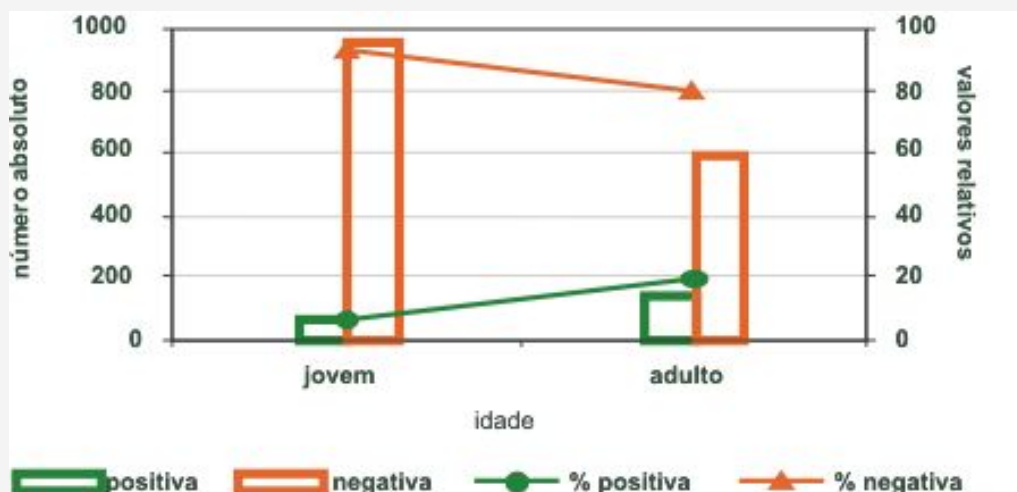


Figura 5. *Bolomys lasiurus* machos encontrados com anticorpos para hantavírus segundo a

idade, 1998 a 2003.

Verifica-se na Figura 6 que a variação sazonal da proporção de machos de *Bolomys lasiurus* encontrados infectados é significativamente ($p=0,001$) maior no inverno (14,8%) e verão (12,2%), sendo menor no outono (8,9%) e na primavera (7,3%).

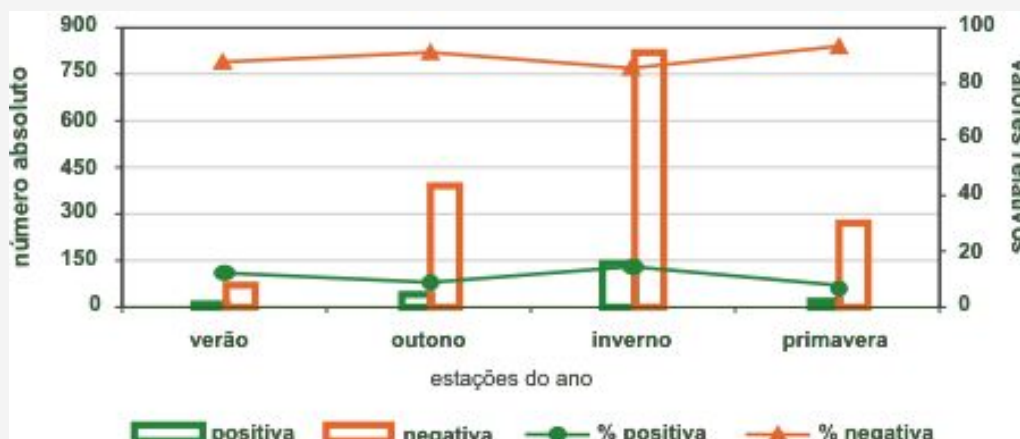


Figura 6. Distribuição de *Bolomys lasiurus* machos encontrados com anticorpos para hantavírus segundo a estação do ano, 1998 a 2003.

A freqüência sazonal de machos escrotados de *Bolomys lasiurus* encontrados infectados pode ser verificada na Figura 7. Observa-se que a proporção de machos de *Bolomys lasiurus* escrotados e infectados (15,9%) é significativamente maior ($p<0,001$) que a de não escrotados (9,8%).

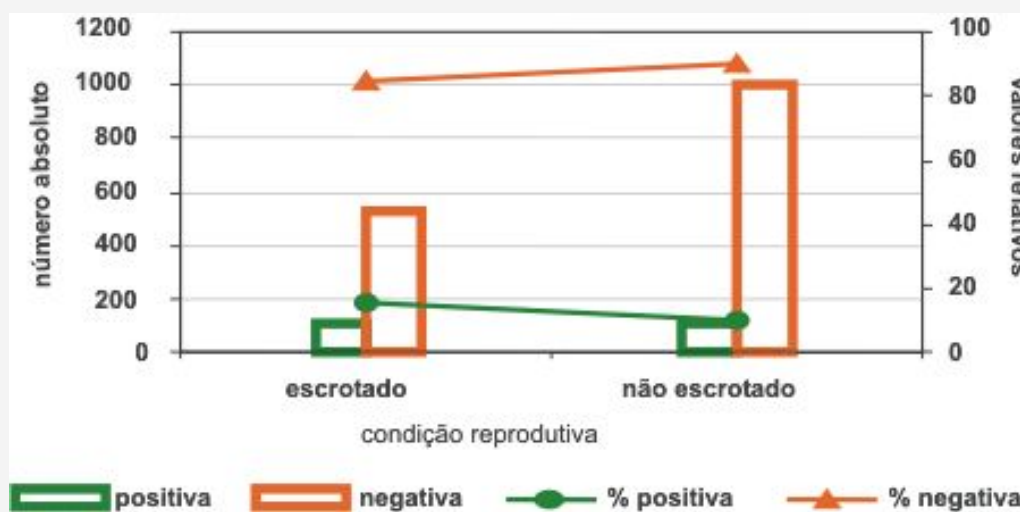


Figura 7. *Bolomys lasiurus* machos encontrados com anticorpos para hantavírus segundo a condição reprodutiva, 1998 a 2003.

Na Figura 8 temos a proporção de machos de *Bolomys lasiurus* infectados com relação à presença de cicatrizes. Verifica-se que a proporção de machos infectados é significativamente ($p<0,001$) maior nos roedores com cicatrizes (21,2%) do que nos sem cicatrizes (8,1%).

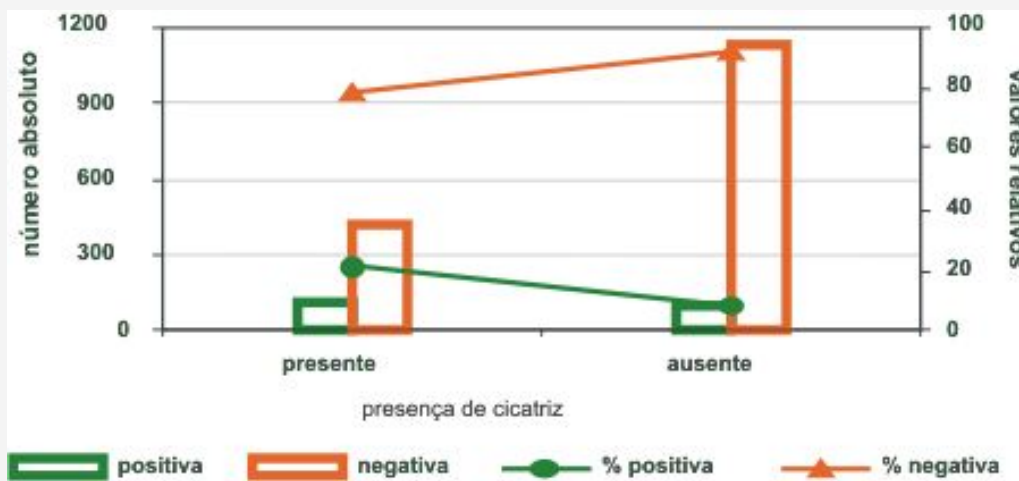


Figura 8. *Bolomys lasiurus* machos encontrados com anticorpos para hantavírus segundo a presença de cicatrizes, 1998 a 2003.

Quanto à proporção de fêmeas de *Bolomys lasiurus* infectadas segundo a idade, a Figura 9 retrata que a infecção é significativamente ($p < 0,001$) mais freqüente nas fêmeas adultas (13%) do que nas jovens (7%).

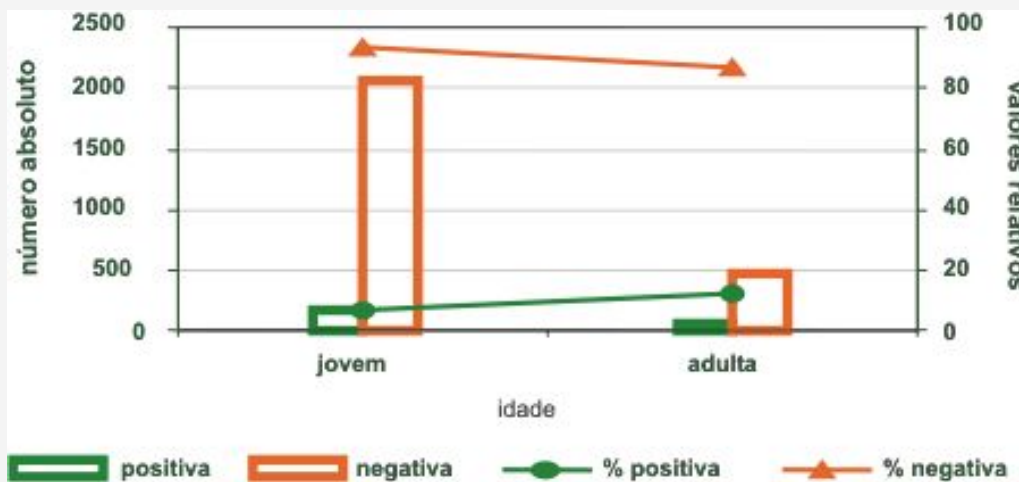


Figura 9. *Bolomys lasiurus* fêmeas encontradas com anticorpos para hantavírus segundo a idade, 1998 a 2003.

Na Figura 10 é descrita a variação sazonal da freqüência de infecção por hantavírus em fêmeas de *Bolomys lasiurus*. Percebe-se, com esta análise, que a infecção nas fêmeas é significativamente ($p < 0,001$) maior no verão (13,3%) e inverno (11,7%) do que na primavera (4,9%) e outono (6,0%).

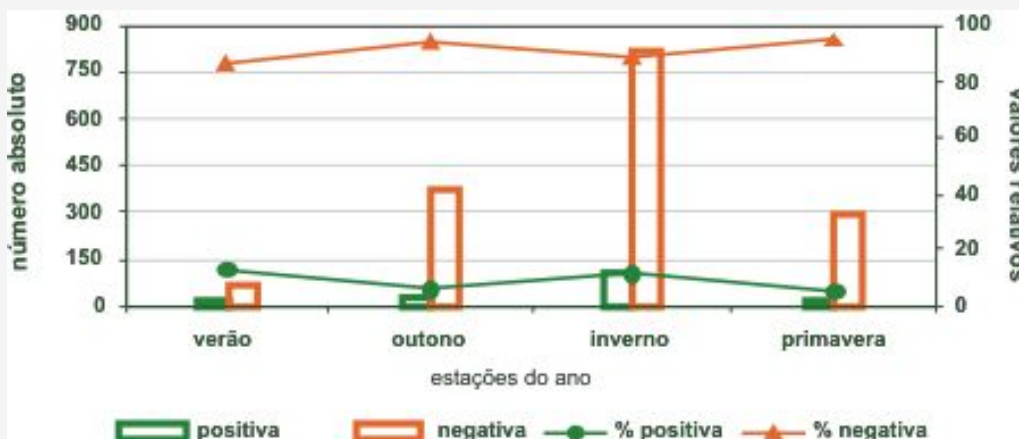


Figura 10. Distribuição de *Bolomys lasiurus* fêmeas encontradas com anticorpos para hantavírus segundo a estação do ano, 1998 a 2003.

A freqüência de anticorpos com relação às condições reprodutivas das fêmeas de *Bolomys lasiurus* é descrita na Figura 11. Nota-se uma pequena diferença percentual da freqüência de anticorpos em relação às fêmeas com vagina fechada (9,2%) e aberta (9,9%). Constatou-se que não há diferença estatística ($p=0,76$) para esta relação.

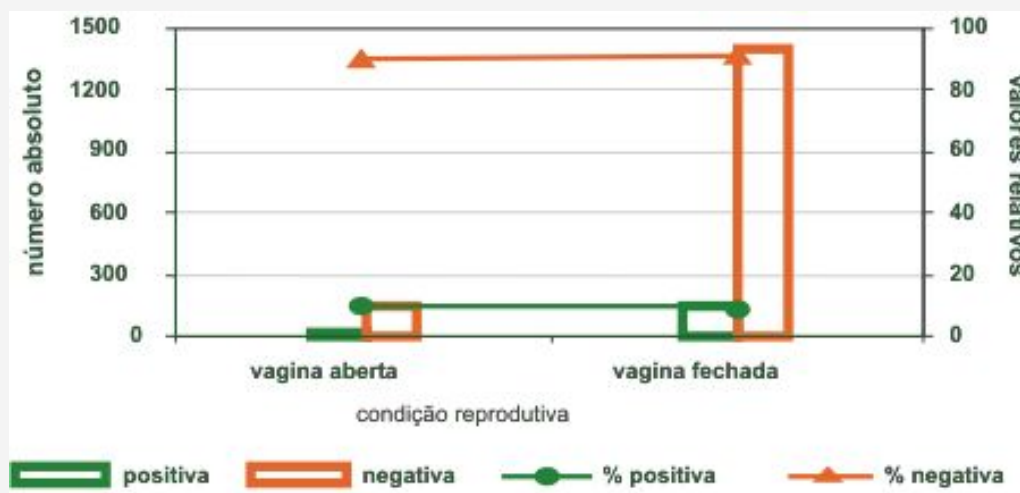


Figura 11. *Bolomys lasiurus* fêmeas encontradas com anticorpos para hantavírus segundo a condição reprodutiva, 1998 a 2003.

Temos na Figura 12 a proporção de fêmeas de *Bolomys lasiurus* encontradas embrionadas, com relação à infecção por hantavírus. Percebe-se que a infecção é significativamente ($p=0,017$) mais freqüente nas fêmeas embrionadas (14,9%) do que nas não embrionadas (8,7%).

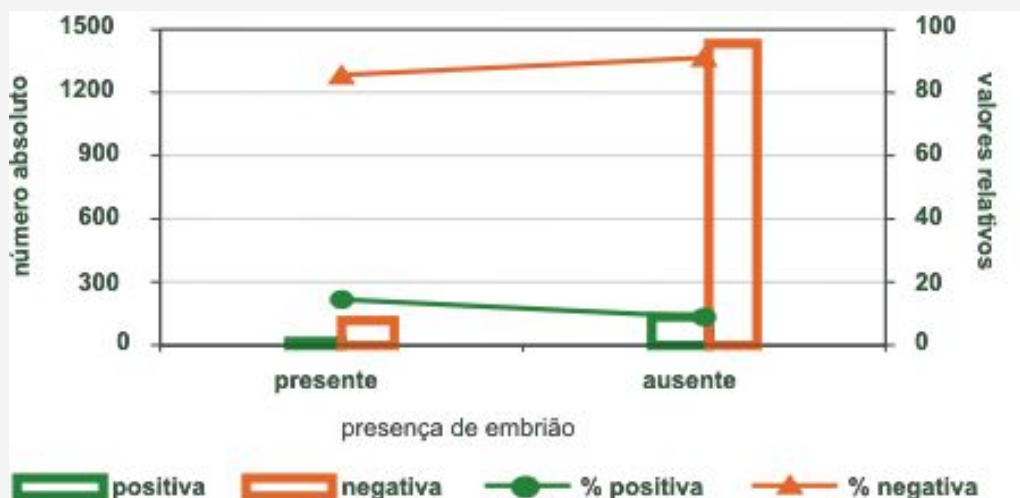


Figura 12. *Bolomys lasiurus* fêmeas embrionadas encontradas com anticorpos para hantavírus, 1998 a 2003.

Na Figura 13 descreve-se a freqüência de anticorpos nas fêmeas de *Bolomys lasiurus* com relação à presença de cicatrizes. Observa-se que as fêmeas com cicatrizes (12,8%) são significativamente ($p=0,003$) mais positivas para hantavírus do que as sem cicatrizes (8,0%).

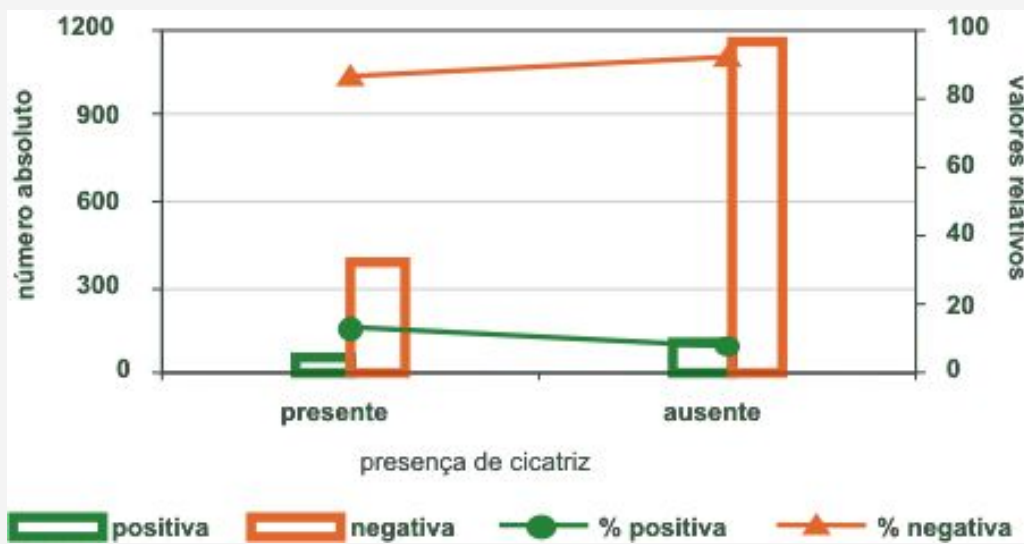


Figura 13. *Bolomys lasiurus* fêmeas encontradas com anticorpos para hantavírus segundo a presença de cicatrizes, 1998 a 2003.

As análises dos dados de *Oligoryzomys nigripes*, reservatório do vírus *Juquitiba*, segundo idade, distribuição sazonal, sexo e presença de cicatrizes estão referidas nas Figuras 14 a 26, a seguir expostas.

A Figura 14 retrata os dados referentes à freqüência de anticorpos em *Oligoryzomys nigripes* de acordo com a idade dos roedores. Observa-se que a proporção de adultos infectados (6,2%) é significativamente maior ($p < 0,001$) do que a de jovens (0,6%).

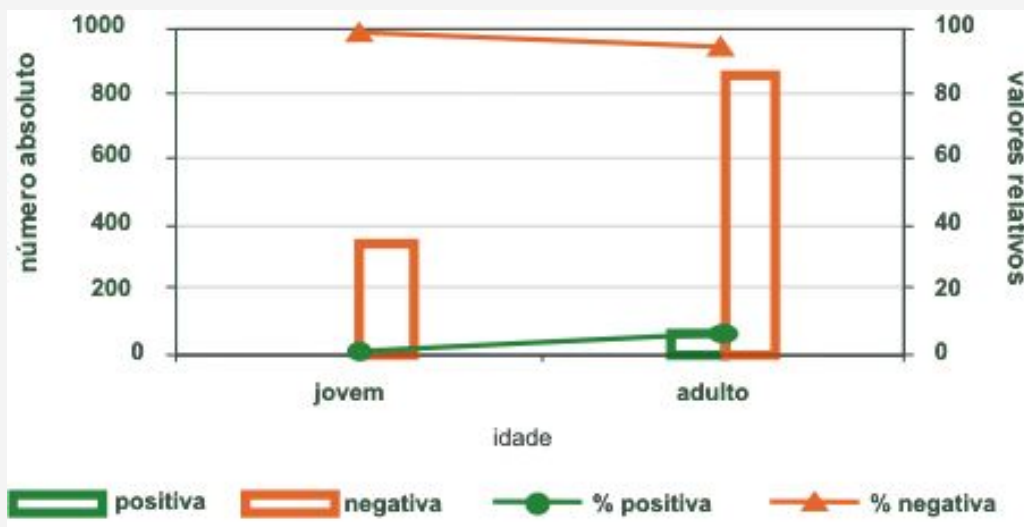


Figura 14. *Oligoryzomys nigripes* encontrados com anticorpos para hantavírus segundo a idade, 1998 a 2003.

Na Figura 15 ilustra-se a variação sazonal da proporção de *Oligoryzomys nigripes* infectados. Evidencia-se o significativo ($p < 0,001$) aumento na proporção de roedores infectados na primavera (10,7%) e inverno (3,3%) em relação ao outono (1,2%) e verão (0,0%).

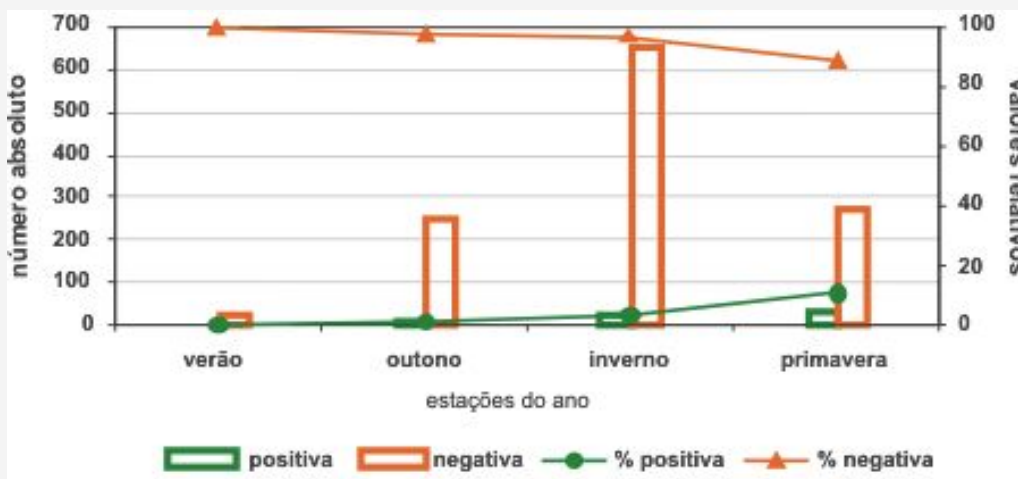


Figura 15. Distribuição de *Oligoryzomys nigripes* encontrados com anticorpos para hantavírus segundo a estação do ano, 1998 a 2003.

Pode ser visto na Figura 16 o percentual de *Oligoryzomys nigripes* encontrados infectados segundo o sexo. Observa-se que a proporção de machos naturalmente infectados por hantavírus (6,5%) é significativamente ($p < 0,001$) maior que a de fêmeas (1,9%).

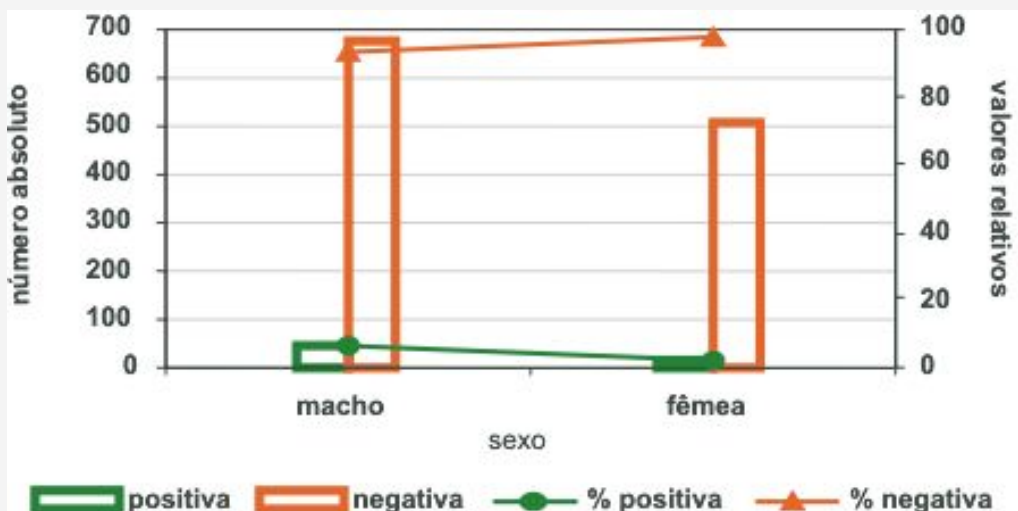


Figura 16. *Oligoryzomys nigripes* encontrados com anticorpos para hantavírus segundo o sexo, 1998 a 2003.

A Figura 17 apresenta o número de *Oligoryzomys nigripes* infectados de acordo com presença de cicatrizes. Observa-se que a freqüência de anticorpos é significativamente maior ($p < 0,001$) nos roedores com cicatrizes (10,3%) que nos sem cicatrizes (2,4%).

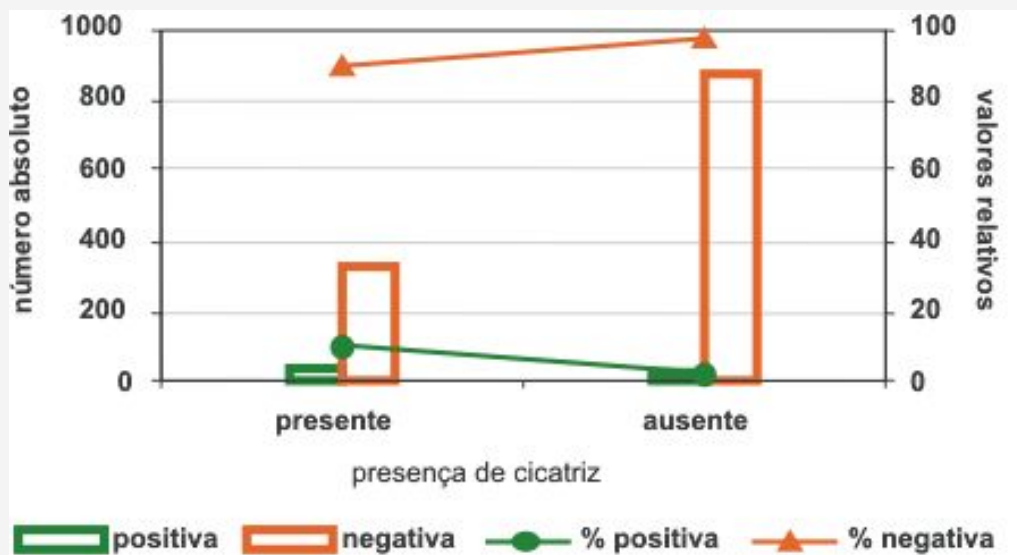


Figura 17. *Oligoryzomys nigripes* encontrados com anticorpos para hantavírus segundo a presença de cicatrizes, 1998 a 2003.

Temos na Figura 18 a proporção de machos de *Oligoryzomys nigripes* naturalmente infectados segundo a idade. Verifica-se que a proporção de machos adultos (8,4%) infectados é significativamente maior ($p < 0,001$) que a de jovens (0,6%).

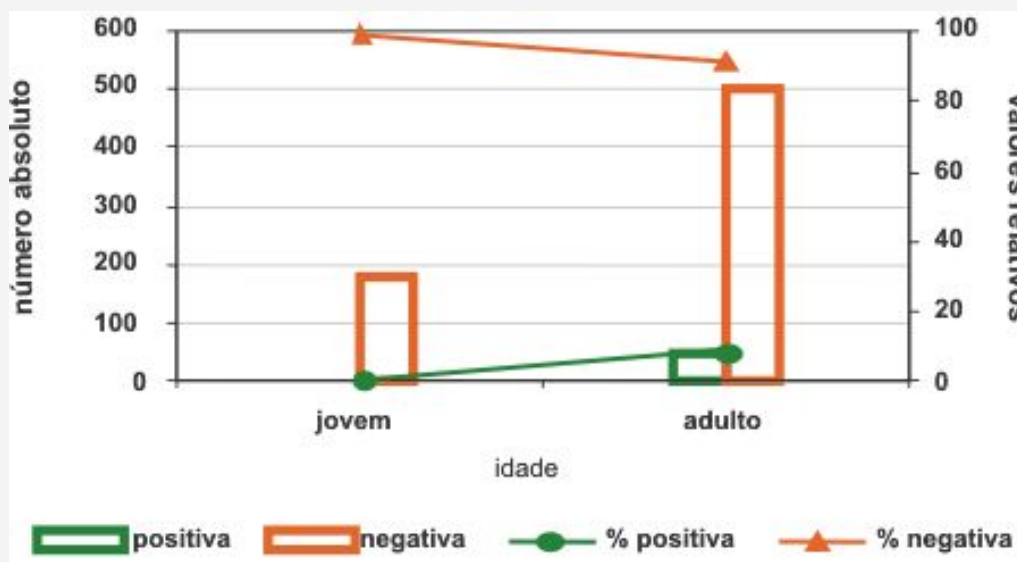


Figura 18. *Oligoryzomys nigripes* machos encontrados com anticorpos para hantavírus segundo a idade, 1998 a 2003.

A distribuição sazonal de machos de *Oligoryzomys nigripes* infectados descrita na Figura 19 evidencia o significativo ($p = 0,001$) aumento na proporção de roedores infectados na primavera (17,2%) e inverno (4,1%), sendo menor no outono (0,7%) e verão (0,0%).

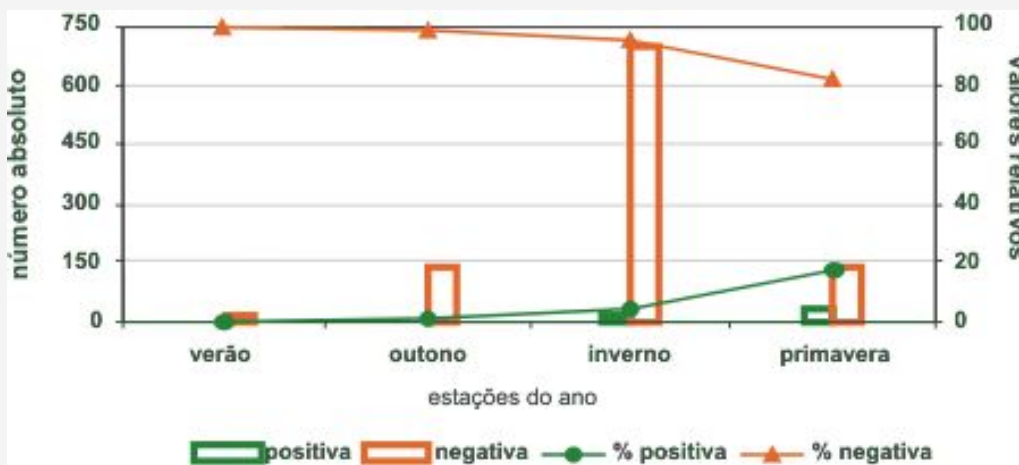


Figura 19. Distribuição de *Oligoryzomys nigripes* machos encontrados com anticorpos para hantavírus segundo a estação do ano, 1998 a 2003.

A ilustração a seguir (Figura 20) mostra os dados referentes à freqüência sazonal de machos de *Oligoryzomys nigripes* infectados encontrados escrotados. Observa-se que a proporção de machos escrotados (10,8%) é significativamente maior ($p < 0,001$) que os não escrotados (1,8%), demonstrando ser a proporção cinco vezes maior.



Figura 20. *Oligoryzomys nigripes* machos encontrados com anticorpos para hantavírus segundo a condição reprodutiva, 1998 a 2003.

A Figura 21 mostra que a proporção de machos de *Oligoryzomys nigripes* infectados naturalmente é significativamente maior ($p < 0,001$) nos roedores com cicatrizes (14,4%) do que nos sem cicatrizes (2,8%).

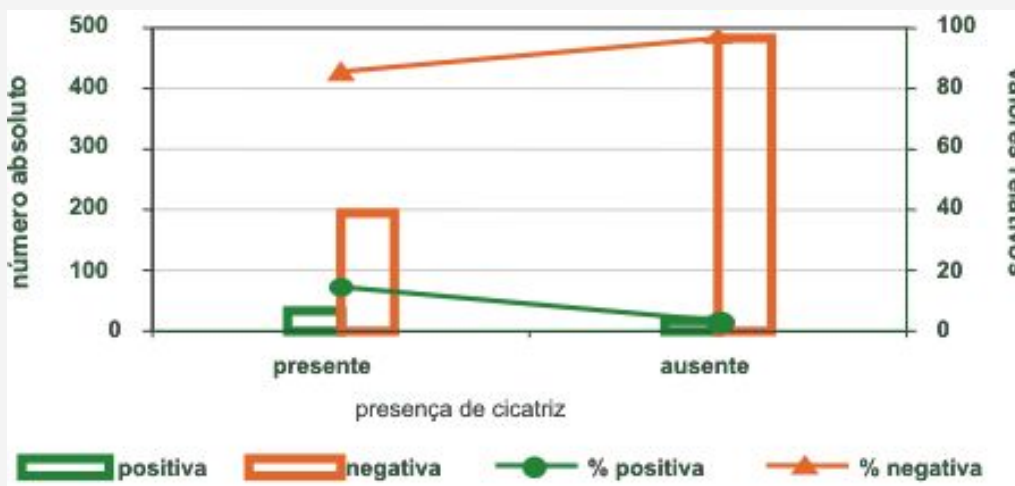


Figura 21. *Oligoryzomys nigripes* machos encontrados com anticorpos para hantavírus segundo a presença de cicatrizes, 1998 a 2003.

Na Figura 22 tem-se a proporção de fêmeas de *Oligoryzomys nigripes* infectadas naturalmente em relação à idade. Embora não sendo considerada significativa a diferença estatística entre as fêmeas jovens e adultas ($p=0,14$), observa-se que a proporção de infecção é maior nas adultas (2,6%) que nas jovens (0,6%).

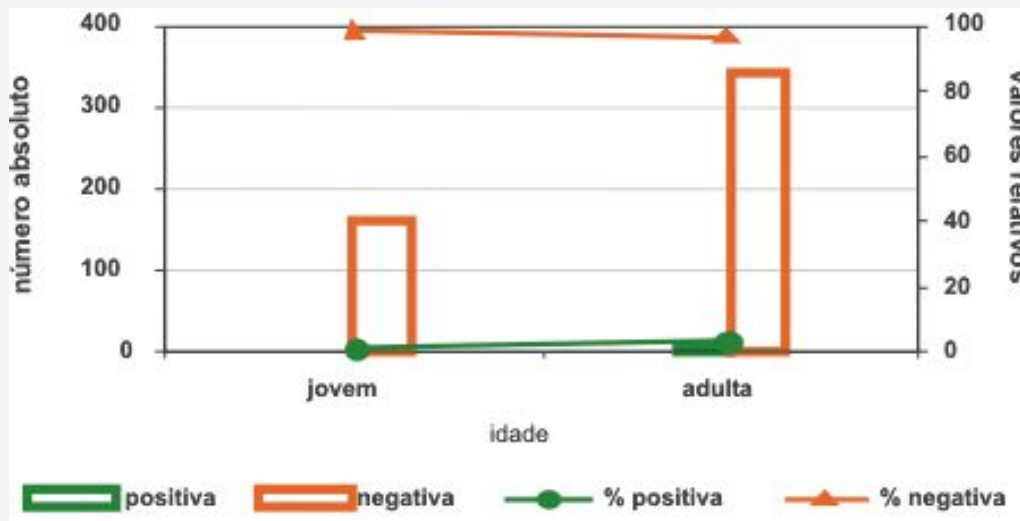


Figura 22. *Oligoryzomys nigripes* fêmeas encontradas com anticorpos para hantavírus segundo a idade, 1998 a 2003.

Na Figura 23, na qual se descreve a variação sazonal da freqüência da infecção de hantavírus em fêmeas de *Oligoryzomys nigripes*, percebe-se que a infecção não varia estatisticamente ($p=0,946$) durante o ano.

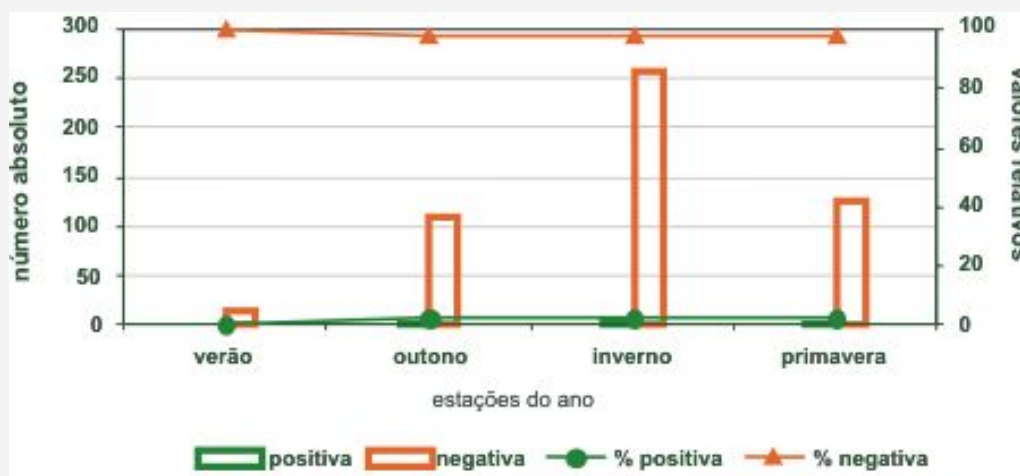


Figura 23. Distribuição de *Oligoryzomys nigripes* fêmeas encontradas com anticorpos para hantavírus segundo a estação do ano, 1998 a 2003.

A freqüência de anticorpos com relação às condições reprodutivas das fêmeas de *Oligoryzomys nigripes* é descrita na Figura 24. Observa-se, praticamente, a mesma proporção de fêmeas infectadas tanto com a vagina aberta (1,8%) quanto fechada (1,9%). A associação não foi estatisticamente significativa ($p=0,94$).

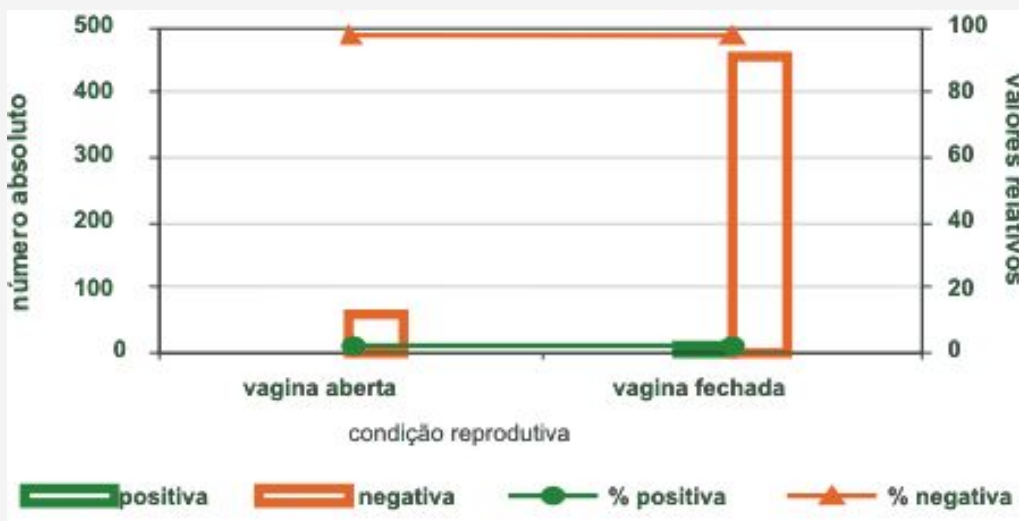


Figura 24. *Oligoryzomys nigripes* fêmeas encontradas com anticorpos para hantavírus segundo a condição reprodutiva, 1998 a 2003.

A proporção de fêmeas de *Oligoryzomys nigripes* encontradas embrionadas com relação à infecção por hantavírus é descrita na Figura 25. Observa-se que as embrionadas (1,2%) apresentaram menor positividade para hantavírus que as não embrionadas (2,1%), não atingindo nível de significância ($p=0,607$) que diferencie tal relação.



Figura 25. *Oligoryzomys nigripes* fêmeas embrionadas encontradas com anticorpos para hantavírus, 1998 a 2003.

Finalizando, na Figura 26 descreve-se a freqüência de anticorpos nas fêmeas de *Oligoryzomys nigripes* com relação à presença de cicatrizes. Nota-se que a proporção de fêmeas infectadas com cicatrizes (2,4%) é pouco maior do que as sem cicatrizes (1,8%). Esta diferença não foi estatisticamente significativa ($p=0,644$).



Figura 26. *Oligoryzomys nigripes* fêmeas encontradas com anticorpos para hantavírus segundo a presença de cicatrizes, 1998 a 2003.

Discussão

A correlação entre a soropositividade para hantavírus e a idade dos roedores identificados como reservatórios na natureza revelaram maior proporção de soropositividade em adultos de *Bolomys lasiurus* e *Oligoryzomys nigripes* em relação aos jovens (Figuras 1 e 14). Esta maior ocorrência de resultados positivos no que se refere à presença de anticorpos em roedores adultos, provavelmente, deve estar relacionada ao maior tempo de exposição ao vírus, porque os roedores mais velhos tiveram mais eventos de briga que os mais novos, conforme observado por Childs *et al.*^{2,3} para *Peromyscus maniculatus*, nos Estados Unidos.

Verifica-se que a sazonalidade da frequência de infecção dos roedores de ambas as espécies é distinta. Para *Bolomys lasiurus* o pico de infecção ocorre no inverno (Figura 2) enquanto para *Oligoryzomys nigripes* aparece na primavera (Figura 15). No caso de *Bolomys lasiurus*, a elevação da frequência de roedores com anticorpos no inverno pode ser explicada pela restrição do ambiente devido ao período seco (média de precipitação inferior a 60 mm), característico dessa estação do ano, que provoca o adensamento da população de roedores, principalmente no bioma Cerrado, como foi observado nos biomas norte-americanos por Engelthaler *et al.*⁵.

No caso de *Oligoryzomys nigripes*, o pico acontece na primavera, o que talvez possa estar relacionado ao início do período de procriação que induz os machos a se movimentarem mais na procura de fêmeas, favorecendo os encontros entre os roedores que, muitas vezes, levam a brigas por território e conquista de fêmeas. Considera-se a possibilidade desta espécie, característica da Mata Atlântica, não ser influenciada por fatores climáticos, da mesma forma que as espécies de Cerrado, visto que a Mata Atlântica, por ser considerada um ambiente mais estável que o Cerrado antropizado, não sofreria o fenômeno de retração da vegetação, o que restringiria os habitats^{1,11}.

Com relação à distribuição da frequência de roedores com anticorpos para hantavírus segundo o sexo, existe uma diferença entre as proporções de soropositividade dos machos e das fêmeas. Em *Bolomys lasiurus* (Figura 4) a diferença é um pouco maior nos machos e para *Oligoryzomys nigripes* (Figura 16), é três vezes maior do que nas fêmeas.

A maior ocorrência de soropositividade para hantavírus nos machos, provavelmente, está relacionada às brigas durante o período de procriação, pois há um aumento na procura de fêmeas receptivas que se encontram com a vagina aberta. Quando se compara as duas espécies reservatórias em relação às condições reprodutivas neste estudo, nota-se que 36% dos machos de *Bolomys lasiurus* são escrotados e apenas 10,1% das fêmeas são receptivas com a vagina aberta. Por outro lado, em *Oligoryzomys nigripes* esta diferença é ainda maior, sendo os machos escrotados 53,7% e as fêmeas receptivas somente 10,3%. Talvez isso explique porque a predominância de machos soropositivos em relação às fêmeas seja muito mais acentuada em *Oligoryzomys nigripes* do que em *Bolomys lasiurus*.

Ressalta-se que para as espécies reservatórias de hantavírus a condição reprodutiva nos machos é um fator determinante para infecção, isto é, os machos escrotados são encontrados mais soropositivos que os não escrotados (Figuras 8 e 21). No entanto, para as fêmeas não se verifica diferença na soropositividade entre as encontradas com a vagina aberta e fechada (Figuras 12 e 25). Este achado reforça a idéia de que, realmente, existem mais brigas entre os machos do que entre as fêmeas.

Conforme já mencionado, a competição por alimento, território e acasalamento está entre as causas que mais contribuem para as cicatrizes encontradas nos roedores capturados. Este parâmetro, associado à reprodução, foi analisado no presente estudo quanto à presença de anticorpos para hantavírus. Observou-se que a proporção de roedores com cicatrizes encontrados infectados é mais do que o dobro da verificada entre os sem cicatrizes. Quando se analisam as espécies de roedores reservatórios de hantavírus verifica-se que *Bolomys lasiurus* (Figura 5) apresenta o mesmo padrão das demais espécies. Por outro lado, para a espécie *Oligoryzomys nigripes* nota-se a predominância de quatro vezes mais roedores soropositivos com cicatrizes do que sem (Figura 17). Esta predominância também foi relatada por Childs *et al.*² nos Estados Unidos. Estes achados reforçam a idéia, que a forma principal de transmissão do hantavírus na natureza entre os roedores é por brigas.

Com base nas grandes diferenças existentes entre machos e fêmeas de roedores quanto à infecção por hantavírus, foram analisados separadamente por sexo os parâmetros de idade, sazonalidade e cicatriz nas espécies reservatórias de hantavírus. Nestas análises quase não se observou diferença dos padrões descritos para ambos os sexos. Porém, ressalta-se que para a espécie *Oligoryzomys nigripes* (Figura 18 a 26) as diferenças foram sempre mais acentuadas que em *Bolomys lasiurus* (Figuras 6 a 13).

Quando se comparou as fêmeas embrionadas de *Oligoryzomys nigripes* com relação à presença de anticorpos para hantavírus, notou-se uma predominância de não prenhas em relação às prenhas (Figura 25). Por outro lado, observou-se em *Bolomys lasiurus* percentual inverso, com as prenhas predominantes sobre as não prenhas (Figura 12).

Os motivos deste padrão de soropositividade devem-se provavelmente aos diferentes comportamentos observados nas fêmeas desses roedores. *Oligoryzomys nigripes* é uma espécie mais solitária, que constrói ninhos individuais em ocós de árvore ou moitas de capim, nos quais as fêmeas, quando prenhas, isolam-se dos demais indivíduos da espécie, defendendo o território do ninho. Por sua vez, *Bolomys lasiurus* formam grandes colônias, fossoriais, nas quais as fêmeas prenhas interagem intensamente dentro das galerias, onde ocorrem pequenas disputas territoriais. Provavelmente estes padrões de interação social são determinantes na diferença de frequência de infecção das fêmeas prenhas de ambas as espécies.

Em resumo, observa-se que a dinâmica ecológica está intimamente relacionada à transmissão e manutenção de hantavírus na natureza. Fica claro que a atividade reprodutiva é o que mais influencia a ocorrência de roedores soropositivos com cicatrizes devido às brigas por acasalamento.

Conclusões

Foi possível caracterizar os biomas nos quais os hantavírus foram encontrados no Brasil. Determinaram-se duas espécies de roedores associadas como reservatórios de hantavírus no País. O roedor *Bolomys lasiurus* para o vírus *Araraquara*, nas regiões de Cerrado, e o roedor *Oligoryzomys nigripes* para o vírus *Juquitiba*, na Mata Atlântica.

Foi possível determinar também que a presença de cicatrizes está intrinsecamente relacionada ao ciclo reprodutivo, tanto nos machos como nas fêmeas. A prevalência de hantavírus em roedores mostrou-se associada a fatores de idade e sexo, sendo mais comum nos adultos e discretamente mais freqüente nos machos.

A sazonalidade da infecção varia de acordo com a espécie de roedor reservatório, sendo que para o *Bolomys lasiurus* o pico da infecção ocorre no inverno e para *Oligoryzomys nigripes*, na primavera.

Percebeu-se também que a prevalência de anticorpos para hantavírus nestes animais é intrinsecamente relacionada com a presença de cicatrizes, corroborando relatos que indicam que a forma de transmissão entre os roedores se dá por meio de mordidas.

A prevalência da infecção por hantavírus entre roedores foi maior no Cerrado do que na Mata Atlântica, e a sazonalidade dessa prevalência determinou picos no inverno e na primavera, respectivamente. Esse é mais um retrato da existência de dois hantavírus distintos, associados a duas espécies de roedores, uma no Cerrado (*Bolomys lasiurus*) e outra na Mata Atlântica (*Oligoryzomys nigripes*).

Referências bibliográficas

1. Bonvicino CR, Lindbergh SM, Maroja LS. Small non-flying mammals from conserved and altered areas of Atlantic rainforest and Cerrado. Comments on their potential use for monitoring environment. **Braz J Biol** 2002; 62 (4B):764-74.
2. Childs JE, Korch GW, Glass GE, LeDuc JW, Shah KV. Epizootiology of hantavirus infections in Baltimore: Isolation of a virus from Norway rats, and characteristics of infected rat populations. **Amer Journ Epidem** 1987; 126(1):55-68.
3. Childs JE, Ksiazek TG, Spiropoulou CF, Krebs JW, Morzunov S, Maupin GO, Gage KL, Rollin PE,

- Sarisky J, Ensore RE, Frey JK, Peters CJ, Nichol ST. Serologic and genetic identification of *Peromyscus maniculatus* as the primary rodent reservoir for a new hantavirus in the southwestern United States. **J Infect Dis** 1994;169:1271-1280.
4. Childs JE, Mills JN, Glass FE. Rodent Borne Hemorrhagic Fever viruses: A special risk for mammalogists? **J of Mammal** 1995; 76(3):664-680.
 5. Engelthaler DM, Mosley DG, Cheek JE, Levy CE, Komatsu KK, Ettestad P, Davis T, Tanda DT, Miller L, Frampton JW, Porter R, Bryan RT. Climatic and environmental patterns associated with hantavirus pulmonary syndrome, Four Corners region, United States. **Emerg Infect Dis** 1999; 5(1):87-94.
 6. Hayssen V, van Tienhoven A, van Tienhoven A. Asdell's Patterns of Mammalian Reproduction: A Compendium of Species-Specific Data. Cornell University Ithaca and London: Press; 1993.1.023 p.
 7. Iversson LB, Travassos da Rosa APA, Rosa MDB, Lomar AV, Sasaki MGM, LeDuc JW. Infecção humana por hantavirus no sul e sudeste do Brasil. **The Lancet** 1994; 40(2):85-92.
 8. Johnson AM, Bowen MD, Ksiazek TG, Williams RJ, Gryan RT, Mills JN, Peters CJ, Nichol ST. Laguna Negra Virus associated with HPS in western Paraguay and Bolivia. **Virology** 1997; 238(1):115-127.
 9. Johnson AM, Souza LTM, Ferreira IB, Pereira LE, Ksiazek TG, Rollin PE, Peters CJ, Nichol ST. Genetic investigation of novel hantaviruses causing fatal HPS in Brazil. **J Med Virol** 1999; 59(4):527-535.
 10. Ksiazek TG, Peters CJ, Rollin PE, Zaki PE, Nichol ST, Spiropoulou CF, Morzunov S, Feldmann H, Sanchez A, Khan AS, Mahy BWJ, Wachsmuth K, Butler JC. Identification of a new north american hantavirus that causes acute pulmonary insufficiency. **Amer J of Trop Med and Hyg** 1995; 52:117-23.
 11. Mello D. Estudos populacionais de algumas espécies de roedores do cerrado (norte do município de Formosa, Goiás). **Rev Bras Biol** 1980; 40(4): 843-60.
 12. Nichol ST, Spiropoulou CF, Morzunov S, Rollin PE, Ksiazek TG, Feldmann H, Sanchez A, Childs JE, Zaki S, Peters CJ. Genetic identification of a novel Hantavirus associated with an outbreak of acute respiratory illness in the southwestern United States. **Science** 1993; 262:914-917.
 13. Parmenter RR, Brunt JW, Moore DI, Ernest S. The hantavirus epidemic in the Southwest Rodent population dynamics and the implications for transmission of hantavirus-associated adult respiratory distress syndrome (HARDS) in the Four Corners region. Sevilleta LTER publication nº 41. Albuquerque, NM: University of New Mexico; 1993.
 14. Pereira C. Sobre as "ratadas" no sul do Brasil e o ciclo vegetativo das taquaras. **Arq Inst Biol** 1941;12:175-200.
 15. Pereira, LE, Souza, LTM, Souza, RP, Bisordi, I, Suzuki, A, Katz, G. Histórico da Vigilância Eco-epidemiológica do Hantavirus no Brasil. **Revista da CIP** 1999; 2(3):5-12.
 16. Peters CJ. Hantavirus Pulmonary Syndrome in the Americas. En: Scheld WM, Craig WA, Hughes JB, eds. *Emerging Infections 2*. Washington, DC: ASM Press; 1998.
 17. Silva MV, Vasconcelos MJ, Hidalgo NTR, Veiga APR, Canzian M, Marotto, PCF, Lima VCP. Hantavirus Pulmonary syndrome. Report of the first three cases in São Paulo, Brazil. **Rev Inst Med Trop São Paulo** 1997; 39(4):231-234.
 18. Suzuki A, Bisordi I, Levis S, Garcia J, Pereira, LE, Souza RP, Sugahara TKN, Pini N, Enria D. Souza LTM. Araraquara and Juquitiba hantavirus in southern and southeastern Brazil: genetic identification of

their rodent reservoirs. **Emerg Infect Dis** 2004; 10(12):2127-2134.

19. Zaki SR, Greer PW, Coffield LM, Goldsmith CS, Nolte KB, Foucar K, Feddersen RM, Zumwalt RE, Miller GL, Khan AS. Hantavirus pulmonary syndrome: Pathogenesis of an emerging infectious disease. **American Journal of Pathology** 1995; 146:552-579.

20. Zaki SR, Khan AS, Goodman RA, Armstrong LR, Greer PW, Coffield LM, Ksiazek, TG, Rollin PE, Peters CJ, Khabbaz RF. Retrospective diagnosis of Hantavirus Pulmonary Syndrome, 1978-1993. **Arch Pathol Lab Med** 1996; 120:134-139.

Correspondência/Correspondence to:

Luiz Eloy Pereira
Instituto Adolfo Lutz
Av. Dr. Arnaldo, 355
CEP: 01246-902 – São Paulo/SP – Brasil
Tel.: 55 11 3068-2901
E-mail: lupereira@ial.sp.gov.br



Bepa
Av. Dr. Arnaldo, 351 - 1º andar, s. 135 – CEP: 01246-000
São Paulo - SP - tels.: (11) 3066-8823 / 3066-8825
e-mail: bepa@saude.sp.gov.br

Fale conosco

