

ISSN 1806 - 423 - X  
ISSN 1806 - 4272 – online

# BEPA 179

Volume 15 número 179 novembro/2018

# BEPA

## Boletim Epidemiológico Paulista

ISSN 1806-423-X

Volume 15 Nº 179

novembro de 2018

### Nesta edição

Diagnóstico de febre amarela em tecidos fixados em formalina e emblocados em parafina de primatas não humanos: a importância do exame histopatológico <i>Yellow Fever diagnosis in formalin fixed and paraffin embedded non-human primates' tissues: the importance of the histopathological examination</i> .....	1
10 de Novembro – Dia Mundial do HTLV <i>November 10 – HTLV World Day</i> .....	11
Situação Epidemiológica da SRAG-Influenza <i>Epidemiological Situation of SRAG-Influenza</i> .....	15
Avaliação <i>in vitro</i> da atividade antifúngica dos óleos essenciais de <i>Eugenia caryophyllus</i> , <i>Thymus vulgaris</i> e seus compostos químicos majoritários sobre <i>Cryptococcus neoformans</i> <i>In vitro evaluation of the antifungal activity of the essential oils of Eugenia caryophyllus, Thymus vulgaris and their chemical compounds on Cryptococcus neoformans</i> .....	31
Instruções aos Autores <i>Author's Instructions</i> .....	37

## Expediente



**COORDENADORIA DE  
CONTROLE DE DOENÇAS**

Av. Dr Arnaldo, 351

1º andar – sala 124

CEP: 01246-000 – Pacaembu

São Paulo/SP – Brasil

Tel.: 55 11 3066-8823/8824/8825

E-mail: [bepa@saude.sp.gov.br](mailto:bepa@saude.sp.gov.br)

<http://www.ccd.saude.sp.gov.br>

<http://ses.sp.bvs.br/php/index.php>

Os artigos publicados são de responsabilidade dos autores.

É permitida a reprodução parcial ou total desta obra, desde que citada a fonte e que não seja para venda ou fim comercial.

Para republicação deste material, solicitar autorização dos editores.

**Editor Geral: Marcos Boulos**

**Editor Executivo: Clélia Aranda**

**Editores Associados:**

Dalton Pereira Fonseca Junior – Sucen/SES-SP

Hélio Hehl Caiaffa Filho – IAL/CCD/SES-SP

Lilian Nunes Schiavon – CTD/CCD/SES-SP

Luciana Hardt – IP/CCD/SES-SP

Marcos da Cunha Lopes Virmond – ILSL/CCD/SES-SP

Maria Clara Gianna – CRT/DST/Aids/CCD/SES-SP

Maria Cristina Megid – CVS/CCD/SES-SP

Regiane Cardoso de Paula – CVE/CCD/SES-SP

**Comitê Editorial:**

Adriana Bugno – IAL/CCD/SES-SP

Angela Tayra – CRT/Aids/CCD/SES-SP

Cristiano Corrêa de Azevedo Marques – IB/SES-SP

Dalma da Silveira – CVS/CCD/SES-SP

Rubens Antônio da Silva – Sucen/SES-SP

Juliana Galera Castilho – IP/CCD/SES-SP

Maria Bernadete de Paula Eduardo – CVE/CCD/SES-SP

Maria de Fátima Costa Pires – PPG/CCD/SES-SP

Patrícia Sanmarco Rosa – ILSL/SES-SP

**Coordenação Editorial:**

Kátia Rocini

Sylia Rehder

Maria de Fátima Costa Pires

Lilian Nunes Schiavon

Mirthes Ueda

**Revisão:**

Kátia Rocini

**Projeto gráfico/editoração:**

Marcos Rosado

Maria Rita Negrão

**Centro de Produção e Divulgação Científica – CCD/SES-SP**

**Consultores Científicos:**

Alexandre Silva – CDC Atlanta

Carlos M. C. Branco Fortaleza – FM/Unesp/Botucatu-SP

Eliseu Alves Waldman – FSP/USP-SP

Expedito José de Albuquerque Luna – IMT/USP-SP

Gerusa Figueiredo – IMT/USP-SP

Gonzalo Vecina Neto – FSP-USP

Gustavo Romero – UnB/CNPQ

Hiro Goto – IMT/USP-SP

José Cássio de Moraes – FCM/SC-SP

José da Rocha Carvalheiro – Fiocruz-RJ

José da Silva Guedes – IB/SES-SP

Myrna Sabino – IAL/CCD/SES-SP

Paulo Roberto Teixeira – OMS

Ricardo Ishak – CNPQ/UF-Pa

Ricardo Kerti Mangabeira Albernaz – CCD/SES-SP

Roberto Focaccia – IER/SES-SP

Vilma Pinheiro Gawyszewsk – Opas

**Portal de Revistas - SES/Projeto Metodologia Scielo:**

Lilian Nunes Schiavon

Eliete Candida de Lima Cortez

**Centro de Documentação – CCD/SES-SP**

**CTP, Impressão e Acabamento:**

Imprensa Oficial do Estado S/A (IMESP)

**Disponível em:**

Portal de Revistas Saúde SP – <http://periodicos.ses.sp.bvs.br>



Acesse a versão eletrônica em:  
[www.ccd.saude.sp.gov.br](http://www.ccd.saude.sp.gov.br)

Rede de Informação e Conhecimento:  
<http://ses.sp.bvs.br/php/index.php>

Colabore com o BEPA:  
[bepa@saude.sp.gov.br](mailto:bepa@saude.sp.gov.br)

*Artigo original*

## **Diagnóstico de febre amarela em tecidos fixados em formalina e emblocados em parafina de primatas não humanos: a importância do exame histopatológico**

### *Yellow Fever diagnosis in formalin fixed and paraffin embedded non-human primates' tissues: the importance of the histopathological examination*

Natália C. C. de A. Fernandes<sup>1</sup>, Juliana M. Guerra<sup>1</sup>, Rodrigo A. Ressio<sup>1</sup>, Cinthya Cirqueira Borges<sup>1</sup>, Silvia D'Andretta Iglesias<sup>1</sup>, Cristina T. Kanamura<sup>1</sup>, Josué Díaz Delgado<sup>II</sup>, Patricia Sousa Gonçalves<sup>1</sup>, Marcelo Sansone<sup>1</sup>, Filipe Onishi Nagamori<sup>1</sup>, Isis Paixão de Jesus Rizkallah<sup>1</sup>, Mariane Ingara de Moraes Costa<sup>1</sup>, Simone Guimarães de Jesus<sup>1</sup>, Silvana Mello<sup>1</sup>, Júlia de Carvalho<sup>1</sup>, Rosângela Araujo<sup>1</sup>, Magda Almeida Montalvão<sup>1</sup>, Rosemeire Oliveira Lima Rodrigues<sup>1</sup>, Leonardo José Tadeu Araújo<sup>1</sup>, Sônia Maria Pereira de Oliveira<sup>1</sup> e José Luiz Catão Dias<sup>II</sup>.

<sup>1</sup>Centro de Patologia, Instituto Adolfo Lutz, Secretaria de Estado da Saúde. <sup>II</sup>Laboratório de Patologia Comparada de Animais Selvagens (LAPCOM), Departamento de Patologia, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, SP, Brasil

## **RESUMO**

Os casos de óbitos ou convalescência de primatas não-humanos (PNH) por febre amarela (epizootias) apontam a circulação do vírus em uma determinada região e podem anteceder a ocorrência dessa doença em humanos. Portanto, o diagnóstico adequado desta enfermidade nos diferentes gêneros de PNH presentes no Brasil é importante para adoção de medidas estratégicas de controle da FA, como a vacinação. O Centro de Patologia do Instituto Adolfo Lutz (CPA-IAL), laboratório de referência macrorregional, participa do Programa de Vigilância de Epizootias em PNH do Ministério da Saúde, por meio da realização de exames histopatológico e imuno-histoquímico para FA. Este trabalho apresenta a casuística recebida e analisada no CPA-IAL durante o ano de 2017. Foram avaliadas amostras de 2.171 PNH, com resultado de 626 positivas no exame imuno-histoquímico do fígado (28,83%). Destas, o estado de preservação foi satisfatório em 580 e insatisfatório devido à autólise em 132. Das satisfatórias, 577 (99,48%) exibiram alterações histopatológicas típicas de FA no fígado, incluindo necrose/apoptose maciça com presença de corpúsculos de Councilman-Rocha Lima, degeneração goticular e escasso infiltrado inflamatório. Das insatisfatórias, 34,85% foram positivas. A concordância entre histopatologia e IHQ foi muito boa ( $\kappa=0,98$ ). Os achados histológicos hepáticos de FA são conclusivos e podem servir como método de triagem para realização da imuno-histoquímica, sendo essas ferramentas diagnósticas essenciais para o diagnóstico e monitoramento da doença, mesmo em casos de autólise tecidual.

**PALAVRAS-CHAVE:** Arboviroses. Diagnóstico. Flavivirus. Histologia. Zoonoses.

**ABSTRACT**

Epizootics of Yellow Fever in non-human primates (NHP) are indicative of viral circulation of the Yellow Fever virus (YFV) and may predict the occurrence of human cases. Therefore, adequate diagnosis of the disease in the different genera of NHP occurring in Brazil is important for YF control strategies, such as vaccination. The Pathology Center of the Adolfo Lutz Institute (CPA-IAL), a macro-regional reference laboratory, participates in the Epizootic Surveillance Program through histopathological and immunohistochemical exams for YF. This study presents the caseload received and analyzed at the CPA-IAL during 2017, with especial emphasis on YF immunopositivity in the liver. Samples from 2,171 NHPs were evaluated in 2017. From these, 626 (28.83%) were positive by immunohistochemistry; 580 were well preserved and 132 were autolyzed. Of those well preserved, 577 (99.48%) exhibited typical YF histopathological changes in the liver, including massive necrosis/apoptosis with Councilman-Rocha Lima bodies, steatosis and mild inflammatory infiltrate. Histopathology and IHQ agreement was very good ( $\kappa = 0,98$ ). Anatomopathological tools are pivotal for the diagnosis and monitoring of YF in NHP and may prove of great value even in carcasses with advanced autolysis. The YF-associated histopathological findings in liver of NHP are conclusive and should precede immunohistochemical screening method.

**KEYWORDS:** Arboviroses. Diagnostic. Flavivirus. Histology. Zoonosis.

**INTRODUÇÃO**

Ocorre no Brasil, desde o final de 2016, um aumento importante na circulação do vírus da febre amarela (FA), com avanço da doença na região Sudeste do país em áreas sem circulação viral nos últimos 100 anos, incluindo os Estados de Minas Gerais, Espírito Santo, Rio de Janeiro e São Paulo.<sup>1</sup> No Estado de São Paulo, foram registrados, no período de janeiro a outubro de 2017, 52 casos de FA silvestre em humanos, 23 deles autóctones, e 1.440 epizootias, com um total de 1.625 primatas não humanos (PNH) doentes ou mortos.<sup>2</sup>

A FA é uma doença viral não contagiosa, zoonótica, causada por um arbovírus do gênero *Flavivirus*, família *Flaviviridae*, transmitida por inseto artrópode e mantida em ciclos silvestre e urbano.<sup>3,4</sup> A existência de ciclo silvático

de FA com papel de PNH na sua manutenção foi descrita na década de 30.<sup>5</sup> Alguns gêneros de PNH, como *Alouatta*, são extremamente susceptíveis a doença, com altas taxas de letalidade.<sup>6</sup> Devido a esta susceptibilidade, foi estabelecido o programa de vigilância passiva de epizootias de PNH como evento sentinela de risco para Saúde Pública, conforme consta na portaria MS/GM nº 104 de 25 de janeiro de 2011.<sup>7</sup> A presença de óbitos de PNH por FA sinaliza a circulação do vírus e auxilia no estabelecimento de medidas ativas para prevenir a doença no homem, como imunização, educação da população e eliminação de vetor. A morte dos animais representa um alerta para as autoridades de Saúde Pública, ativando ações que tentam impedir a reurbanização da doença,

uma vez que o ciclo silvestre não é passível de eliminação.<sup>8</sup>

A confirmação da epizootia por FA pode ser realizada por vínculo epidemiológico, quando associada à detecção viral em vetores, PNH ou em humanos no local provável de infecção, ou laboratorialmente. A confirmação por laboratório ocorre quando há resultado conclusivo de FA em pelo menos um PNH envolvido na epizootia.<sup>7</sup>

O diagnóstico conclusivo de FA é realizado por diferentes métodos: detecção do RNA viral, por meio da técnica de reação em cadeia da polimerase reversa quantitativa (RT-qPCR) e/ou detecção do antígeno viral em tecidos parafinados por imuno-histoquímica (IHQ),<sup>7</sup> notadamente o fígado. No entanto, as lesões decorrentes da infecção por FA por meio do exame histopatológico do fígado corado em (Hematoxilina & Eosina) H&E podem sugerir a presença da doença.

A RT-qPCR pode ser realizada em amostras de sangue colhidas de animais doentes ou de sangue e/ou vísceras de PNH mortos. É exigida a colheita com assepsia, conservação imediata da amostra em gelo seco ou nitrogênio líquido e transporte rápido para o laboratório de referência, ou congelamento em freezer -70°C.<sup>7</sup> Os exames histopatológico e imuno-histoquímico são realizados em amostras de vísceras de animais mortos fixadas em formalina e emblocadas em parafina. A fixação da amostra tem como objetivo a manutenção das características morfológicas teciduais com prevenção da autólise e da proliferação de microorganismos que promovem a putrefação<sup>9</sup> e a solução de formalina 10% é a mais frequentemente utilizada para o diagnóstico anátomo-patológico.<sup>10</sup> As amostras para o

diagnóstico de FA devem ser colhidas em até 48 horas após o óbito do animal e, uma vez fixadas, mantidas e transportadas à temperatura ambiente, obrigatoriamente com representação do fígado, órgão alvo para detecção do vírus. Não é necessário que os instrumentos de colheita ou frascos sejam estéreis.

Este trabalho tem como objetivo apresentar a casuística de PNH recebidos no Centro de Patologia do Instituto Adolfo Lutz durante o ano de 2017 (CPA-IAL) e os resultados obtidos nos exames histopatológicos e imuno-histoquímicos, demonstrando a utilização das ferramentas anátomo-patológicas na vigilância de FA num laboratório de patologia de Saúde Pública.

## METODOLOGIA

Este é um estudo transversal retrospectivo, em que foram levantados no Sistema de Informação e Gestão Hospitalar (SIGH) os laudos dos exames histopatológicos e imuno-histoquímicos de PNH realizados no CPA-IAL, laboratório de referência macrorregional para diagnóstico de FA, recebidos no ano de 2017, de janeiro a dezembro, por meio do Programa de Vigilância de Epizootias, procedentes de vários estados. O estudo foi aprovado na comissão de ética em uso de animais do Instituto Adolfo Lutz (número 11/2016). Os exames histopatológico e imuno-histoquímico foram realizados de acordo com os procedimentos padrões descritos no Programa de Gestão da Qualidade Laboratorial do Núcleo de Anatomia Patológica, que envolvem processamento histológico de fragmentos de órgãos fixados em formalina, com obtenção de lâminas coradas em H&E. Considerou-se resultado “positivo”

na histopatologia fígados exibindo alterações clássicas de FA, ressaltando-se necrose/apoptose abundante zonal com presença de corpúsculos de Councilman-Rocha Lima, os quais são considerados sugestivos de FA na rotina diagnóstica. Para IHQ, apenas os fragmentos de fígado foram processados, com incubação com anticorpo anti-FA (policlonal, produzido pela virologia do IAL, camundongo) seguida por amplificação com micropolímeros conjugados com enzimas e revelação com substâncias cromógenas. Todos os casos foram avaliados sob microscopia óptica, por dois observadores, com descrição histopatológica e reação imuno-histoquímica classificada como positiva, negativa, insatisfatória ou inadequada, conforme detalhado na figura 1. Os dados foram compilados e tabelas e gráficos foram formulados em Excel (Microsoft, Califórnia, EUA). O índice de concordância (kappa) entre o exame histopatológico e imuno-histoquímico foi calculado com o programa Quick calcs® (Graphpad® softwares, Califórnia, EUA).

## RESULTADOS

Foram recebidas amostras de 2.171 primatas não humanos no ano de 2017, provenientes dos Estados de São Paulo (n=1.997), Santa Catarina (n=47), Paraná (n=43), Rio Grande do Sul (n=42), Espírito Santo (n=24), Mato Grosso do Sul (n=8), Paraíba (n=6), Sergipe (n=4). Quanto aos gêneros, foram 935 (43,07%) amostras de *Callithrix*, 718 (33,07%) de *Alouatta*, 28 (1,29%) de *Callicebus*, 95 (4,38%) de *Sapajus* e 395 (18,19%) não identificados quanto ao gênero.

Destas, 1.980 (1.980/2.171 ou 91,20%) amostras apresentaram-se satisfatórias para análise histopatológica e IHQ, 132 (132/2.171 ou 6,00%) marcadamente autolisadas e 59 (59/2.171 ou 2,80%) inadequadas, devido a não representação do fígado. 580 (580/1.980 ou 29,29%) e 46 (46/132 ou 34,85%) amostras foram positivas dentre as satisfatórias e as autolisadas, respectivamente (tabela 1).

**Figura 1.** Quadro representativo das categorias diagnósticas de imuno-histoquímica de Febre Amarela.

<b>Categoria diagnóstica</b>	<b>Aspecto microscópico</b>	<b>Significado</b>
<b>Positivo</b>	Precipitação de cromógeno acastanhado ou avermelhado intracitoplasmático em hepatócitos.	Presença de antígeno viral de Febre Amarela em hepatócitos.
<b>Negativo</b>	Ausência de precipitação de cromógeno nos hepatócitos.	Antígeno viral de Febre Amarela não detectável em hepatócitos.
<b>Insatisfatório</b>	Ausência de precipitação de cromógeno com indistinção dos componentes celulares devido à autólise.	A autólise marcante não permite afirmar que a ausência de precipitação de cromógeno indique ausência de antígeno viral, podendo representar falso negativo.
<b>Inadequado</b>	Impossibilidade de realizar a imuno-histoquímica devido à ausência de fígado.	A ausência de fígado não permite inferir sobre presença ou ausência de antígeno viral.

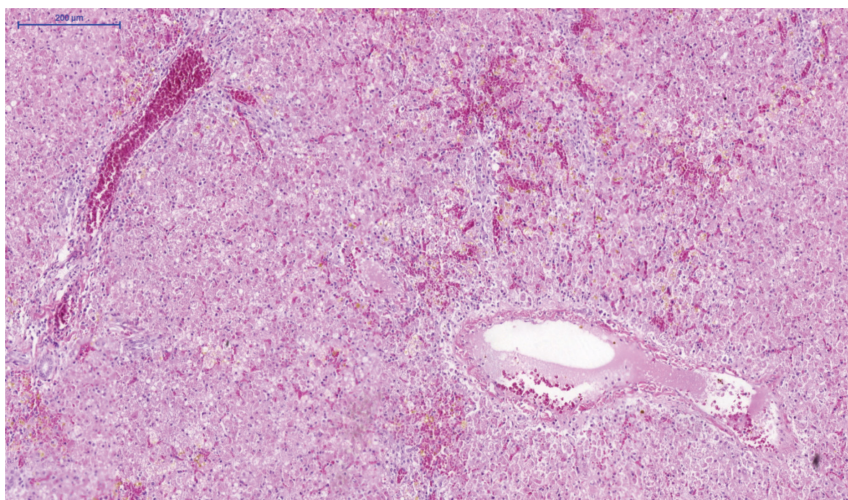


**Tabela 1.** Frequência da positividade para febre amarela na imuno-histoquímica de acordo com a satisfatoriedade da amostra. Instituto Adolfo Lutz, 2018

	Positivos	%	Negativos	%	Inadequados ou insatisfatórios	%	Total
Satisfatórios	580	29,29	1400	70,71	0	0	1.980
Autolisados	46	34,85	0	0	86	65,15	132
Não enviado fígado	0	0	0	0	59	100	59
<b>Total</b>	<b>626</b>	<b>28,83</b>	<b>1.400</b>	<b>64,49</b>	<b>145</b>	<b>6,68</b>	<b>2.171</b>

Histologicamente, 577 (577/580 ou 99,48%) dos casos positivos, com análise satisfatória, apresentaram achados morfológicos clássicos compatíveis com FA, que incluíram esteatose macro e/ou microgoticular em intensidades variáveis, necrose/apoptose zonal, predominantemente médio-zonal, a maciça, com presença de corpúsculos hipereosinofílicos arredondados (corpúsculos de Councilman-Rocha Lima) e discreto infiltrado inflamatório (figura 2). Os três casos histologicamente distintos e positivos na IHQ, apesar de não exibirem os achados morfológicos típicos, apresentaram corpúsculos apoptóticos (2/3) e hepatite necrotizante discreta (1/3). Treze casos satisfatórios (13/1400 ou 0,93%) apresentaram quadro morfológico hepático suspeito para FA, mas foram negativos para FA na IHQ.

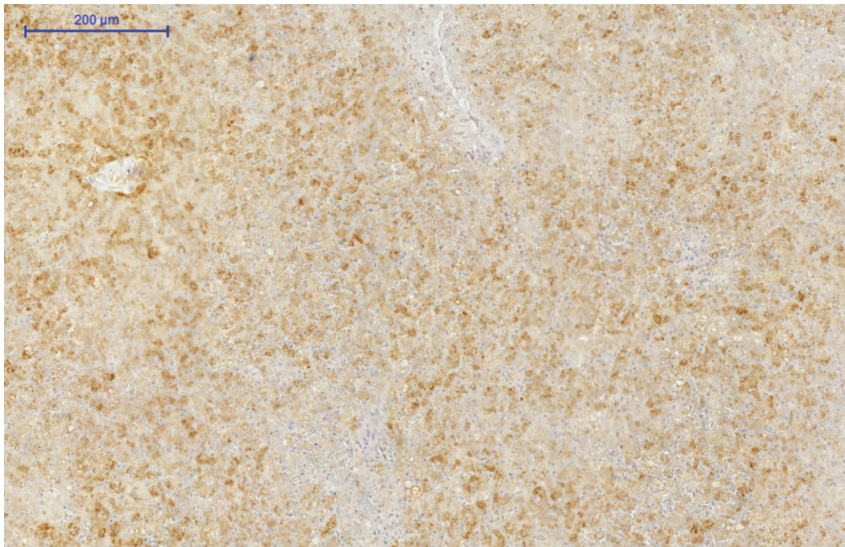
A análise histopatológica foi insatisfatória nos casos marcadamente autolisados,

**Figura 2.** *Alouatta* spp, fotomicrografia de fígado, coloração em H&E. Achados histológicos compatíveis com FA, em que há necrose/apoptose maciça de hepatócitos. Instituto Adolfo Lutz, 2018

entretanto, ocasionalmente observou-se nos casos positivos a presença de estruturas hipereosinofílicas compatíveis com corpúsculos de Councilman-Rocha.

A IHQ para FA foi apenas realizada no fígado, onde há a maior concentração de antígenos virais, portanto, os casos em que fragmentos de fígado não foram encaminhados para análise foram considerados inadequados para a técnica. Os casos positivos apresentaram quantidade moderada a abundante de antígeno viral, com imunorreatividade intensa, principalmente nas células mais preservadas localizadas ao redor do espaço porta (figura 3). Nos casos autolisados, a intensidade da imunomarcagem foi mais fraca e, por vezes, focal; entretanto, mesmo nestas condições, permitiu o diagnóstico IHQ de FA. Nenhum caso positivo, o qual estivesse satisfatório para a análise, exibiu ausência de alterações histopatológicas, evidenciando excelente correlação entre histopatologia e IHQ. A concordância entre a histopatologia e a IHQ foi muito boa (99,19% de concordância), com kappa = 0,98.





**Figura 3.** *Alouatta* spp, fotomicrografia de fígado, imuno-histoquímica com anticorpo anti-febre amarela (policlonal, *in house*), contra-coloração com hematoxilina. Deposição de cromógeno acastanhado em citoplasma de hepatócitos em moderada quantidade, indicando a positividade

## DISCUSSÃO

Este estudo apresentou a casuística de epizootias de PNH recebidos e avaliados morfológicamente e por IHQ no CPA-IAL. A histopatologia é uma ferramenta importante para o diagnóstico de FA, uma vez que a doença exibe padrão morfológico típico de lesão hepática, com morte celular hepatocitária zonal intensa, predominantemente mediozonal, esteatose macro e microgoticular, escassez de infiltrado inflamatório e presença de corpúsculos arredondados hipereosinofílicos, denominados corpúsculos de Councilman-Rocha Lima.<sup>11,12</sup> Vieira et al<sup>11</sup> observaram em 10 casos de FA em humanos, morte celular hepatocitária com presença de corpúsculos hipereosinofílicos em todos os casos. Quaresma et al.<sup>12</sup> também descreveram presença dos corpúsculos em 100% de amostras avaliadas de 53 pacientes humanos com FA. Em PNH, foi observada presença de corpúsculos de Councilman-Rocha Lima em 74,5% dos casos de *Alouatta* spp. positivos para FA.<sup>13</sup> No presente estudo, 99,48% dos casos positivos para FA, adequados para análise histopatológica, apresentaram achados compatíveis com a doença, com

presença de morte celular zonal abundante. Dois casos adicionais, apesar de não exibirem padrão típico nas secções avaliadas de fígado, apresentaram corpúsculos hipereosinofílicos em discreta quantidade, totalizando 99,83% de casos com presença de corpúsculos de Councilman-Rocha Lima.

A IHQ mostrou-se uma ferramenta importante para confirmação do diagnóstico morfológico de FA, visto que outras enfermidades infecciosas podem também apresentar hepatite necrotizante, como toxoplasmose,<sup>14</sup> além de corpúsculos hipereosinofílicos, os quais podem ser observados nas hepatites dos calitriquídeos e outras enfermidades hepáticas.<sup>11,15</sup> No presente estudo, 13 casos exibiram alterações morfológicas suspeitas para FA na histopatologia, mas foram descartados pelo exame IHQ, evidenciando a necessidade da detecção viral para conclusão diagnóstica dos suspeitos.

A presença do antígeno viral é detectada no fígado, com frequência baixa descrita também no rim e coração de humanos.<sup>16</sup> Deste modo,

no CPA-IAL, o fígado é órgão obrigatório para o diagnóstico da enfermidade, justificando o resultado inadequado em casos em que o órgão não foi submetido. Futuramente, o grupo pretende avaliar sistematicamente a imunomarcagem em outros tecidos nos casos de primatas não-humanos, apesar de não ter observado, até o momento, de modo empírico, marcação consistente e frequente em qualquer outro órgão. Apesar disto, a avaliação histopatológica de outros tecidos auxilia o patologista na conclusão diagnóstica do caso, principalmente no estabelecimento de diferenças e diagnóstico de outras enfermidades, as quais também podem ser zoonóticas.

Outro fator limitante para o diagnóstico de FA é a autólise da amostra, por fixação tardia do material ou inadequada, como por congelamento. A autólise avançada torna insatisfatória a avaliação histopatológica e prejudica a análise IHQ, entretanto, 34,85% dos casos autolisados exibiram positividade consistente, mostrando que a técnica é válida mesmo nestas situações, conforme já relatado anteriormente.<sup>17,18</sup>

A histopatologia pode ser empregada como uma ferramenta importante para triagem dos casos de PNH, realizando-se IHQ apenas das amostras com alterações microscópicas hepáticas suspeitas, especialmente presença de corpúsculos de Councilman-Rocha Lima, visto que todos os casos positivos para FA apresentaram algum grau de alteração histopatológica e observou-se uma concordância muito boa entre os métodos. Esta proposta refere-se apenas à avaliação dos blocos parafinados, mantendo-se, em paralelo, sempre que possível, a detecção do vírus por meio do RT-qPCR, conforme

preconizado pelo programa de vigilância de epizootias.<sup>7</sup> O patologista, ao realizar a análise microscópica, deve ser criterioso e selecionar não apenas os casos clássicos, mas também aqueles que exibam presença de corpúsculos de Councilman-Rocha Lima em algum grau. Este cuidado deve ser redobrado nos períodos interepidêmicos, pois o observador pode ser tendencioso ao resultado “não suspeito”, principalmente naqueles casos com achados mais discretos. Os tecidos que apresentarem autólise avançada na histologia devem ser avaliados em sua totalidade pela IHQ, devido à presença de antígeno viral detectável pelo método em circunstâncias que impossibilitaram uma classificação morfológica adequada pela coloração de H&E. O exame IHQ é mais oneroso, com execução mais complexa e longa. Restringi-lo apenas aos casos suspeitos, duvidosos ou insatisfatórios na histologia reduziria o tempo de liberação dos casos negativos e os custos com os exames de epizootias de PNH. É importante evidenciar que, para uma análise adequada e triagem dos casos por histopatologia, é fundamental um profissional capacitado e especializado para tal finalidade, no caso, um médico veterinário patologista. Ambos os exames, histopatologia e IHQ, exigem fixação na formalina e conservação e transporte a temperatura ambiente, o que torna o encaminhamento mais simples. Localidades distantes do laboratório de referência, inclusive de outros estados, podem enviar as amostras sem risco de prejuízo de análise, uma vez que a fixação no momento da colheita tenha sido feita da forma correta.

Ressalta-se que, idealmente, a vigilância de epizootias deve ser realizada por meio

de métodos adicionais à avaliação do bloco parafinado, como a técnica de RT-qPCR a partir do material fresco congelado, e que a proposta da histopatologia como triagem não se aplica aos exames moleculares, visto que eles não foram abordados nesta análise. A técnica de RT-qPCR é um método sensível e específico, que pode apontar casos adicionais de FA não detectados por outros métodos diagnósticos, incluindo histopatológico e imuno-histoquímico, especialmente em fases virêmicas ainda sem manifestação da doença.<sup>19</sup> O isolamento viral, apesar de menos empregado em larga escala na rotina diagnóstica, permite estudos experimentais complementares e aplicação de técnicas de sequenciamento, as quais podem revelar informações importantes sobre a dispersão do vírus e auxiliar na compreensão dos surtos de FA.<sup>20</sup> Uma vigilância acurada de epizootias necessita de visão multidisciplinar, com emprego de diferentes técnicas e complementada pela avaliação de vetores e de casos humanos.

Como limitação deste estudo, não foi realizada a avaliação comparativa entre os diferentes gêneros de primatas quanto aos achados histológicos, entretanto este tópico merece investigações futuras, as quais serão conduzidas pelo grupo.

## CONCLUSÃO

Os exames histopatológico e IHQ, em conjunto, são métodos importantes para diagnóstico de FA para o programa de Vigilância de Epizootias, com preservação das amostras em uma solução de fácil acesso, a formalina 10%, com manutenção e transporte à temperatura ambiente. Houve concordância muito boa entre a histopatologia e a IHQ, indicando que a histopatologia pode ser utilizada como método de triagem para a realização da IHQ em epizootias, permitindo um uso racional e criterioso dos recursos nos laboratórios de referência de patologia do Sistema Único de Saúde. Ressalta-se também a importância do médico veterinário patologista no laboratório de Saúde Pública, especialmente na vigilância de epizootias.

## Agradecimentos

Aos profissionais do Centro de Patologia do Instituto Adolfo Lutz e do Núcleo de Gerenciamento de Amostras Biológicas envolvidos na recepção e processamento das amostras de primatas não humanos; aos profissionais das vigilâncias epidemiológicas estaduais e municipais pela colheita, encaminhamento e registro das amostras; ao Centro de Virologia do IAL que produziu e, gentilmente, forneceu o anti-corpo anti-FA.

---

---

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. World Health Organization [internet]. Updates on yellow fever vaccination recommendations for international travelers related to the current situation in Brazil. c2018. [acesso em 19 jan 2018]. Disponível em: <http://who.int/ith/updates/20180116/en/>
2. Secretaria de Estado da Saúde (SP), Coordenadoria de Controle de Doenças, Centro de Vigilância Epidemiológica “Profº Alexandre Vranjac”, Divisão de Zoonoses, Central CIEVS-SP, Núcleo de Informação em Vigilância Epidemiológica. Situação Epidemiológica da Febre Amarela

- no Estado de São Paulo, Monitoramento (sazonalidade) 2017. BEPA, Bol. epidemiol. paul. 2017; 14(166):17-20.
3. Vasconcelos PFDC. Yellow fever. Rev. Soc. Bras. Med. Trop. 2003; 36(2):275-93.
  4. Lopes N, Nozawa C, Linhares REC. Características gerais e epidemiologia dos arbovírus emergentes no Brasil. Revista Pan-Amazônica de Saúde. 2014;5(3):55-64.
  5. Soper FL. Jungle Yellow Fever. A New Epidemiological Entity in South America. Rev. hig. saude publica. 1936; 10(4).
  6. Almeida MAB, Cardoso JDC, dos Santos E, da Fonseca DF, Cruz LL, Faraco FJ et al. Surveillance for yellow fever virus in non-human primates in Southern Brazil, 2001–2011: a tool for prioritizing human populations for vaccination. Plos negl. trop. dis. 2014; 8(3):e2741.
  7. Ministério da Saúde (BR), Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de Vigilância das Doenças Transmissíveis. Guia de vigilância de epizootias em primatas não humanos e entomologia aplicada à vigilância da febre amarela. 2.ed. Brasília (DF); 2017.
  8. Reis NR, Peracchi AL. Primatas brasileiros. Technical Books Ed.; 2008.
  9. Grizzle WE, Fredenburgh JL e Myers RB. Fixation of tissues. Theory and practice of histological techniques. 2008; 6:53-74.
  10. Rhodes A. Fixation of tissues. Theory and Practice of Histological Techniques. 2012; 7:69-93.
  11. Vieira WT, Gayotto LC, Lima CP, Brito T. Histopathology of the human liver in yellow fever with special emphasis on the diagnostic role of the Councilman body. Histopathology. 1983;7(2):195-208.
  12. Quaresma JA, Barros VL, Pagliari C, Fernandes ER, Guedes F, Takakura CF et al. Revisiting the liver in human yellow fever: virus-induced apoptosis in hepatocytes associated with TGF- $\beta$ , TNF- $\alpha$  and NK cells activity. Virology. 2006; 345(1):22-30.
  13. Leal SG, Romano APM, Monteiro RV, Melo CBD, Vasconcelos PFDC, Castro MBD. Frequency of histopathological changes in Howler monkeys (*Alouatta* sp.) naturally infected with yellow fever virus in Brazil. Rev. Soc. Bras. Med. Trop. 2016; 49(1):29-33.
  14. Epiphanyo S, Guimarães MABV, Fedullo DL, Correa SH, Catão-Dias JL. Toxoplasmosis in golden-headed lion tamarins (*Leontopithecus chrysomelas*) and emperor marmosets (*Saguinus imperator*) in captivity. J. zoo wildl. med. 2000; 31(2):231-5.
  15. Ramsay EC, Montali RJ, Worley M, Stephensen CB, Holmes KV. Callitrichid hepatitis: epizootiology of a fatal hepatitis in zoo tamarins and marmosets. J. zoo wildl. med. 1989;178-83.
  16. Brito T, Siqueira SAC, Santos RTM, Nassar ES, Coimbra TLM, Alves VAF. Human fatal yellow fever: immunohistochemical detection of viral antigens in the liver, kidney and heart. Pathology-Research and Practice. 1992; 188(1-2):177-81.
  17. Hall WC, Crowell TP, Watts DM, Barros VL, Kruger H, Pinheiro F et al. Demonstration of yellow fever and dengue antigens in formalin-fixed paraffin-embedded human liver by immunohistochemical analysis. Am. j. trop. med. hyg. 1991; 45(4):408-17.
  18. Fernandes N, Cunha M, Guerra J, Ressio RA, Cirqueira CS, Iglezias SD et al. Outbreak of Yellow Fever among Nonhuman Primates, Espírito Santo, Brazil, 2017. Emerg. infect. dis. 2017; 23(12):2038-2041. doi:10.3201/eid2312.170685.

19. Domingo C, Patel P, Yillah J, Weidmann M, Méndez JA, Nakouné ER et al. Advanced yellow fever virus genome detection in point-of-care facilities and reference laboratories. *J. clin. microbiol.* 2012; JCM-01799.
20. Faria NR, Kraemer MU, Hill S, de Jesus JG, de Aguiar RS, Iani FC et al. Genomic and epidemiological monitoring of yellow fever virus transmission potential. *Science.* 2018; 361(6405):894-899. <https://doi.org/10.1126/science.aat7115>
- 
-



## 10 de Novembro – Dia Mundial do HTLV

### November 10 – HTLV World Day

**Adele Caterino de Araujo**

Pesquisadora Científica do Instituto Adolfo Lutz e Professora/Orientadora do Programa de Pós-Graduação em Ciências, Coordenadoria de Controle de Doenças, Secretaria de Estado da Saúde, São Paulo, Brasil

---

No dia 10 de novembro celebra-se o Dia Mundial do HTLV. Esta celebração tem por objetivo informar e mobilizar a sociedade e o poder público para o significado dessa infecção, seu impacto na saúde pública e os meios de contê-la.

Os vírus linfotrópicos de células T humanas (*human T-cell lymphotropic virus* - HTLV) pertencem à família *Retroviridae*, sendo o HTLV-1 o primeiro retrovírus humano a ser isolado em 1980, a partir de células do sangue periférico de pacientes com linfoma cutâneo de células T. Em 1982, foi isolado de células do baço de um paciente com tricoleucemia de células T o HTLV-2, e desde então, não houve relato de outros casos de leucemia associados a este tipo viral. Em 1983, dois grupos de pesquisadores, um na França e outro nos Estados Unidos, isolaram outro retrovírus que se tornou conhecido como o agente causador da síndrome da imunodeficiência adquirida (aids). Inicialmente, o vírus foi designado LAV (*lymphadenopathy-associated virus*) pelos franceses e HTLV-III pelos americanos. Em 1985, com a finalidade de uniformizar a terminologia, a Organização Mundial da Saúde (OMS) oficializou o nome de vírus da imunodeficiência humana (*human immunodeficiency virus* - HIV). Mais recentemente, foram descritos os HTLV-3 e HTLV-4 em indivíduos sadios de Camarões,

na África Central, sem relevância clínica e epidemiológica.

Ocorre que apesar de existirem cinco retrovírus humanos descritos até o momento, apenas o HIV é conhecido mundialmente. O HTLV-1, apesar de ser endêmico em vários países de diferentes regiões geográficas, como no Brasil (país da América Latina com o maior número absoluto de infectados), é desconhecido pela população geral e até mesmo pela comunidade médica. Uma possível explicação é o fato de ele predominar em países com poucos recursos financeiros e de ser imputado a ele apenas 5% de casos de doença. No entanto, esse dado não se aplica ao Brasil, onde cerca de 20% dos infectados desenvolvem doenças associadas ao HTLV-1.

Além disso, as doenças confirmadamente relacionadas ao HTLV-1 são a leucemia/linfoma de células T do adulto (*adult T-cell leukemia / lymphoma* - ATLL) que apresenta alta letalidade, e a mielopatia associada ao HTLV-1 ou paraparesia espástica tropical (*HTLV-1-associated myelopathy / tropical spastic paraparesis* - HAM/TSP) com elevada morbidade. Ademais, não há cura para estas doenças, apenas tratamento paliativo. Há ainda que se destacar que estas doenças se manifestam na fase mais produtiva da vida dos indivíduos infectados, com impacto na qualidade de vida e na geração de renda. O



paciente com HAM/TSP torna-se incapaz de realizar as tarefas domésticas ou de trabalho, culminando com a incapacidade de deambular. Nas consultas médicas deve ir acompanhado de parente ou conhecido que também perde seu dia de trabalho, impactando na geração de renda familiar, com consequências também na economia do estado. Ainda, como a HAM/TSP afeta vários sistemas além do neurológico, o paciente pode apresentar infecções urinárias de repetição, impotência sexual, perda da libido, incontinência urinária, constipação intestinal, depressão, entre outros. Portanto, ele deve ser acompanhado por equipe multidisciplinar, o que onera o Sistema Único de Saúde (SUS).

Outrossim, dado que os HTLV compartilham vias de transmissão com outros vírus, há de se ressaltar que as coinfeções são frequentes e podem influenciar na evolução das doenças a eles relacionadas. A coinfeção HIV/HTLV, por exemplo, é frequente em usuários de drogas injetáveis (UDI) e nesta população a coinfeção HIV/HTLV-1 tem sido apontada como responsável pela evolução mais rápida para aids e menor sobrevivência dos pacientes, ao contrário do que ocorre na coinfeção HIV/HTLV-2, em que o HTLV-2 parece desempenhar um papel protetor na evolução para aids. Já a coinfeção HCV/HTLV tem mostrado resultados discordantes. No Brasil, a quase totalidade dos estudos de coinfeção HCV/HTLV-1 apontou para uma melhor evolução da hepatite C, ao contrário do que foi observado em outros países e em estudo conduzido em São Paulo. Em relação à coinfeção HCV/HTLV-2, um estudo recente observou melhor resposta ao tratamento da hepatite C em coinfectados. Questões relacionadas ao *background* genético dos pacientes, bem como às características das populações

de estudo e aos subtipos virais que circulam em todo o mundo, podem ter sido a causa dos resultados discordantes obtidos na hepatite C. Contudo, é importante realizar a vigilância das coinfeções para melhor tratamento e acompanhamento dos pacientes.

Outra questão a ser abordada diz respeito ao diagnóstico e formas de transmissão dos HTLV-1/2. Deve-se disponibilizar para toda a rede pública de saúde o diagnóstico confirmatório e discriminatório dos HTLV-1/2, atualmente disponível nacionalmente pelo SUS apenas para casos de ATLL, e divulgar na tentativa de diminuir as formas de transmissão destes vírus.

Em relação às vias de transmissão dos HTLV-1/2, a parenteral por transfusão de sangue foi praticamente eliminada, pois a sorologia para HTLV-1/2 é realizada em bancos de sangue em todo o mundo. No Brasil, ela se tornou obrigatória em 1993 e isto fez diminuir a transmissão de HTLV-1/2 por transfusão de sangue. Porém, outras populações como UDI e pessoas que utilizam ou que manipulam material perfuro-cortante infectado podem adquirir essas infecções por essa via. Outro problema diz respeito à transmissão vertical. Sabe-se que o aleitamento materno prolongado por mais de seis meses facilita a transmissão viral, e neste sentido o Japão conseguiu reduzir o percentual de transmissão vertical de HTLV-1, que passou de 20,3% para 2,5% em Nagasaki, após incluir a sorologia para HTLV-1 no pré-natal. No Brasil, esta medida ainda não foi adotada. Apenas em indivíduos infectados pelo HIV, o Ministério da Saúde recomenda a sorologia para HTLV pelo menos uma vez, durante seu acompanhamento. Outra via de transmissão dos HTLV é a sexual, pela prática de sexo sem o uso de preservativo.

Esta via só poderá ser bloqueada se aplicadas medidas educativas.

Infelizmente, apesar de tudo o que foi exposto, os HTLV, em especial o HTLV-1 e as doenças relacionadas, não são de notificação compulsória, sequer constam da lista de doenças consideradas negligenciadas no Brasil e no mundo. Com uma estimativa de 20 milhões de pessoas infectadas mundialmente, em 2014 foi criada uma força tarefa global (*The Global Virus Network*), com representantes de 11 países, incluindo o Brasil, cujas metas foram: (i) a triagem sistemática de indivíduos infectados pelo HTLV-1 para reduzir a transmissão; (ii) a identificação de biomarcadores para prever a progressão da doença e direcionar uma terapia personalizada; (iii) o desenvolvimento de vacinas e terapias eficientes, salientando-se a necessidade do envolvimento público-privado, para atingir as metas. No entanto, pouco se evoluiu em relação a estas questões.

Em 18 de maio de 2018 foi redigida uma carta aberta à OMS, publicada na revista *The Lancet* por Fabiola Martin, Yutaka Tagaya e Robert Gallo, alertando sobre a necessidade de se erradicar o HTLV-1 e incluir estratégias de prevenção. Recentemente, a Sociedade Internacional de Retrovirologia (*International Retrovirology Association* - IRVA) decidiu instituir o dia 10 de novembro como o Dia Mundial do HTLV.

Nesse sentido, pesquisadores de todo o mundo, engajados na divulgação dessa infecção/doenças para a comunidade científica e população geral, decidiram atuar como multiplicadores, proferindo palestras, realizando encontros, caminhadas, e divulgando o HTLV na mídia. No Brasil, na data

comemorativa, foram iluminados de maneira especial, na cor vermelha, o Cristo Redentor e o Prédio da Fiocruz (Castelo Mourisco) no Rio de Janeiro; em São Paulo, a Ponte Otávio Frias de Oliveira, o Monumento às Bandeiras, o Instituto de Infectologia Emílio Ribas e a Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo. Houve também a promoção de vários Eventos em Universidades como na Universidade Federal de Minas Gerais, Escola Bahiana de Medicina e Saúde Pública, Instituto de Infectologia Emílio Ribas, Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, entre outros, e caminhadas e palestras organizadas pelas ONGs Vitamore (RJ) e HTLVida (BA). Foram confeccionadas camisetas com o logotipo idealizado pela IRVA, contendo a data comemorativa, as palavras HTLV ≠ HIV e a ilustração do globo terrestre, entre outros.

Houve videoconferências, *chats* e *lives* com profissionais médicos que atuam no atendimento aos pacientes, com destaque em São Paulo para o Dr. Augusto Cesar Penalva de Oliveira, Chefe do Ambulatório de HTLV do Instituto de Infectologia Emílio Ribas, Dr. Jorge Casseb, Coordenador do Núcleo de Apoio a Pesquisa em Retrovírus, Instituto de Medicina Tropical, Universidade de São Paulo, e Dra. Marzia Puccioni da Unirio, representante do Brasil junto a IRVA.

Também como contribuição para essa empreitada, o Programa de Pós-Graduação em Ciências da Coordenadoria de Controle de Doenças (CCD), Secretaria de Estado da Saúde de São Paulo, na pessoa da coordenadora Maria de Fátima Costa Pires (IAL) abraçou a causa, por ser uma das linhas de pesquisa de seu Programa e, junto à pesquisadora Adele Caterino de Araujo do Instituto Adolfo Lutz (IAL), confeccionaram um banner que ficou

exposto no prédio da Secretaria da Saúde que aloja a CCD, a PG e quatro Centros do IAL.

Também foi divulgada a data comemorativa nos sites do Instituto Adolfo Lutz (<http://www.ial.sp.gov.br/>) e da Biblioteca Virtual em Saúde da Secretaria de Estado da Saúde de São Paulo (<http://ses.sp.bvs.br/>).

Digno de nota, o Instituto Adolfo Lutz realiza estudos de vigilância, diagnóstico e de marcadores de valor prognóstico de infecção

por HTLV-1 e HTLV-2 desde 1992, e oferece a sorologia para HTLV-1/2 desde 1998. Durante esses mais de 25 anos, foram publicados vários trabalhos científicos, defendidas teses, dissertações e monografias, realizados projetos, incluindo vários com financiamento externo e com colaboração internacional, havendo inclusive assessoria ao Ministério da Saúde em questões relacionadas aos HTLV. Desta forma não poderia se furtar da oportunidade e celebrar o Dia Mundial do HTLV.

## Situação Epidemiológica da SRAG-Influenza

### Epidemiological Situation of SRAG-Influenza

Divisão de Doenças de Transmissão Respiratória. Centro de Vigilância Epidemiológica “Prof. Alexandre Vranjac”. Coordenadoria de Controle de Doenças. Secretaria de Estado da Saúde. São Paulo, Brasil

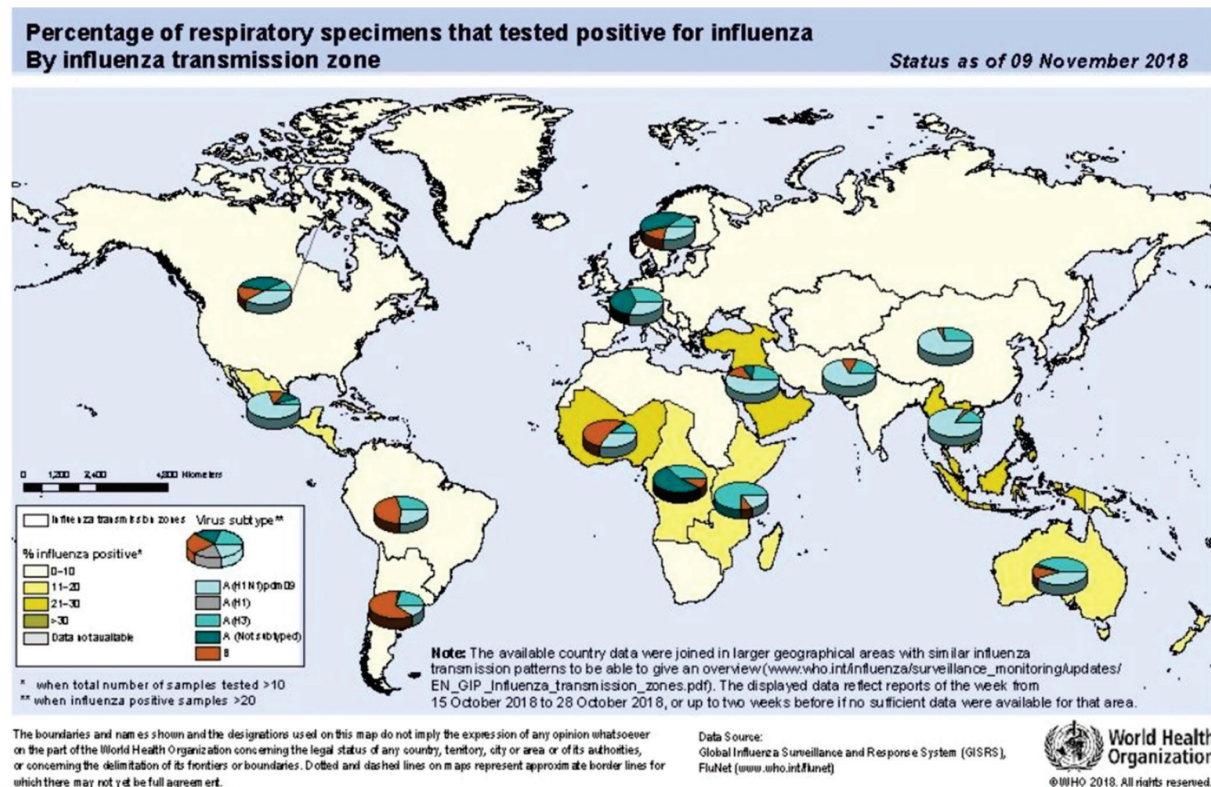
#### Cenário Global

O boletim nº 328 da Organização Mundial da Saúde (OMS), de 12 de novembro de 2018, apresenta a situação atual da influenza em nível mundial (Figura 1).

O vírus influenza permanece em baixa atividade intersazonal na zona temperada do Hemisfério Norte. Já na zona temperada do Hemisfério Sul e em alguns países do sul e sudeste da Ásia há registro de alta atividade viral. Nas zonas temperadas do Hemisfério Sul, houve uma aparente redução da atividade viral para os níveis intersazonais. Mundialmente há

predomínio do vírus influenza A(H1N1)pdm09 (Figura 2 e Figura 3).

No Caribe, as detecções dos vírus influenza e do vírus sincicial respiratório (VSR) permanecem baixas, à exceção do Haiti, onde a detecção de A(H1N1)pdm09 se manteve elevada. Nos países da América Central, a atividade do vírus tem sido identificada em El Salvador e na Nicarágua. A atividade do vírus sincicial respiratório permaneceu elevada na Guatemala, Nicarágua e Panamá. Nos países tropicais da América do Sul, a atividade dos vírus influenza e do vírus sincicial respiratório permaneceu baixa na maioria dos países.



Fonte: [http://www.who.int/influenza/surveillance\\_monitoring/updates/latest\\_update\\_GIP\\_surveillance/en/](http://www.who.int/influenza/surveillance_monitoring/updates/latest_update_GIP_surveillance/en/)

**Figura 1.** Distribuição percentual de amostras respiratórias positivas para o vírus influenza por zona de transmissão, situação até SE 43/2018

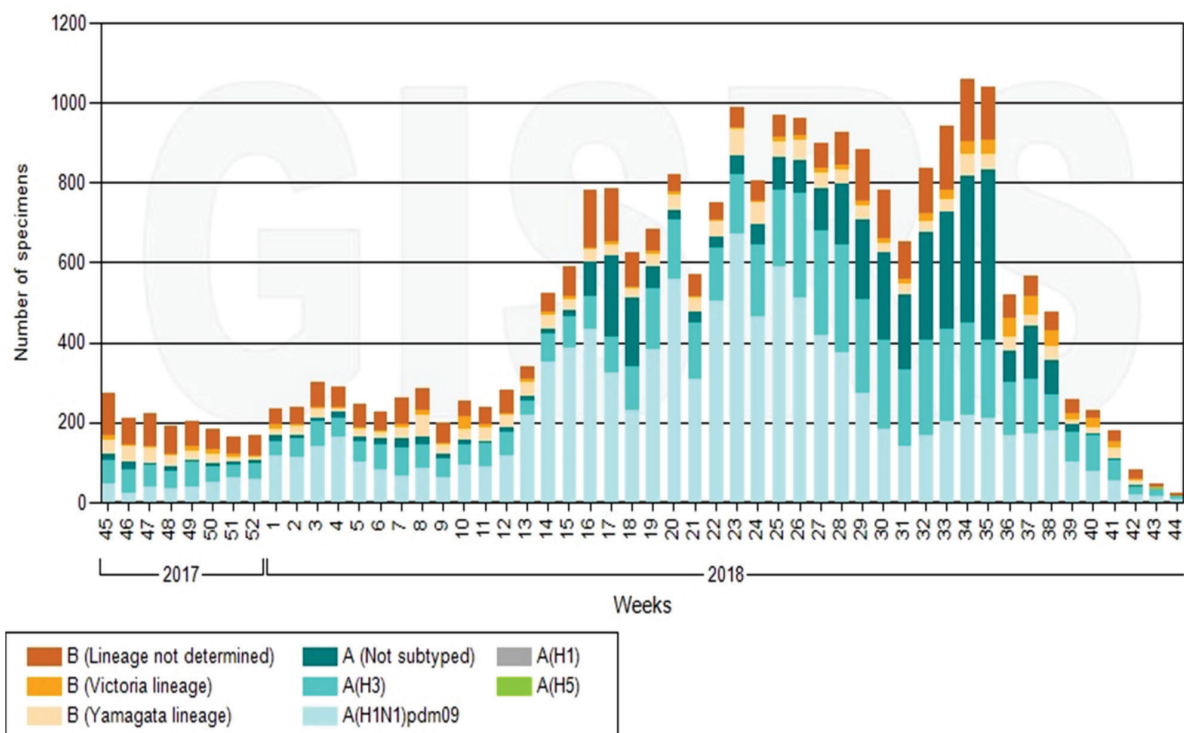
Na África Ocidental, a atividade do vírus influenza foi identificada nos territórios de Gana, Guiné, Mali, Senegal e Togo. Na África Central, a detecção de A(H3N2) continua sendo reportada na República Centro-Africana e em Camarões. Nos países da África Oriental, houve um aumento na detecção no Quênia e nas Ilhas Maurício, predominando o vírus influenza A(H3N2). Na África do Sul, a sazonalidade do vírus retornou ao nível basal: enquanto na primeira metade da sazonalidade houve um predomínio de influenza A(H1N1) pdm09, influenza B predominou na segunda metade do período.

Na Oceania, houve redução global da atividade do vírus influenza, chegando próximo aos níveis intersazonais, com predomínio do subtipo A(H1N1)pdm09. A

atividade viral nesta temporada foi baixa, com menor proporção de pacientes internados em terapia intensiva quando comparado aos anos precedentes.

No sul da Ásia, a atividade do vírus influenza persiste elevada em alguns países. Em Lao, sua positividade permanece elevada, com predomínio de A(H1N1)pdm09. No Camboja e na Tailândia, a atividade viral permaneceu elevada, com predomínio de A(H1N1)pdm09, seguido por A(H3N2). No Sudeste Asiático, a Índia continua reportando atividade do vírus influenza elevada, enquanto que no Nepal, houve queda na detecção de influenza A(H3N2) e influenza B nas últimas semanas.

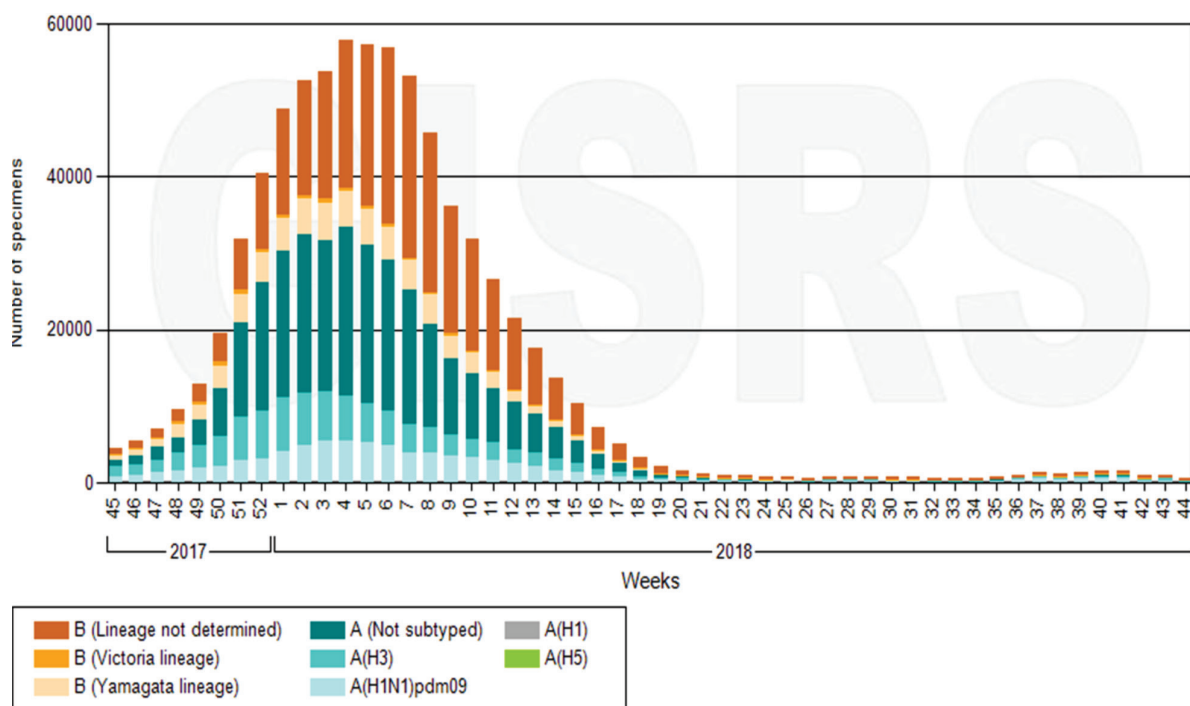
Nas zonas temperadas do hemisfério norte, a atividade viral permaneceu em níveis intersazonais.



Fonte: <http://apps.who.int/fluart/Default?ReportNo=5&Hemisphere=Southern>

**Figura 2.** Número de amostras positivas para o vírus influenza segundo tipo e subtipo. Hemisfério Sul, SE 45/2017 a SE 44/2018





**Figura 3.** Número de amostras positivas para o vírus influenza segundo tipo e subtipo. Hemisfério Norte, SE 45/2017 a SE 44/2018

De acordo com os Centros Nacionais de Influenza (NIC) e outros laboratórios nacionais de influenza de 104 países, no período de 15 a 28 de outubro de 2018, foram testadas 84.313 amostras, sendo 2.145 positivas para os vírus da influenza, sendo 1.845 (86%) casos de influenza A e 300 (14%) de influenza B. Dentre os vírus influenza A, 905 (64,5%) eram influenza A (H1N1)pdm09 e 499 (35%) influenza A (H3N2). Dentre os vírus B caracterizados, 54 (52,4%) pertenciam à linhagem B Yamagata e 49 (47,6%) à linhagem B Victoria.

### Síndrome Respiratória Aguda Grave (SRAG)

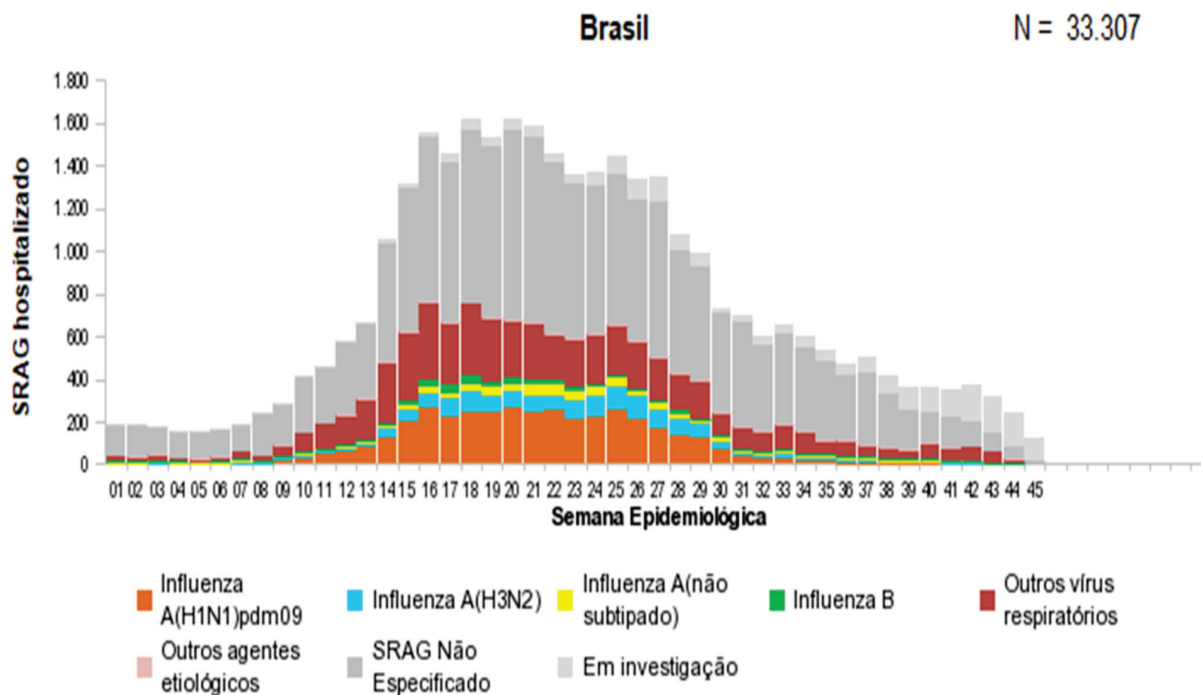
#### Brasil

No Brasil, até a SE 45 de 2018, foram notificados 33.307 casos de SRAG, sendo 27.041 (81,2%) com amostra processada,

incluindo 6.634 casos (24,5%) confirmados para o vírus influenza. Dentre os casos de influenza, 3.861 (58,2%) eram influenza A(H1N1)pdm09, 1.619 (24,4%) influenza A(H3N2), 639 (9,6%) influenza A não subtipado e 515 (7,8%) influenza B (Figura 4). Os casos de SRAG por influenza apresentaram uma mediana de idade de 37 (0-107) anos e a região Sudeste registrou 46,3% dos casos.

Dentre os casos notificados, 4.997 (14,9%) evoluíram a óbito, sendo 1.363 (27,4%) confirmados para o vírus influenza. Destes, 909 (66,7%) foram confirmados para o vírus influenza A(H1N1)pdm09, 249 (18,3%) para influenza A(H3N2), 129 (9,5%) para influenza A não subtipado e 76 (5,6%) para influenza B. Neste período, observa-se uma concentração de óbitos por influenza no estado de São Paulo (42,4%).





Fonte: Sinan Influenza Web, até 13/11/2018, dados sujeitos a alteração

**Figura 4.** Distribuição dos casos de SRAG segundo agente etiológico e semana epidemiológica do início dos sintomas. Brasil, SE 01 a 45/2018

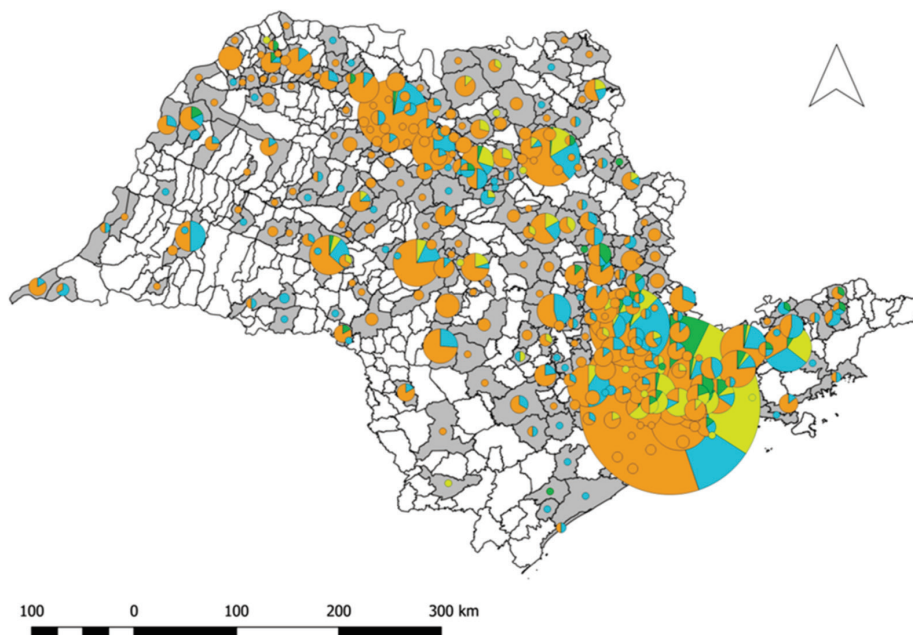
Entre os óbitos por influenza, a mediana da idade foi de 57 (0-107) anos e 1.042 (76,4%) apresentaram pelo menos um fator de risco para complicação, dentre os quais se destacam aqueles com idade igual ou superior a 60 anos, portadores de doença cardiovascular crônica, de pneumopatia crônica ou de diabetes mellitus. Além disso, 1.062 (77,9%) fizeram uso de antiviral, com mediana de oportunidade de tratamento, que corresponde ao intervalo entre a data do tratamento e data de início de sintomas, de quatro (0-94) dias. Recomenda-se iniciar o tratamento preferencialmente nas primeiras 48 horas.

### Estado de São Paulo

No Estado de São Paulo, da SE 01 a 45/2018, foram registrados 9.690 casos de

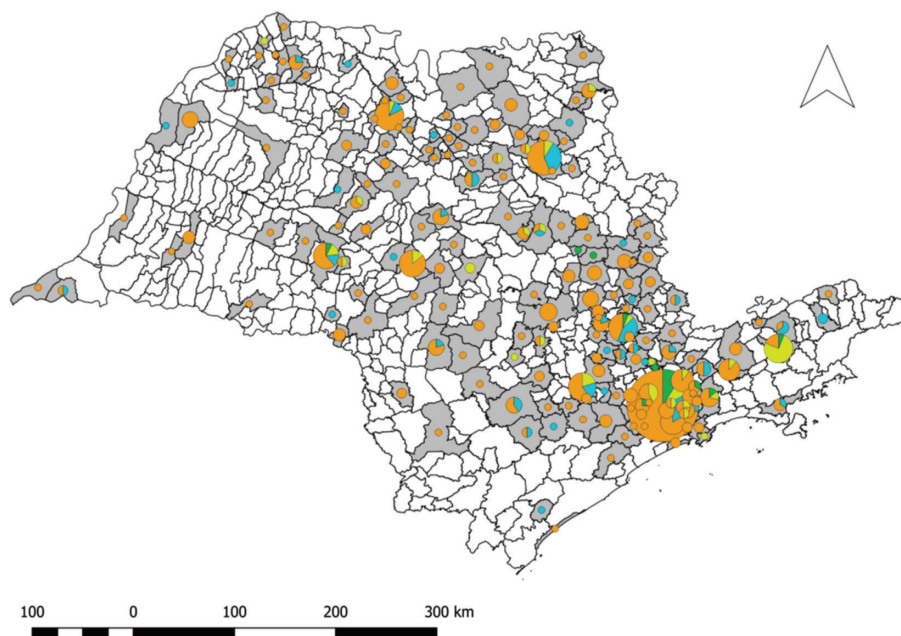
SRAG em pacientes hospitalizados, sendo que 1.646 (16,9%) evoluíram a óbito. Dentre as 9.235 (95,3%) amostras processadas, 2.506 casos (27,1%) foram confirmados para o vírus influenza, incluindo 577 (23%) óbitos, distribuídos em 477 (73,9%) municípios. Concentraram-se na Região Metropolitana de São Paulo 39,8% dos casos (Figura 5) e 32,6% dos óbitos (Figura 6).

Na sazonalidade de 2018, o vírus influenza A(H1N1)pdm09 predominou, com 1.612 (64,3%) casos e 431 (74,5%) óbitos, seguido pelo vírus influenza A(H3N2) em 451 (18%) casos e 57(9,9%) óbitos, pelo vírus influenza A não subtipado em 331 (13,2%) casos e 57 (9,9%) óbitos e pelo vírus influenza B, com 112 (4,4%) casos e 18 (3,1%) óbitos (Figura 7).



Fonte: Sinan Influenza Web, dados até 13/11/2018, dados sujeitos a alteração

**Figura 5.** Distribuição geográfica dos casos de SRAG confirmados para o vírus influenza, segundo município de residência. Estado de São Paulo, SE 01 a 45/2018



Fonte: Sinan Influenza Web, até 13/11/2018, dados sujeitos a alteração.

**Figura 6.** Distribuição geográfica dos óbitos de SRAG confirmados para o vírus influenza, segundo município de residência. Estado de São Paulo, SE 01 a 45/2018

No que se refere à faixa etária, dentre os casos por influenza A(H3N2), houve predomínio em indivíduos com idade igual ou superior a 60 anos, com 147 (32,6%) casos e 54 (76,1%) óbitos (Tabela 1).

A presença de ao menos um fator de risco foi registrada em 1.275 (50,9%) casos e 393 (68,1%) óbitos. Entre os óbitos, houve registro de fator de risco em 62,7% dos indivíduos de 25 a 59 anos e em 79,4% dos indivíduos acima de 60 anos.

Dentre os fatores de risco, predominou a doença cardiovascular crônica, seguida de pneumopatia crônica, *diabetes mellitus* e obesidade (Tabela 2).

Quatro gestantes, duas no primeiro e duas no segundo trimestre de gestação, evoluíram a óbito. Uma apresentava comorbidade associada (pneumopatia crônica). Nenhuma estava vacinada, todas receberam antiviral, duas em menos de dois dias do início dos sintomas. Não houve óbito entre puérperas.

**Tabela 1.** Distribuição dos óbitos de SRAG confirmados para o vírus influenza, segundo faixa etária e subtipo viral. Estado de São Paulo, SE 01 a 45/2018

**Tabela 1. Distribuição dos casos e óbitos de SRAG confirmados para o vírus influenza, segundo faixa etária e subtipo. Estado de São Paulo,**

Faixa etária	A (H1N1)pdm09				A (H3N2)				B			
	Caso	%	Óbito	%	Caso	%	Óbito	%	Caso	%	Óbito	%
< 6 meses	54	3,3	4	0,9	25	5,5	0	0,0	11	9,8	1	5,6
06 meses – 01 ano	173	10,7	8	1,9	33	7,3	0	0,0	19	17,0	0	0,0
02 – 04 anos	81	5,0	8	1,9	23	5,1	0	0,0	5	4,5	0	0,0
05 – 14 anos	155	9,6	11	2,6	52	11,5	2	2,8	15	13,4	1	5,6
15 - 24 anos	58	3,6	7	1,6	37	8,2	1	1,4	12	10,7	2	11,1
25 - 44 anos	357	22,1	76	17,6	80	17,7	5	7,0	14	12,5	1	5,6
45 - 59 anos	386	23,9	165	38,3	54	12,0	9	12,7	9	8,0	2	11,1
≥ 60 anos	348	21,6	152	35,3	147	32,6	54	76,1	27	24,1	11	61,1
<b>Total</b>	<b>1.612</b>	<b>100</b>	<b>431</b>	<b>100</b>	<b>451</b>	<b>100</b>	<b>71</b>	<b>100</b>	<b>112</b>	<b>100</b>	<b>18</b>	<b>100</b>

Fonte: Sinan Influenza Web, dados até 13/11/2018, dados sujeitos a alteração

**Tabela 2.** Distribuição dos fatores de risco registrados em óbitos por SRAG confirmados para o vírus influenza. Estado de São Paulo, SE 01 a 45/2018

Fator de risco	Óbitos	%
Doença cardiovascular crônica	136	23,5
Pneumopatia crônica	107	18,5
Diabetes mellitus	99	17,1
Obesidade	73	12,6
Doença renal crônica	50	8,6
Imunossupressão	44	7,6
Doença neurológica crônica	34	5,9
Doença hepática	13	2,2
Síndrome de Down	5	0,9

Fonte: Sinan Influenza Web, dados até 13/11/2018, dados sujeitos a alteração

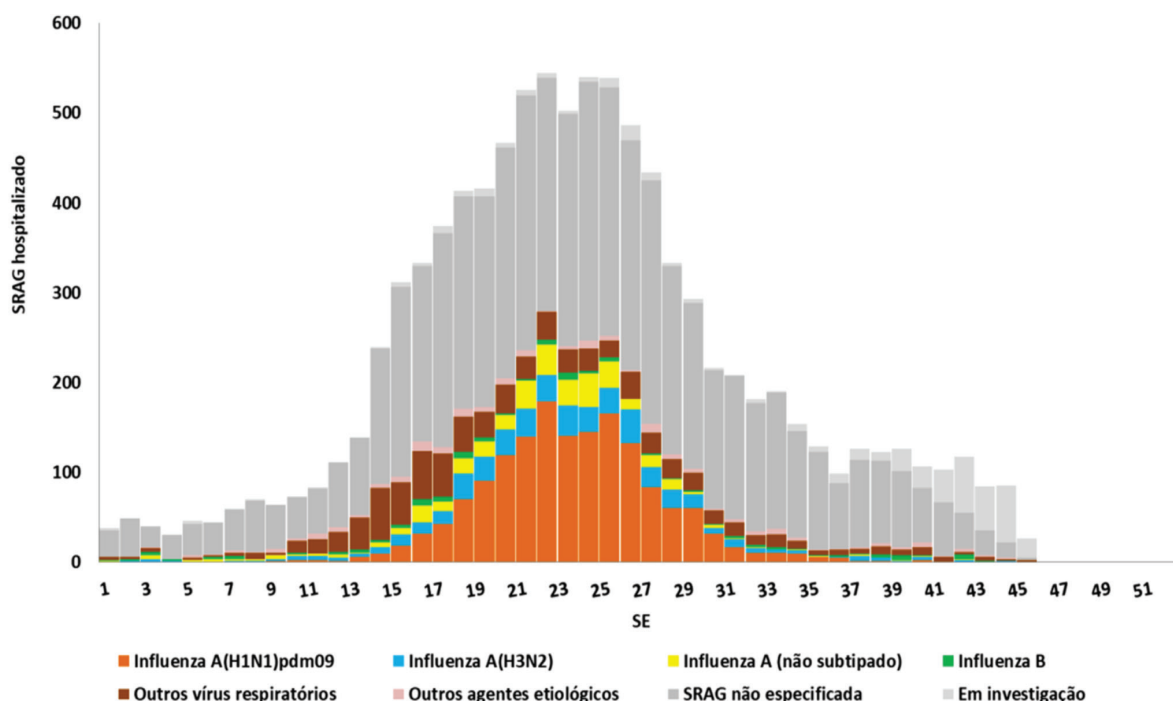
O tratamento com fostato de oseltamivir foi instituído em 2.214 (88,2%) casos e 489 (84,5%) óbitos. A oportunidade de tratamento nos óbitos apresentou mediana de quatro (0 a 33) dias. Em relação à situação vacinal, 1941 (77,3%) casos e 393 (67,9%) óbitos tinham informação sobre uso da vacina, sendo 419 casos (21,6%) e 64 (16,3%) óbitos vacinados. Dentre os vacinados 332 (79,2%) casos e 50 (78,1%) óbitos foram vacinados há menos de um ano.

Foi registrado uso de suporte ventilatório em 1.577 (64,1%) casos e 509 (72,1%) óbitos, sendo invasivo em 583 (37%) e 367 (64%) destes, respectivamente. Dentre os casos, 1003 (40,6%) foram internados em unidade de terapia intensiva, em que 405 (40,4%) evoluíram a óbito.

## Síndrome Gripal (SG)

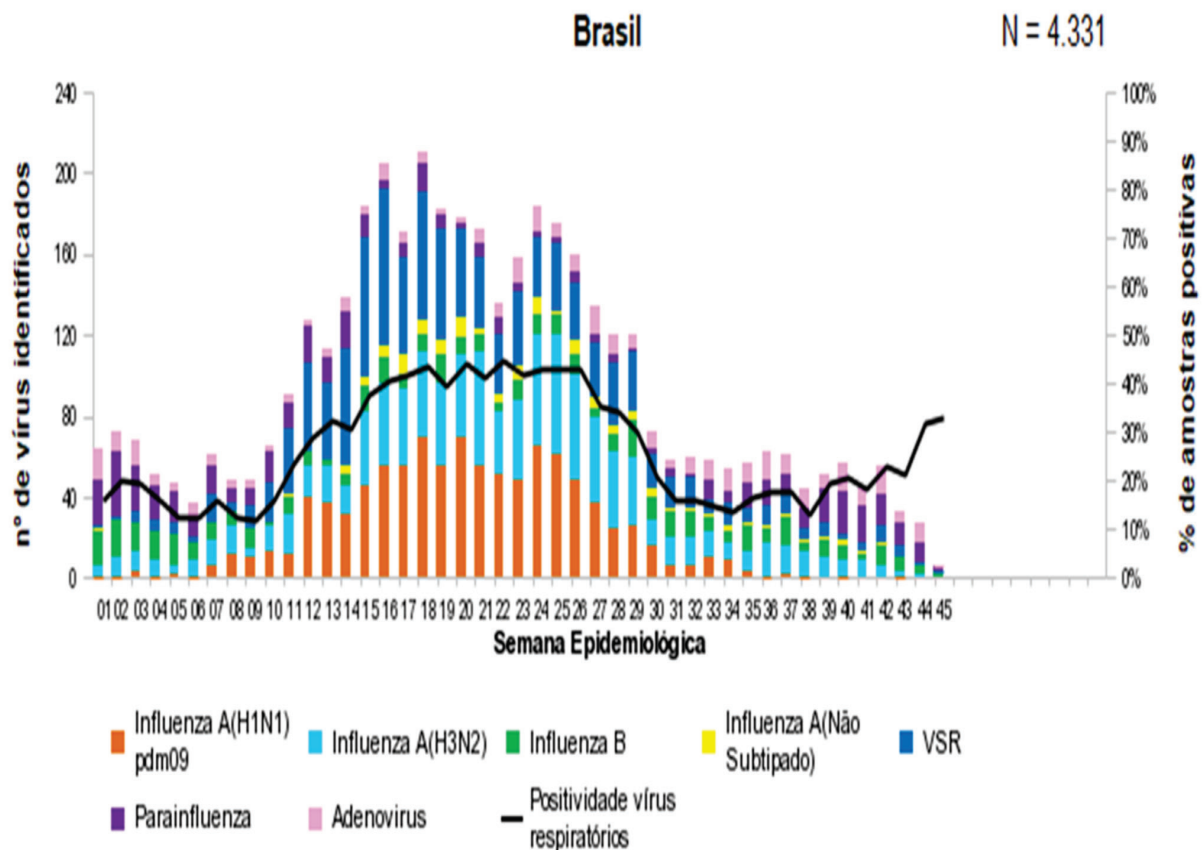
### Brasil

No Brasil, o Ministério da Saúde adota a estratégia da vigilância sentinela para a influenza. Até a SE 45 de 2018, a unidades sentinela da SG coletaram 19.064 amostras. Destas, 16.024 (84,1%) foram processadas, sendo 4.331 (27%) positivas para vírus respiratórios, das quais 2.494 (57,6%) para o vírus influenza e 1.837 (42,4%) para outros vírus. Dentre as amostras positivas para o vírus influenza, 1.005 (40,3%) foram decorrentes de influenza A(H1N1)pdm09, 416 (16,7%) de influenza B, 121 (4,9%) de influenza A não subtipado e 952 (38,2%) de influenza A(H3N2) (Figura 8).



Fonte: Sinan Influenza Web, dados até 13/11/2018, dados sujeitos a alteração

**Figura 7.** Distribuição dos óbitos de SRAG confirmados para o vírus influenza, segundo tipo e subtipo. Estado de São Paulo, SE 01 a 45/2018



Fonte: SIVEP-Gripe, até 13/11/2018, dados sujeitos a alteração

**Figura 8.** Distribuição dos vírus respiratórios identificados nas unidades sentinelas de Síndrome Gripal, por semana epidemiológica de início dos sintomas. Brasil, SE 01 a 45/2018

### Estado de São Paulo

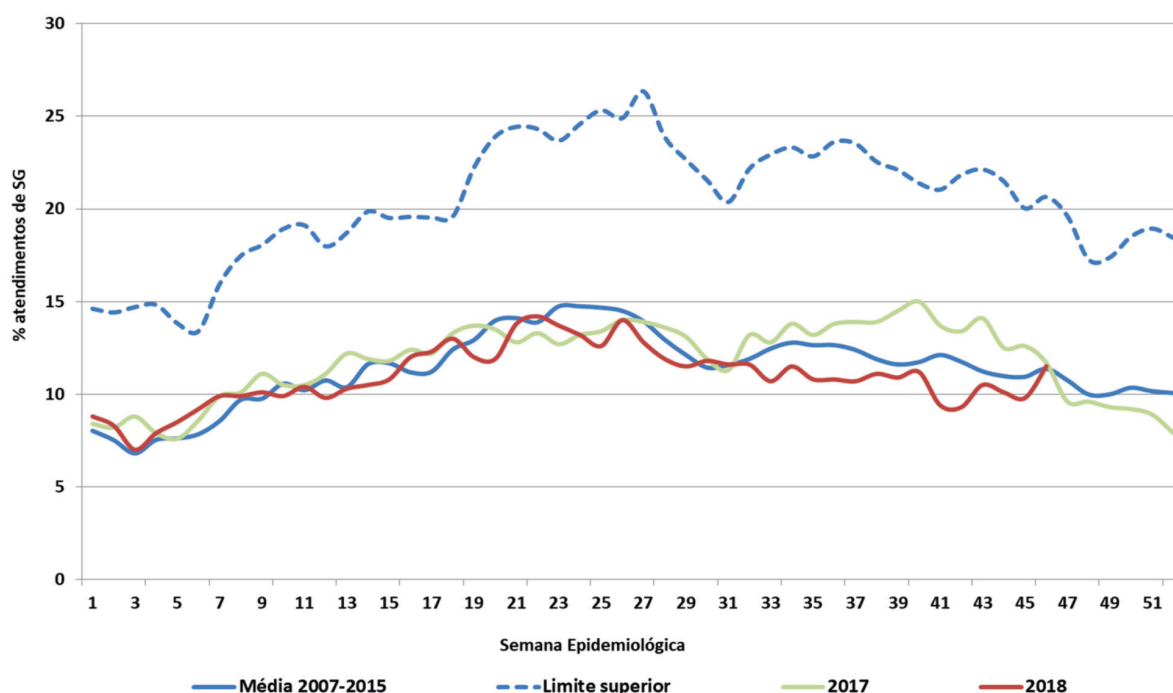
A vigilância sentinela de influenza no Estado de São Paulo é composta por 21 unidades sentinelas de SG e oito unidades sentinelas de SRAG de paciente internado em unidade de terapia intensiva, estas últimas sediadas no município de São Paulo.

De acordo com os registros de dados agregados de SG, entre as SE 01 e 45/2018 os casos de SG representaram 11,0% dos atendimentos na unidade sentinela (Figura 9).

Até a SE 45 de 2018, as unidades sentinelas de SG do Estado de São Paulo coletaram aproximadamente 4.447 amostras

biológicas, sendo que 3.693 (83%) resultados foram registrados no SIVEP-Gripe, até o momento. Destes, 860 (23,3%) foram positivas para vírus respiratórios, sendo 525 positivas para o vírus influenza. Dessas, 269 (51,3%) foram representadas pelo vírus influenza A(H1N1)pdm09, 163 (31,1%) pelo influenza A(H3N2), 86 (16,4%) pelo influenza B, e seis (11,5%) por influenza A não subtipado. O pico de atividade viral nas unidades sentinelas de SG se deu na SE 24, com 30 (31,6%) de amostras coletadas positivas para influenza A(H1N1)pdm09, conforme apresentado na Figura 10.





Fonte: SIVEP-Gripe, até 13/11/2018, dados sujeitos a alteração

**Figura 9.** Proporção de atendimentos de SG em relação ao total de atendimentos de clínica médica/pediatria nas unidades sentinela. Estado de São Paulo, 2007 a SE 45/2018

Country	2003-2009*		2010-2014**		2015		2016		2017		2018		Total	
	cases	deaths	cases	deaths	cases	deaths	cases	deaths	cases	deaths	cases	deaths	cases	deaths
Azerbaijan	8	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	8	5
Bangladesh	1	0	6	1	1	0	0	0	0	0	0	0	8	1
Cambodia	9	7	47	30	0	0	0	0	0	0	0	0	56	37
Canada	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1
China	38	25	9	5	6	1	0	0	0	0	0	0	53	31
Djibouti	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
Egypt	90	27	120	50	136	39	10	3	3	1	0	0	359	120
Indonesia	162	134	35	31	2	2	0	0	1	1	0	0	200	168
Iraq	3	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3	2
Lao People's Democratic Republic	2	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	2
Myanmar	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
Nigeria	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1
Pakistan	3	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3	1
Thailand	25	17	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	25	17
Turkey	12	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	12	4
Viet Nam	112	57	15	7	0	0	0	0	0	0	0	0	127	64
<b>Total</b>	<b>468</b>	<b>282</b>	<b>233</b>	<b>125</b>	<b>145</b>	<b>42</b>	<b>10</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>2</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>860</b>	<b>454</b>

\* 2003-2009 total figures. Breakdowns by year available on subsequent tables.

\*\* 2010-2014 total figures. Breakdowns by year available on subsequent tables.

Total number of cases includes number of deaths.

WHO reports only laboratory cases.

All dates refer to onset of illness.

Source: WHO/GIP, data in HQ as of 1 November 2018



Fonte: SIVEP-Gripe, até 13/11/2018, dados sujeitos a alteração

**Figura 10.** Distribuição dos tipos e subtipos de influenza identificados nas unidades sentinela de SG, segundo semana epidemiológica de início dos sintomas. Estado de São Paulo, SE 01/2017 a SE45/2018



### Caracterização Viral

No Brasil, durante a sazonalidade de 2018 do vírus influenza, os vírus influenza do subtipo A(H1N1)pdm09 pertenciam todos ao grupo genético 6B.1, mesmo grupo genético presente na recomendação vacinal do hemisfério Sul desse ano. Já os vírus do subtipo A(H3N2) tiveram uma distribuição genética e antigênica diversificada. Ainda assim, a maioria dos vírus detectados pertencia ao grupo genético 3C.2a2, também presente na mesma recomendação vacinal. A cepa Yamagata continua sendo predominante entre os subtipos de vírus influenza B, todas pertencentes ao grupo genético Y3, sem variações significantes para a cepa vacinal. A cepa dos vírus influenza B Victoria fazem parte do grupo V1A, o mesmo que compôs a vacina quadrivalente.

### Campanha De Vacinação

De acordo com a recomendação da OMS para o Hemisfério Sul, em 2018, foram contempladas na vacina as seguintes cepas:

A/Michigan/45/2015 (H1N1)pdm09; A/Singapore/INFIMH-16-0019/2016 (H3N2); B/Phuket/3073/2013 e, no caso da vacina quadrivalente B/Brisbane/60/2008. Durante a campanha nacional, realizada com a vacina trivalente, foram contemplados os grupos prioritários de forma escalonada, com meta de 90% de cobertura vacinal.

A campanha de vacinação de 2018 atingiu cobertura vacinal de 85,5%, nos grupos prioritários. Além disso, 2.361.487 pessoas portadoras de comorbidades, também, foram vacinadas. A vacinação de crianças, gestantes e trabalhadores de saúde deve ser fortalecida, de modo a garantir cobertura vacinal satisfatória (Tabela 3).

Para a sazonalidade de 2019, no Hemisfério Sul, na recomendação da OMS estão contempladas as seguintes cepas: A/Michigan/45/2015 (H1N1)pdm09; A/Switzerland/8060/2017 (H3N2); B/Colorado/06/2017 (linhagem B/Victoria/2/87) e, no caso da vacina quadrivalente B/Phuket/3073/2013 (linhagem B/Yamagata/16/88).

**Tabela 3.** Caracterização viral das cepas circulantes no Estado de São Paulo

2017	2018
A(H1N1)pdm09/Michigan/45/2015	A(H1N1)pdm09/Michigan/45/2015
A(H3N2)/HongKong/4801/2014	A(H3N2)/Hong Kong/4801/2014
B/Brisbane/60/2008	A(H3N2)/Singapore/INFIMH-16-0019/2016
B/Phuket/3073/2013	B/Victoria/02/87
	B/Phuket/3073/2013
	B/Colorado/06/2017

Fonte: Centro de Virologia, Instituto Adolfo Lutz, Rede Nacional de Vigilância em Influenza

**Tabela 4.** Cobertura vacinal (%) segundo grupos prioritários. Estado de São Paulo, 2013-2018

Grupo prioritário	2013	2014	2015	2016	2017	2018
Crianças*	98,9	83,2	79,2	91,1	70	66,6
Trab. da saúde	121	91,8	92,1	124,3	80,5	85,3
Gestantes	89,4	82,1	78,5	77,7	69,4	66,4
Puérperas	114,9	124,2	116	110,4	97,9	103,5
Indígenas	124,5	131,5	144,5	124,63	130,5	157,9
Idosos	87,4	83,2	85,1	102,9	93,8	94,7
Professores	-	-	-	-	86,2	113,3
<b>Total</b>	<b>93,2</b>	<b>84,5</b>	<b>83,8</b>	<b>100,2</b>	<b>83,5</b>	<b>85,5</b>

\*2013: ≥ 6 meses a < 2 anos; a partir de 2014: ≥ 6 meses a < 5 anos

Fonte: Sistema de Informação do Programa Nacional de Imunizações, novembro/2018. Dados sujeitos a alteração

## Vírus Emergentes

### Influenza aviária

A maioria dos vírus da influenza aviária não causa doença em seres humanos, no entanto alguns têm potencial zoonótico. O exemplo mais conhecido é o vírus influenza A(H5N1) e, mais recentemente, o vírus influenza A(H7N9), circulando em aves domésticas em partes da Ásia e nordeste da África, responsáveis pela ocorrência de casos e óbitos em humanos desde 1997. Apesar do relato de alguns agregados de casos, inclusive envolvendo profissionais de saúde, as evidências epidemiológicas e virológicas atuais sugerem que esses subtipos virais não possuem capacidade de transmissão sustentada entre humanos e o risco permanece baixo.

Todos os casos humanos de influenza acometidos por um novo subtipo devem ser notificados, de acordo com o Regulamento

Sanitário Internacional (RSI, 2005). Isto inclui qualquer influenza animal ou ainda um vírus sazonal que não esteja circulando. As informações provenientes dessas notificações subsidiam a avaliação de risco para a influenza com interface homem-animal.

### Influenza A (H5)

De 2003 até novembro de 2018, 860 casos confirmados laboratorialmente de infecção humana por influenza A(H5N1), incluindo 454 óbitos, foram notificados à OMS por 16 países (Figura 11).

Desde 2004, 20 casos de influenza aviária A(H5N6) em humanos foram reportados, todos na China. Recentemente, o vírus influenza A(H5N6) foi detectado em regiões da Europa e Ásia, todos constitutivamente diferentes dos que acometeram os casos humanos.

**Tabela 5.** Distribuição dos casos de influenza aviária A(H5N1), ano e país de ocorrência, 2003-2018

Country	2003-2009*		2010-2014**		2015		2016		2017		2018		Total	
	cases	deaths	cases	deaths	cases	deaths	cases	deaths	cases	deaths	cases	deaths	cases	deaths
Azerbaijan	8	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	8	5
Bangladesh	1	0	6	1	1	0	0	0	0	0	0	0	8	1
Cambodia	9	7	47	30	0	0	0	0	0	0	0	0	56	37
Canada	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1
China	38	25	9	5	6	1	0	0	0	0	0	0	53	31
Djibouti	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
Egypt	90	27	120	50	136	39	10	3	3	1	0	0	359	120
Indonesia	162	134	35	31	2	2	0	0	1	1	0	0	200	168
Iraq	3	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3	2
Lao People's Democratic Republic	2	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	2
Myanmar	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
Nigeria	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1
Pakistan	3	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3	1
Thailand	25	17	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	25	17
Turkey	12	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	12	4
Viet Nam	112	57	15	7	0	0	0	0	0	0	0	0	127	64
<b>Total</b>	<b>468</b>	<b>282</b>	<b>233</b>	<b>125</b>	<b>145</b>	<b>42</b>	<b>10</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>2</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>860</b>	<b>454</b>

\* 2003-2009 total figures. Breakdowns by year available on subsequent tables.

\*\* 2010-2014 total figures. Breakdowns by year available on subsequent tables.

Total number of cases includes number of deaths.

WHO reports only laboratory cases.

All dates refer to onset of illness.

Source: WHO/GIP, data in HQ as of 1 November 2018



Fonte: [http://www.who.int/influenza/human\\_animal\\_interface/2018\\_11\\_01\\_tableH5N1.pdf?ua=1](http://www.who.int/influenza/human_animal_interface/2018_11_01_tableH5N1.pdf?ua=1)

## Influenza A(H7)

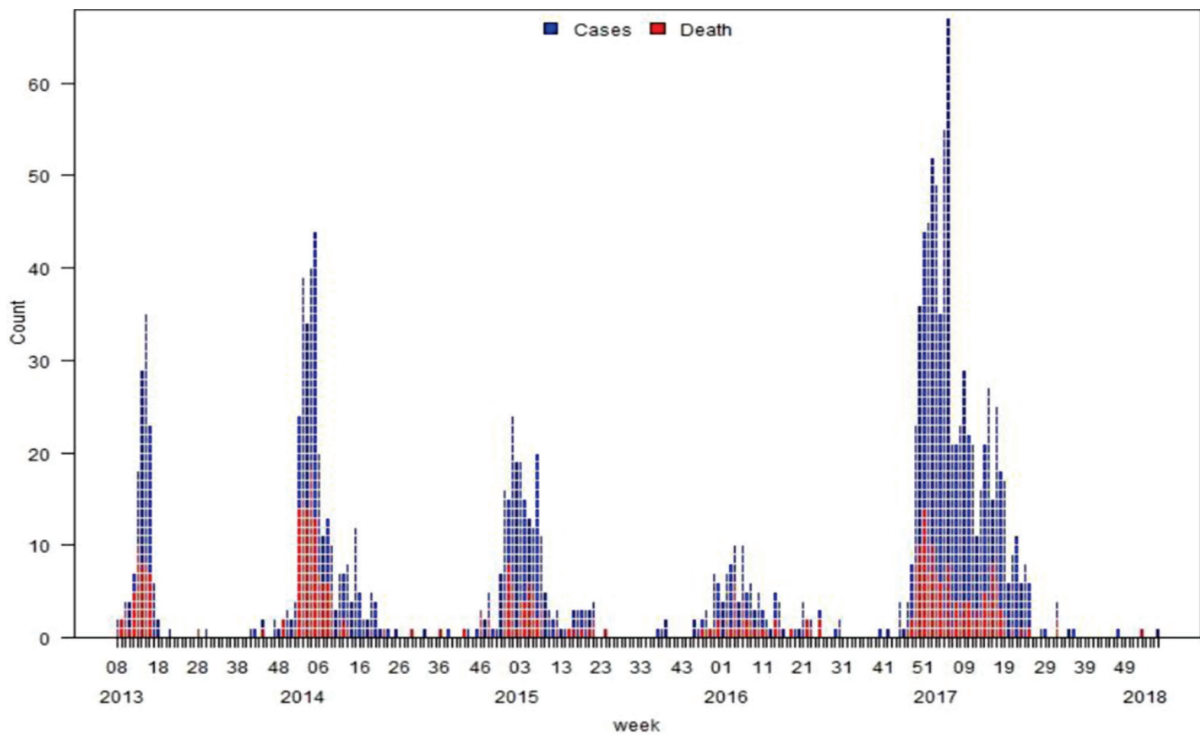
Desde 2013 até o início do ano de 2018, 1.567 casos de influenza A(H7N9), incluindo 615 óbitos, foram reportados à OMS (Figura 12). Durante a quinta onda epidêmica deste subtipo, houve um maior número de infecções humanas, com maior distribuição geográfica dos casos, quando comparado a edições anteriores. Houve uma necessidade de fortalecimento da vigilância e das medidas de controle, tanto no setor de saúde humana, quanto na saúde animal.

De acordo com a Organização das Nações Unidas para Agricultura e Alimentação (FAO), durante as atividades de vigilância de influenza aviária A(H7N9) China, foram detectadas amostras positivas em aves domésticas de mercados livres, fazendas comerciais e aves de quintal.

Uma campanha de vacinação em nível nacional contra influenza A(H7) na China está em andamento desde 2017, adicionalmente à vacinação contra influenza A(H5). Desde então, a detecção dos referidos vírus entre aves continua ocorrendo, porém em níveis menores, quando comparado aos anos precedentes.

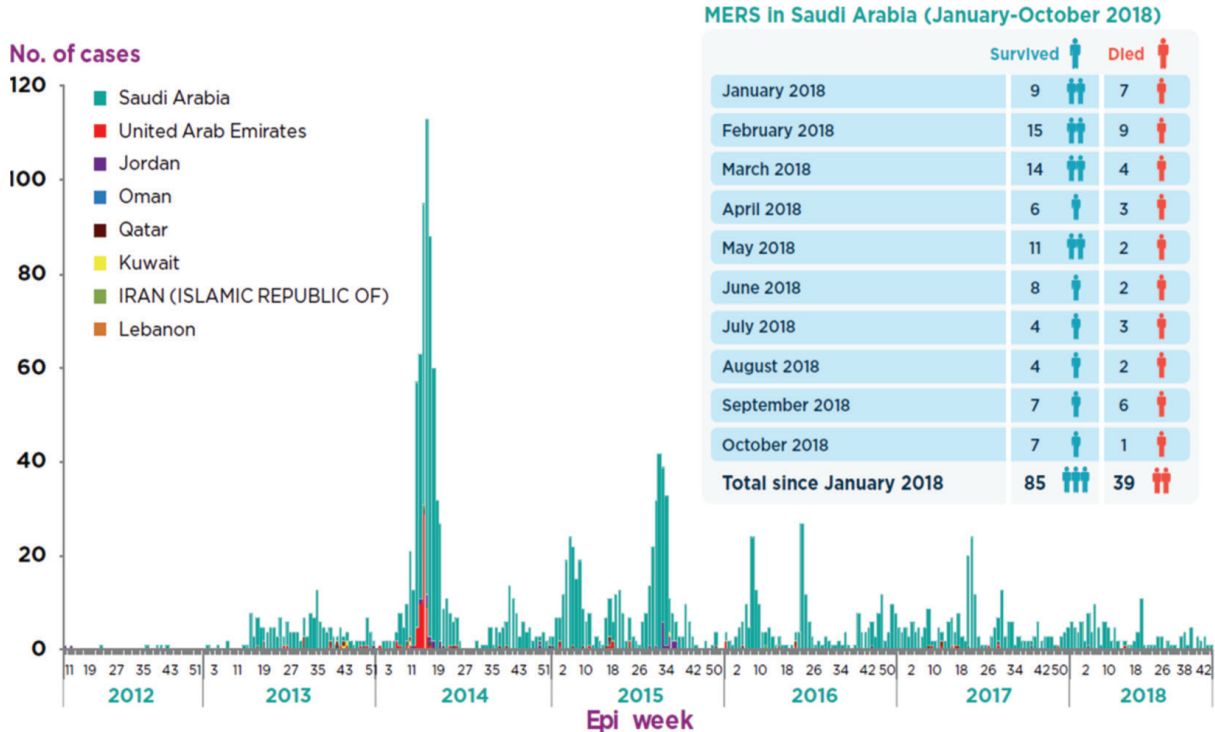
## Síndrome Respiratória do Oriente Médio – Coronavírus (MERS – CoV)

A Síndrome Respiratória do Oriente Médio foi identificada pela primeira vez na Arábia Saudita em 2012. Trata-se de uma doença viral causada por um novo coronavírus (MERS-CoV). De abril de 2012 ao final de outubro de 2018, foram registrados 2.266 casos confirmados de MERS-CoV, distribuídos em 27 países, incluindo 804 óbitos (Figura 13).



Fonte: [http://www.who.int/influenza/human\\_animal\\_interface/Influenza\\_Summary\\_IRA\\_HA\\_interface\\_02\\_03\\_2018.pdf?ua=1](http://www.who.int/influenza/human_animal_interface/Influenza_Summary_IRA_HA_interface_02_03_2018.pdf?ua=1)

**Figura 11.** Distribuição dos casos de influenza aviária A(H7N9), segundo semana epidemiológica de início de sintomas, 2013-2018



Fonte: <http://www.emro.who.int/health-topics/mers-cov/situation-update.html>

**Figura 12.** Distribuição dos casos confirmados de MERS-CoV, segundo semana epidemiológica de início de sintomas e área de ocorrência, 2012- SE 42/2018

A infecção pode ocorrer a partir do contato direto ou indireto com dromedários infectados, que parecem ser o maior reservatório de MERS-CoV. Embora seja pouco provável uma transmissão sustentada inter-humana, transmissão secundária para contatos próximos desprotegidos é claramente um risco, especialmente nos serviços de saúde, como documentado no surto da Coreia do Sul registrado em 2015. Foram identificados casos de transmissão interpessoal, principalmente durante o contato próximo com o paciente, como ocorre com profissionais de saúde e cuidadores domiciliares, ficando claro o papel essencial da adoção de medidas de precaução padrão e de gotícula durante o contato próximo com o doente. No sentido de conter aglomerados nosocomiais, esforços redobrados são vitais para prevenir a transmissão desse vírus respiratório.

Os sintomas típicos da doença incluem febre, tosse e dificuldade respiratória. Pneumonia é comum, mas pode não se fazer presente. Sintomas gastrintestinais, incluindo diarreia, também têm sido relatados. Casos graves se relacionam a pessoas com comorbidades associadas. Além da identificação precoce de casos suspeitos, destaca-se a necessidade de identificar o histórico de viagem dos pacientes, manter o monitoramento de contatos e de se adequar às medidas de controle de infecção em unidades de assistência à saúde.

### **Recomendações Gerais**

Com base no acima exposto, recomenda-se fortemente que todos os serviços de saúde, em nível estadual e municipal, alertem seus principais equipamentos públicos e

privados para que os profissionais de saúde continuem a priorizar:

- 1) a detecção precoce e o monitoramento de eventos incomuns;
- 2) a investigação de casos graves individuais ou em situações de surto;
- 3) o monitoramento das infecções respiratórias agudas e os vírus circulantes;
- 4) a manutenção e atualização frequente dos fluxos de distribuição de medicamentos e dos sistemas de informações (Sinan online Influenza, Sivep-Gripe, Sinan Net Surtos etc.);
- 5) o monitoramento dos grupos de risco aumentado para o desenvolvimento de doenças graves;
- 6) o monitoramento das coberturas vacinais e a homogeneidade (vacina contra influenza), notadamente nos grupos prioritários, no sentido de fortalecer as ações de vigilância, imunização e assistência;
- 7) a indicação e utilização do OSELTAMIVIR de forma adequada e o mais precoce possível, em conformidade com o protocolo vigente do MS;
- 8) a revitalização dos Planos de Ação frente aos Eventos de Massa, no sentido de fortalecer a capacidade de detecção e resposta, bem como fomentar a colaboração multissetorial e a integralidade das ações;
- 9) a comunicação de risco, instrumento fundamental de gestão em saúde pública e seus determinantes,



com inclusão de todas as partes envolvidas no processo e na adequação das informações;

10) a atenção para mudanças do padrão antigênico e genético dos vírus circulantes, como

também o aparecimento de resistência antiviral;

11) o estímulo às boas práticas de Etiqueta Respiratória;

12) o estabelecimento e fortalecimento de parcerias.



Acesse a versão eletrônica em:  
[www.ccd.saude.sp.gov.br](http://www.ccd.saude.sp.gov.br)

Rede de Informação e Conhecimento:  
<http://ses.sp.bvs.br/php/index.php>

Colabore com o BEPA:  
[bepa@saude.sp.gov.br](mailto:bepa@saude.sp.gov.br)

Resumo

## Avaliação *in vitro* da atividade antifúngica dos óleos essenciais de *Eugenia caryophyllus*, *Thymus vulgaris* e seus compostos químicos majoritários sobre *Cryptococcus neoformans*

Patricia de Souza Santos; Maria de Fátima Costa Pires (orientadora)

Programa de Pós-Graduação em Ciências. Coordenadoria de Controle de Doenças. Secretaria de Estado da Saúde. São Paulo. Brasil, 2016

### RESUMO

*Cryptococcus neoformans* é uma levedura patogênica, agente etiológico da meningoencefalite criptocócica, manifestação clínica mais frequente da criptococose, que tem uma alta taxa de mortalidade nos países em desenvolvimento e apresentam fatores de virulência que diretamente influenciam a infecção no hospedeiro. Uma doença infecciosa cosmopolita que ocorre por inalação das leveduras e se manifesta com mais frequência em indivíduos com baixa imunidade celular. *C. neoformans* tem tropismo pelas células do sistema nervoso central. Para o tratamento da criptococose, a droga de escolha é a anfotericina B associada ou não a 5-flucitosina, apesar da alta toxicidade e nefrotoxicidade. O objetivo deste trabalho foi avaliar a atividade antifúngica dos óleos essenciais de *Eugenia caryophyllus* e *Thymus vulgaris* e seus compostos químicos majoritários sobre *Cryptococcus neoformans*. Em doses subinibitórias, avaliar a produção de cápsula e de exoenzimas proteinase e fosfolipase, antes e após exposição aos óleos essenciais e seus compostos químicos majoritários e avaliar a mistura dos compostos químicos sobre isolados de *C. neoformans* sensíveis aos óleos essenciais. Foram utilizados 18 isolados biológicos de origem humana, sendo 07 de pacientes com sorologia positiva para o HIV e 11 com sorologia desconhecida para o HIV, 20 isolados de origem ambiental e 02 cepas padrão de *C. neoformans*: ICB 163 D (NIH 163D) e ATCC 90112. Para a avaliação da atividade antifúngica e obtenção da concentração inibitória mínima (CIM) utilizou-se a técnica de microdiluição em caldo, em meio RPMI 1640, com polissorbatato Tween 20 a 0,02% como tensoativo. E a confirmação da inibição em Agar Sabouraud dextrose, a 37°C por 48 horas, com obtenção da concentração fungicida mínima (CFM). Para cada óleo essencial e seus compostos químicos majoritários foram encontrados os seguintes resultados de CFM50 e CFM90: *E. caryophyllus* CFM50 0,19% e CFM90 1,56%; para seus compostos majoritários: Eugenol 99% CFM50 24,75% e CFM90 99%;  $\beta$ -cariofileno 80% CFM50 40% e CFM90 80%. Para o óleo de *T. vulgaris* CFM50 0,09% e CFM90 1,56%; para seus compostos majoritários: Linalol 97% CFM50 e CFM90 97%; P-Cimeno 99% CFM50 e CFM90 de 99%; Carvacrol 98% CFM50 24,50% e CFM90 49%; Timol 95,5% CFM50 24,8% e CFM90 49,7%. Quanto à produção de proteinase e fosfolipase, todos os isolados eram fortemente positivos, produtores das exoenzimas e após exposição aos óleos essenciais e seus compostos majoritários todos se tornaram não produtores. Quanto à presença de cápsulas, todos os isolados apresentavam cápsula e após contato com os óleos e seus compostos majoritários, ocorreu redução ou ausência da mesma, bem como as células de leveduras tenderam a se agrupar em número de 2, 4 ou mais células com aumento de tamanho. Para a pesquisa da mistura entre os compostos químicos majoritários, obtiveram-se os seguintes resultados quanto às CFMs 50 e 90: Eugenol 84,10% e  $\beta$ -cariofileno 12,67% - CFM 50 e CFM90 96,77%; P-Cimeno 14,43% e Linalol 8,49% - CFM 50 e CFM90 de 22,92%; de P-Cimeno 14,43% e Carvacrol 5,08% - CFM50 e CFM90 de 19,51%; P-Cimeno 14,43% e Timol 62,13% - CFM50 e CFM90 de 76,56%; Linalol 8,49% e Timol 62,13% - CFM50 35,31% e CFM90 de 70,62%; Linalol 8,49% e Carvacrol 62,13% - CFM50 e CFM90 de 13,57%; Timol 62,13% e Carvacrol 5,08% - CFM50 8,4% e CFM90 33,6%. A mistura de Timol 62,13%, Carvacrol 5,08%, P-Cimeno 14,43% e Linalol 8,49% foram CFM50 de 2,81% e CFM90 90,13%. Pelo exposto e nas condições desse estudo, conclui-se que as CFMs de cada composto químico majoritário sobre os isolados biológicos, apresentaram atividade antifúngica com concentrações superiores às do óleo essencial total.

**PALAVRAS-CHAVE:** *Cryptococcus neoformans*. Óleos essenciais. Antifúngicos naturais. Microdiluição em caldo. *Eugenia caryophyllus*. *Thymus vulgaris*. Eugenol.  $\beta$ -cariofileno. Linalol. P-Cimeno. Carvacrol. Timol.

Abstract

## *In vitro* evaluation of the antifungal activity of the essential oils of *Eugenia caryophyllus*, *Thymus vulgaris* and their chemical compounds on *Cryptococcus neoformans*

Patricia de Souza Santos; Maria de Fátima Costa Pires (orientadora)

Programa de Pós-Graduação em Ciências. Coordenadoria de Controle de Doenças. Secretaria de Estado da Saúde. São Paulo. Brasil, 2016

### ABSTRACT

*Cryptococcus neoformans* is a pathogenic yeast, etiologic agent of cryptococcal meningoencephalitis, most common clinical manifestation of cryptococcosis, which has a high mortality rate in developing countries and have virulence factors that directly influence the infection in the host. A cosmopolitan infectious disease that occurs by inhalation of yeasts and manifests more frequently in individuals with low cellular immunity. *C. neoformans* has tropism for cells of the central nervous system. For the treatment of cryptococcosis the drug of choice is amphotericin B associated or not to 5-flucitosina despite the high toxicity and nephrotoxicity. The objective of this study was to evaluate the antifungal activity of essential oils of *Eugenia caryophyllus* and *Thymus vulgaris* and its major chemical compounds on *Cryptococcus neoformans*. In subinibitory evaluate the dose capsule production and proteinase exoenzyme and phospholipase, before and after exposure to essential oils and chemicals its controlling and evaluating the mixture of chemical compounds on *C. neoformans* isolates sensitive to essential oils. human were used 18 isolated biological origin and, 07 patients with positive serology for HIV and 11 with unknown HIV status, 20 environmental isolates and 02 standard strains of *C. neoformans*: ICB 163 D (NIH 163D) and ATCC 90112. for the evaluation of the antifungal activity and obtaining the minimum inhibitory concentration (MIC) used the broth microdilution technique in RPMI 1640 medium with Tween 0.02% polysorbate 20 as surfactant. And confirmation of inhibition Sabouraud dextrose agar at 37 ° C for 48 hours to obtain the minimum fungicidal concentration (MFC). For each essential oil and its major chemical compounds the following results MFC50 and MFC90 were found: *E. caryophyllus* CFM50 CFM90 0.19% and 1.56%; for its major compounds: Eugenol 99% 24.75% MFC50 and MFC90 99%;  $\beta$ -caryophyllene 80% MFC50 CFM90 40% and 80%. For *T. vulgaris* oil MFC50 MFC90 0.09% and 1.56%; for its major compounds: Linalool 97% MFC50 and MFC90 97%; P-cymene and 99% MFC50 MFC90 99%; Carvacrol 98% and 24.50% MFC50 MFC90 49%; Thymol MFC50 95.5% 24.8% and 49.7% MFC90. For the production of proteinase and phospholipase all isolates were strongly positivprodutores of exoenzymes and after exposure to essential oils and their major compounds all became not producers. Regarding the presence of capsules all isolates had capsule and after contact with oils and their major compounds caused a reduction or lack thereof, as well as yeast cells tended to cluster numbers of 2, 4 or more cells with increased size. For the research of the mixture between the main chemical compounds, the following results as the CFMs were obtained 50 and 90: Eugenol 84.10% and  $\beta$ -caryophyllene 12.67% - MFC50 and MFC90 96.77%; P-Cymene Linalool 14.43% and 8.49% - MFC50 and MFC90 22.92%; P-cymene 14.43% and 5.08% Carvacrol - MFC50 and MFC90 of 19.51%; P-cymene and thymol 14.43% 62.13% - MFC50 and MFC90 of 76.56%; Linalool and thymol 8.49% 62.13% - 35.31% MFC50 and MFC90 of 70.62%; Linalool 8.49% and 62.13% Carvacrol - MFC50 and MFC90 of 13.57%; 62.13% Thymol and Carvacrol 5.08% - 8.4% and MFC50 MFC90 33.6%. A mixture of 62.13% thymol, 5.08% Carvacrol, P-Cymene Linalool 14.43% and 8.49% were MFC50 MFC90 2.81% and 90.13%. For these reasons and under the conditions of this study, it is concluded that the CFMs of each major chemical on biological strains showed antifungal activity at concentrations higher than the overall essential oil.

**KEYWORDS:** *Cryptococcus neoformans*. Essential oils. Natural antifungals. Microdilution broth. *Eugenia caryophyllus*. *Thymus vulgaris*. Eugenol.  $\beta$ -caryophyllene. Linalool. P-cymene. Carvacrol. Thymol.

## INSTRUÇÕES AOS AUTORES

O BEPA. **Boletim Epidemiológico Paulista, criado em 2004**, é uma publicação mensal da Coordenadoria de Controle de Doenças (CCD), órgão da Secretaria de Estado da Saúde de São Paulo (SES-SP), responsável pelo planejamento e execução das ações de promoção à saúde e prevenção de quaisquer riscos, agravos e doenças, nas diversas áreas de abrangência do Sistema Único de Saúde de São Paulo (SUS-SP).

### Missão

Editado nos formatos impresso e eletrônico, o BEPA tem o objetivo de documentar e divulgar trabalhos relacionados à vigilância em saúde, de maneira ágil, estabelecendo um canal de comunicação entre as diversas áreas técnicas e instâncias do SUS-SP. Além de disseminar informações entre os profissionais de saúde, o Boletim propõe o incentivo à produção de trabalhos técnico-científicos desenvolvidos no âmbito da rede de saúde. Nesse sentido, proporciona a atualização e o aprimoramento dos profissionais e das instituições responsáveis pelos processos de prevenção e controle de doenças, das esferas pública e privada.

### Arbitragem

Os manuscritos submetidos ao BEPA devem atender às instruções aos autores, que seguem as diretrizes dos Requisitos Uniformes para Manuscritos Apresentados a Periódicos Biomédicos, editados pela Comissão Internacional de Editores de Revistas Médicas (Committee of Medical Journals Editors – Grupo de Vancouver), disponíveis em: <http://www.icmje.org/>

### Processo de revisão

Os trabalhos publicados no BEPA passam por processo de revisão por especialistas. A Coordenação Editorial faz uma revisão inicial para avaliar se os autores atenderam aos padrões do boletim, bem como às normas para o envio dos originais. Em seguida, artigos originais e de revisão são encaminhados a dois revisores da área pertinente, sempre de instituições distintas daquela de origem dos artigos, e cegos quanto à identidade e vínculo institucional dos

autores. Após receber os pareceres, os Editores, que detêm a decisão final sobre a publicação ou não dos trabalhos, avaliam a aceitação dos artigos sem modificações, a recusa ou a devolução aos autores com as sugestões apontadas pelos revisores.

### Tipos de artigo

**1. Artigo original** – Apresenta resultados originais provenientes de estudos sobre quaisquer aspectos da prevenção e controle de riscos e agravos e de promoção da saúde, desde que no escopo da epidemiologia, incluindo relatos de casos, surtos e/ou vigilância. Esses artigos devem ser baseados em novos dados ou perspectivas relevantes para a saúde pública. Devem relatar os resultados a partir de uma perspectiva de saúde pública, podendo, ainda, ser replicados e/ou generalizados por todo o sistema (o que foi encontrado e o que a sua descoberta significa). Extensão máxima de 6.000 palavras; 10 ilustrações (tabelas, figuras, gráficos e fotos); 40 referências bibliográficas. Resumo em português e em inglês (*abstract*), com no máximo 250 palavras, e entre três e seis palavras-chave (*keywords*).

**2. Revisão** – Avaliação crítica sistematizada da literatura sobre assunto relevante à saúde pública. Devem ser descritos os procedimentos adotados, esclarecendo os limites do tema. Extensão máxima de 6.000 palavras; resumo (*abstract*) de até 250 palavras; entre três e seis palavras-chave (*keywords*); sem limite de referências bibliográficas; seis ilustrações (tabelas, figuras, gráficos e fotos).

**3. Artigos de opinião** – São contribuições de autoria exclusiva de especialistas convidados pelo Editor Científico, destinadas a discutir ou tratar, em maior profundidade, de temas relevantes ou especialmente oportunos, ligados às questões de saúde pública. Não há exigência de resumo ou *abstract*.

**4. Artigos especiais** – São textos não classificáveis nas categorias acima referidas, aprovados pelos Editores por serem considerados de especial relevância. Sua revisão admite critérios próprios, não havendo limite de tamanho ou exigências prévias quanto à bibliografia.

**5. Comunicações rápidas** – São relatos curtos, destinados à rápida divulgação de eventos significativos



no campo da vigilância à saúde. A sua publicação em versão impressa pode ser antecedida de divulgação em meio eletrônico. Extensão máxima de 2.000 palavras; sendo opcional a inclusão de resumo (até 150 palavras), palavras-chave (entre três e seis), ilustrações e referências. É recomendável que os autores das comunicações rápidas apresentem, posteriormente, um artigo mais detalhado.

**6. Informe epidemiológico** – Tem por objetivo apresentar ocorrências relevantes para a saúde coletiva, bem como divulgar dados dos sistemas públicos de informação sobre doenças, agravos, e programas de prevenção ou eliminação. Sua estrutura é semelhante à do artigo original, porém sem resumo ou palavras-chave; extensão máxima de 5.000 palavras; 15 referências; quatro ilustrações (tabelas, figuras, gráficos e fotos).

**7. Informe técnico** – Texto institucional que tem por objetivo definir procedimentos, condutas e normas técnicas das ações e atividades desenvolvidas no âmbito da Secretaria de Estado da Saúde de São Paulo (SES-SP). Inclui, ainda, a divulgação de práticas, políticas e orientações sobre promoção à saúde e prevenção e controle de riscos e agravos. Extensão máxima de 5.000 palavras; seis ilustrações (tabelas, figuras, gráficos e fotos); 30 referências bibliográficas. Não inclui resumo nem palavras-chave.

**8. Resumo** – Serão aceitos resumos de teses e dissertações até dois anos após a defesa. Devem conter os nomes do autor e do orientador, título do trabalho (em português e inglês), nome da instituição em que foi apresentado e ano de defesa. No máximo 250 palavras e entre três e seis palavras-chave.

**9. Pelo Brasil** – Deve apresentar a análise de um aspecto ou função específica da promoção à saúde, vigilância, prevenção e controle de agravos nos demais Estados brasileiros. Extensão máxima de 3.500 palavras; resumo com até 250 palavras; entre três e seis palavras-chave; 20 referências; seis ilustrações (tabelas, figuras, gráficos e fotos).

**10. Atualizações** – Textos que apresentam, sistematicamente, atualizações de dados estatísticos gerados pelos órgãos e programas de prevenção e controle de riscos, agravos e doenças do Estado de São Paulo. Até 3.000 palavras e oito ilustrações. Não inclui resumo nem palavras-chave.

**11. Republicação de artigos** – são artigos publicados em outros periódicos de relevância, nacionais ou

internacionais, abordando temas importantes cuja veiculação seja considerada, pelos Editores, de grande interesse à saúde.

**12. Relatos de encontros** – Devem focar o conteúdo do evento e não sua estrutura. Extensão máxima de 2.000 palavras; 10 referências (incluindo eventuais *links* para a íntegra do texto). Não incluem resumo nem palavras-chave.

**13. Notícias** – São informações oportunas de interesse para divulgação no âmbito da saúde pública. Até 600 palavras, sem a necessidade de referências.

**14. Dados epidemiológicos** – Atualizações de dados estatísticos sobre agravos e riscos relevantes para a saúde pública, apresentadas por meio de tabelas e gráficos. Inclui contextualização dos dados em até 300 palavras.

**15. Recortes Históricos – Texto com informações que registram determinado período, personagem ou fato da história da saúde pública e da ciência.** Sua revisão admite critérios próprios da Coordenação Editorial. A inclusão de bibliografia é opcional.

**16. Cartas** – As cartas permitem comentários sobre artigos veiculados no BEPA, e podem ser apresentadas a qualquer momento após a sua publicação. No máximo 600 palavras, sem ilustrações.

Observação: Informes técnicos, Informes epidemiológicos, Pelo Brasil, Atualizações e Relatos de encontros devem ser acompanhados de carta de anuência do diretor da instituição à qual o(s) autor(es) e o objeto do artigo estão vinculados.

#### **Apresentação dos trabalhos**

A cada trabalho deverá ser anexada uma carta de apresentação, assinada por todos os autores, dirigida à Coordenação Editorial do Boletim Epidemiológico Paulista. Nela deverão constar as seguintes informações: o trabalho não foi publicado, parcial ou integralmente, em outro periódico; nenhum autor tem vínculos comerciais que possam representar conflito de interesses com o trabalho desenvolvido; todos os autores participaram da elaboração do seu conteúdo (elaboração e execução, redação ou revisão crítica, aprovação da versão final).

Os critérios éticos da pesquisa devem ser respeitados. Nesse sentido, os autores devem explicitar, em MÉTODOS, que a pesquisa foi concluída de acordo com os padrões exigidos pela Declaração de Helsinkí e aprovada por comissão de ética reconhecida pela Comissão Nacional

de Ética em Pesquisa (Conep), vinculada ao Conselho Nacional de Saúde (CNS).

O trabalho deverá ser redigido em Português (BR), com entrelinhamento duplo. O manuscrito deve ser encaminhando em formato eletrônico (e-mail, CD-Rom) e impresso (folha A4), aos cuidados da Coordenação Editorial do BEPA, no seguinte endereço:

**Boletim Epidemiológico Paulista**  
Av. Dr. Arnaldo, 351, 1º andar, sala 124  
Pacaembu – São Paulo/SP – Brasil  
CEP: 01246-000  
E-mail: bepa@saude.sp.gov.br

### Estrutura dos textos

O manuscrito deverá ser apresentado segundo a estrutura das normas de Vancouver: título; autores e instituições; resumo e abstract; introdução; metodologia; resultados; discussão e conclusão; agradecimentos; referências bibliográficas; e tabelas, figuras e fotografias.

**Página de rosto** – Contém o título do artigo, que deve ser conciso, específico e descritivo, em português e inglês. Em seguida, deve ser colocado o nome completo de todos os autores e a instituição a que pertencem; indicação do autor responsável pela troca de correspondência; se subvencionado, indicar o nome da agência de fomento que concedeu o auxílio e o respectivo nome/número do processo; se foi extraído de dissertação ou tese, indicar título, ano e instituição em que foi apresentada.

**Resumo** – Colocado no início do texto, deve conter a descrição, sucinta e clara, dos propósitos do estudo, metodologia, resultados, discussão e conclusão do artigo. Em muitos bancos de dados eletrônicos o resumo é a única parte substantiva do artigo indexada e, também, o único trecho que alguns leitores leem. Por isso, deve refletir, cuidadosamente, o conteúdo do artigo.

**Palavras-chave (descritores ou unitermos)** – Seguindo-se ao resumo, devem ser indicadas no mínimo três e no máximo seis palavras-chave do conteúdo, que têm por objetivo facilitar indexações cruzadas dos textos e publicações pela base de dados, juntamente com o resumo. Em português, as palavras-chave deverão ser extraídas do vocabulário Descritores em Ciências em Saúde (DeCS), da Bireme (<http://decs.bvs.br/>); em inglês, do Medical Subject Headings (<http://www.nlm.nih.gov/mesh/>). Caso não sejam encontradas palavras-chave adequadas à temática

abordada, termos ou expressões de uso corrente poderão ser empregados.

**Introdução** – Iniciada em página nova, contextualiza o estudo, a natureza das questões tratadas e sua significância. A introdução deve ser curta, definir o problema estudado, sintetizar sua importância e destacar as lacunas do conhecimento abordadas.

**Metodologia (Métodos)** – Deve incluir apenas informação disponível no momento em que foi escrito o plano ou protocolo do estudo (toda a informação obtida durante a condução do estudo pertence à seção de resultados). Deve conter descrição, clara e sucinta, acompanhada da respectiva citação bibliográfica, dos procedimentos adotados, a população estudada (universo e amostra), instrumentos de medida e, se aplicável, método de validação e método estatístico.

– Devem ser apresentados em sequência lógica no texto, tabelas e figuras, colocando primeiramente as descobertas principais ou mais importantes. Os resultados encontrados devem ser descritos sem incluir interpretações e/ou comparações. Sempre que possível, devem ser apresentados em tabelas e figuras autoexplicativas e com análise estatística, evitando-se sua repetição no texto.

**Discussão** – Deve começar com a apreciação das limitações do estudo, seguida da comparação com a literatura e da interpretação dos autores, explorando adequada e objetivamente os resultados.

**Conclusão** – Traz as conclusões relevantes, considerando os objetivos, e indica formas de continuidade do trabalho.

**Agradecimentos** – Em havendo, deve-se limitar ao mínimo possível, sempre ao final do texto.

**Citações bibliográficas** – A exatidão das referências bibliográficas é de responsabilidade dos autores. Ao longo do artigo, o número de cada referência deve corresponder ao número sobrescrito, **colocado sem parênteses e imediatamente após a respectiva citação**. Devem ser numeradas, a partir daí, consecutivamente.

Exemplo:

“No Brasil, a hanseníase ainda é um problema a ser equacionado e, no Estado de São Paulo, há várias regiões com altas taxas de detecção.<sup>1</sup> Dentre as diversas medidas tomadas pelo Ministério da Saúde (MS)<sup>2</sup> para eliminação da hanseníase como um problema de saúde pública no País, atingindo a prevalência de um caso para cada 10 mil habitantes, destacam-se as ações de educação e informação,

preconizadas para todos os níveis de complexidade de atenção.”

**Referências bibliográficas** – listadas ao final do trabalho, devem ser numeradas de acordo com a ordem em que são citadas no texto. A quantidade de referências deve se limitar ao definido em cada tipo de artigo aceito pelo BEPA. Boletim Epidemiológico Paulista.

A normalização das referências deve seguir o estilo *Uniform Requirements for Manuscripts Submitted to Biomedical Journals* (Vancouver), <http://www.icmje.org/>.

Para referências cujos exemplos não estejam contemplados neste texto, consultar os *links*: Guia de Apresentação de Teses (Modelo para Referências) da Faculdade de Saúde Pública/USP, [http://www.bvs-p.fsp.usp.br:8080/html/pt/paginas/guia/i\\_anexo.htm](http://www.bvs-p.fsp.usp.br:8080/html/pt/paginas/guia/i_anexo.htm) ou *Citing Medicine, 2nd edition*, <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK7256/>.

Segundo as normas de Vancouver, os títulos de periódicos são abreviados conforme aparecem na Base de dados PubMed, da *US National Library of Medicine*, disponível no site <http://www.pubmed.gov>, selecionando *Journals Database*.

Para consultar títulos de periódicos nacionais e latino-americanos: <http://portal.revistas.bvs.br/main.php?home=true&lang=pt>.

Exemplos de Referências:

a) Artigos de periódicos:

Se a publicação referenciada apresentar dois ou mais autores, indicam-se até os seis primeiros, seguidos da expressão *et al.*

1. Opromolla PA, Dalbem I, Cardim M. Análise da distribuição espacial da hanseníase no Estado de São Paulo, 1991-2002. *Rev bras epidemiol.* 2005;8(4):356-64.
2. Ponce de Leon P, Valverde J, Zdero M. Preliminary studies on antigenic mimicry of *Ascaris Lumbricoides*. *Rev latinoam microbiol.* 1992;34:33-8.
3. Carlson K. Reflections and recommendations on reserch ethics in developing countries. *Soc Sci Med.* 2002;54(7):1155-9.

b) Livros:

1. Pierson D, organizador. *Estudos de ecologia humana: leituras de sociologia e antropologia social*. São Paulo: Martins Fontes; 1948.

A indicação da edição é necessária a partir da segunda.

c) Capítulos de livro:

1. Wirth L. História da ecologia humana. In: Pierson D, organizador. *Estudos de ecologia humana: leituras de sociologia e antropologia social*. São Paulo: Martins Fontes; 1948. p.64-76.

d) Autoria corporativa:

1. Ministério da Saúde, Secretaria de Políticas de Saúde. *Amamentação e uso de drogas*. Brasília (DF); 2000.
2. Organización Mundial de la Salud. *Como investigar el uso de medicamentos em los servicios de salud. Indicadores seleccionados del uso de medicamentos*. Ginebra; 1993. (DAP. 93.1).

e) Dissertações de mestrado, teses e demais trabalhos acadêmicos:

1. Moreira MMS. *Trabalho, qualidade de vida e envelhecimento [dissertação de Mestrado]*. Rio de Janeiro: Escola Nacional de Saúde Pública; 2000.
2. Rotta CSG. *Utilização de indicadores de desempenho hospitalar como instrumento gerencial [tese de Doutorado]*. São Paulo: Faculdade de Saúde Pública da USP; 2004.

f) Trabalhos apresentados em congressos, simpósios, encontros, seminários e outros:

1. Levy MSF. Mães solteiras jovens. In: *Anais do 9º Encontro Nacional de Estudos Populacionais*; 1994; Belo Horizonte, BR. São Paulo: Associação Brasileira de Estudos Populacionais; 1995. p. 47-75.
2. Fischer FM, Moreno CRC, Bruni A. What do subway workers, commercial air pilots, and truck drivers have in common? In: *Proceedings of the 12. International Triennial Congress of the International Ergonomics Association*; 1994 Aug 15-19; Toronto, Canada. Toronto: IEA; 1994. v. 5, p. 28-30.

g) Documentos eletrônicos:

1. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística – IBGE [boletim na internet]. Síntese de indicadores sociais 2000 [acesso em 5 mar. 2004]. Disponível em: <http://www.ibge.gov.br>
2. Sociedade Brasileira de Pediatria. *Calendário de vacinas para crianças/2008* [base de dados na internet]. Disponível em: [http://www.sbp.com.br/show\\_item2.cfm?id\\_categoria=21&id\\_detalhe=2619&tipo\\_detalhe=s&print=1](http://www.sbp.com.br/show_item2.cfm?id_categoria=21&id_detalhe=2619&tipo_detalhe=s&print=1)

3. Carvalho MLO, Pirotta KCM, Schor N. Participação masculina na contracepção pela ótica feminina. Rev Saúde Pública [periódico na internet]. 2001 [acesso em 25 maio 2004];35:23-31. Disponível em: [http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0034-9102001000100004&lng=pt&nrm=iso&tlng=pt](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-9102001000100004&lng=pt&nrm=iso&tlng=pt)

h) Legislação:

1. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. Instrução Normativa n. 62, de 26 de agosto de 2003. Oficializa os métodos analíticos oficiais para análises microbiológicas para o controle de produtos de origem animal e água. Diário Oficial da União. 18 set. 2003; Seção 1:14.
2. São Paulo (Estado). Lei n. 10.241, de 17 de março de 1999. Dispõe sobre os direitos dos usuários dos serviços e das ações de saúde no Estado e dá outras providências. Diário Oficial do Estado de São Paulo. 18 mar. 1999; Seção 1:1.
3. Casos não contemplados nestas instruções devem ser citados conforme indicação do *Committee of Medical Journals Editors* (Grupo Vancouver), disponível em <http://www.cmje.org>.

**Tabelas** – devem ser apresentadas em folhas separadas ou arquivo a parte, numeradas consecutivamente com

algarismos arábicos, na ordem em que forem citadas no texto. A cada uma deve ser atribuído um título breve, evitando-se linhas horizontais ou verticais. Notas explicativas devem ser limitadas ao menor número possível e colocadas no rodapé das tabelas, não no cabeçalho ou título. Os arquivos não poderão ser apresentados em formato de imagem.

**Quadros** – são identificados como tabelas, seguindo numeração única em todo o texto. A exemplo das tabelas, devem ser apresentados, da mesma forma, em folhas separadas ou arquivo a parte, numerados consecutivamente com algarismos arábicos, na ordem em que forem citados no texto. Também não poderão ser apresentados no formato de imagem.

**Figuras** – fotografias, desenhos, gráficos etc., citados como figuras, devem ser numerados consecutivamente, em algarismos arábicos, na ordem em que forem mencionados no texto, por número e título abreviado no trabalho. As legendas devem ser apresentadas conforme as tabelas. As ilustrações devem ser suficientemente claras para permitir sua reprodução, em resolução de no mínimo 300 dpi.

**Orientações Gerais** – tabelas, ilustrações e outros elementos gráficos devem ser nítidos e legíveis, em alta resolução. Se já tiverem sido publicados, mencionar a fonte e anexar a permissão para reprodução. O número de elementos gráficos está limitado ao definido em cada tipo de artigo aceito pelo BEPA. Abreviaturas, quando citadas pela primeira vez, devem ser explicadas.

**Instruções na íntegra em:**

<http://www.saude.sp.gov.br/coordenadoria-de-controle-de-doencas/publicacoes/bepa-edicoes-em-pdf>



Acesse a versão eletrônica em:  
[www.ccd.saude.sp.gov.br](http://www.ccd.saude.sp.gov.br)

Rede de Informação e Conhecimento:  
<http://ses.sp.bvs.br/php/index.php>

Colabore com o BEPA:  
[bepa@saude.sp.gov.br](mailto:bepa@saude.sp.gov.br)



