

Boletim Epidemiológico Paulista

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

BEPA 71

Volume 6 Número 71 novembro/2009

BEPa

Boletim Epidemiológico Paulista

ISSN 1806-423-X

Volume 6 Nº 71

novembro de 2009

Nesta edição

- Infecção de células BHK-21 cultivadas em monocamadas estacionárias por cepas de vírus PV e CVS
Infection of BHK-21 cells cultivated in stationary monolayers by PV and CVS strains 4
- Inquérito de cobertura vacinal e evento adverso à vacina de febre amarela no município de Buri, São Paulo, Brasil, 2009
Vaccine coverage and adverse reactions to yellow fever vaccine survey in Buri city, Sao Paulo State, 2009 12
- Leishmaniose visceral americana: situação atual no Brasil
Leishmaniasis: current situation in Brazil 25
- Instruções aos Autores
Autor's Instructions 30

Expediente

Editor Geral

Clelia Maria Sarmiento Souza Aranda

Editores Associados

Affonso Viviane Junior – Suceu/SP
Ana Freitas Ribeiro – CVE/CCD/SES-SP
Fernando Fiuza – Instituto Clemente Ferreira/CCD/SES-SP
Lilian Nunes Schiavon – CD/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
Marta Lopes Salomão – IAL/CCD/SES-SP
Neide Yume Takaoka – Instituto Pasteur/CCD/SES-SP

Comitê Editorial

Adriana Bugno – IAL/CCD/SES-SP
Artur Kalichmam – CRT/AIDS/CCD/SES-SP
Cristiano Corrêa de Azevedo Marques – Instituto Butantan/SES-SP
Dalma da Silveira – CVS/CCD/SES-SP
Gerusa Figueiredo – CCD/SES-SP
José da Silva Guedes – Santa Casa-SP
Maria Bernadete de Paula Eduardo – CVE/CCD/SES-SP
Maria de Fátima Costa Pires – PPG/CCD/SES-SP
Telma Regina Carvalhanas – CVE/CCD/SES-SP
Vera Camargo-Neves – CCD/SES-SP
Virgília Luna – Suceu/SES-SP

Consultores Científicos

Albert Figueiras – Espanha
Alexandre Silva – CDC Atlanta
Eliseu Alves Waldman – FSP/USP-SP
Exedito José de Albuquerque Luna – USP
Carlos M. C. Branco Fortaleza – FM/Unesp/Botucatu- SP
Gonzalo Vecina Neto – FSP/USP
José Cássio de Moraes – FCM-SC/SP
Gustavo Romero – UnB/CNPQ
Hiro Goto – IMT/SP
José da Rocha Carvalho – FIOCRUZ-RJ
Luiz Jacintho da Silva – FM/Unicamp
Maria Mercia Barradas – ABEC
Myrna Sabino – IAL/CCD/SES-SP
Paulo Roberto Teixeira – OMS
Ricardo Ishak – CNPQ/UF Pará
Roberto Focaccia – IER/SES-SP
Vilma Pinheiro Gawyszewsk – OPAS

Coordenação Editorial

Cecília S. S. Abdalla
Cláudia Malinverni
Letícia Maria de Campos
Sylia Rehder

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

Projeto gráfico/editoração eletrônica
Marcos Rosado – Centro de Produção e Divulgação Científica – CCD/SES-SP
Zilda M Souza – Nive/CVE/CCD/SES-SP



Endereço:
Av. Dr Arnaldo, 351
1º andar – sala 135
CEP: 01246-000 – Cerqueira César,
São Paulo/SP – Brasil
Tel.: 55 11 3066-8823/8824/8825
E-mail: bepa@saude.sp.gov.br
<http://.ccd.saude.sp.gov.br>

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 qualquer fim comercial. Para republicação de qualquer material, solicitar autorização dos editores.

Infecção de células BHK-21 cultivadas em monocamadas estacionárias por cepas de vírus PV e CVS

Infection of BHK-21 cells cultivated in stationary monolayers by PV and CVS strains

Alexandre Mendes Batista; Paula Sônia Cruz; Eliana de Almeida; Ana Elena Boamorte da Costa; Karin Corrêa Scheffer; Luciana Botelho Chaves; Andréa de Cássia Rodrigues da Silva; Graciane Maria Medeiros Caporale

Instituto Pasteur. Coordenadoria de Controle de Doenças. Secretaria de Estado da Saúde. São Paulo, SP, Brasil

RESUMO

O vírus da raiva pode estar presente em diferentes tecidos e órgãos, tornando possível a sua replicação em diversos tipos de culturas celulares. Considerando a fundamental importância da produção desse vírus *in vitro* para a realização de testes diagnósticos, produção de soros hiperimunes e pesquisas, o objetivo deste estudo foi avaliar a infecção viral das cepas PV (*Pasteur Virus*) e CVS (*Challenge Virus Standard*) em linhagem de células BHK-21 (*Baby Hamster Kidney*). As células foram infectadas com as cepas PV e CVS e cultivadas em frascos estacionários de cultivo celular e em microplacas com lamínulas, a 37°C por até 96 horas. A cada três horas foram coletadas alíquotas do sobrenadante dos frascos, para acompanhamento da concentração das partículas virais, e lamínulas para avaliar a infecção viral nas células. As avaliações foram realizadas por imunofluorescência direta, para definição da maior diluição em que as suspensões virais infectaram 100% da monocamada confluyente de células BHK-21 e para avaliar o aumento da intensidade de fluorescência, expressa em cruzes (+ a ++++), identificando o antígeno viral, demonstrado por fotodocumentação. A presença de partículas virais foi observada a partir de nove horas pós-infecção, em ambas as cepas. As partículas virais das cepas PV e CVS no sobrenadante foram obtidas a partir de 15 e 18 horas de incubação, respectivamente, sendo observada a maior concentração de partículas nas suspensões virais das duas cepas, 72 horas pós-infecção. Portanto, o protocolo usado demonstrou eficiência, independente da cepa empregada, permitindo a obtenção de bons títulos nas suspensões virais produzidas.

PALAVRAS-CHAVE: Vírus da raiva. Cepas PV e CVS. Células BHK-21. Replicação

viral.

ABSTRACT

The rabies virus can be present in different tissues and organs, so it makes possible its replication in a wide variety of cells cultures. Because of the critical importance of virus production *in vitro* to achievement of diagnostic tests, production of hyperimmune sera and researches, the aim of this study was evaluate the viral replication of strains PV (Pasteur Virus) and CVS (Challenge Virus Standard) in cells lines BHK-21 (Baby Hamster Kidney). The cells were infected with strains PV and CVS and cultivated on stationary cell culture flasks and on microplates with cover glass slides on 37°C until 96 hours. Every 3 hours aliquots of supernatant were collected of the flasks for monitoring the virus particles concentration and glass cover to evaluate viral infection in cells. The evaluations were performed by direct immunofluorescence, to determinate the higher dilution that the viral suspensions infected 100% of the BHK-21 confluent monolayer and to evaluate the increase of fluorescence intensity, express by crosses (+ to ++++), identifying the viral antigen demonstrated by photos. The presence of viral particles was observed from 9 hours post-infection with both strains. The viral particles of CVS and PV strains on supernatant were obtained from 15 and 18 hours of incubation, respectively and the higher concentration of particles on viral suspensions was observed 72 hours post-infection. Therefore, the protocol used demonstrated efficiency independent of viral strain used allowing the obtaining of good titers in viral suspensions produced.

KEY WORDS: Rabies virus. PV and CVS strains. BHK-21 cells. Viral replication.

INTRODUÇÃO

O vírus da raiva é intensamente neurotrópico, mas em animais infectados, após a replicação no sistema nervoso central (SNC), pode ser encontrado na maioria dos órgãos, nos quais muitas vezes pode ser eficientemente replicado. Não é surpreendente, portanto, que o vírus da raiva possa ser cultivado em uma imensa variedade de linhagens celulares.¹

Desde 1913, quando NOGUCHI e LEVADITI, citado por KING (1996),¹ aplicaram pela primeira vez técnicas de cultura de tecidos a

estudos *in vitro* do vírus da raiva, foi demonstrada a suscetibilidade de diversas culturas primárias de células, de rim de diferentes espécies animais, à infecção com o vírus da raiva, permitindo o uso desse sistema para a produção de vacinas.²⁻⁵

Embora as linhagens celulares de origem neuronal tenham sido consideradas sistemas mais sensíveis para testes diagnósticos, com o aparecimento das linhagens celulares de cultura contínua uma grande diversidade de células não neuronais tem sido usada

atualmente em estudos e procedimentos relacionados ao vírus da raiva.⁶⁻¹¹

A linhagem contínua de células BHK-21 (*Baby Hamster Kidney*)¹² foi descrita como substrato favorito para investigação *in vitro* do vírus da raiva por sua extrema suscetibilidade, passando a ser usada, portanto, para produção de vírus empregado em estudos de concentração e purificação, investigações de microscopia eletrônica e produção de vacinas concentradas e purificadas.¹³

Com o estabelecimento de testes diagnósticos da raiva, revelados pela ligação de anticorpos específicos conjugados à substância fluorescente (isotiocianato de fluoresceína) aos antígenos virais, a linhagem de células BHK-21 também passou a ser usada para o isolamento de variantes de vírus de rua¹⁴ e para a avaliação sorológica,¹⁵⁻¹⁷ sendo necessária, portanto, a produção de vírus fixos nessa linhagem celular para a execução das técnicas.

O objetivo deste estudo foi avaliar a infecção viral das cepas PV (*Pasteur Virus*) e CVS (*Challenge Virus Standard*) em linhagem de células BHK-21 cultivadas em monocamadas estacionárias.

MATERIAL E MÉTODOS

Cultura de células

Foi utilizada linhagem de células BHK-21 (C-13; ATCC CCL-10), mantida em frascos estacionários de plástico com superfície aderente de 25 cm² (T25). O meio essencial mínimo de Eagle (MEM), com sais de Earle, suplementado com 10% de soro fetal bovino inativado, foi utilizado para o cultivo celular, sendo os frascos mantidos a 37°C por 3-4 dias para obtenção das monocamadas confluentes.

Vírus

As cepas de vírus fixos PV e CVS adaptadas à linhagem celular BHK-21, em monocamadas estacionárias, foram utilizadas para infectar as células. Os títulos infectantes de ambas as cepas virais foram determinados em microplacas de 96 orifícios, preparadas adicionando-se 50µL de 5x10⁴ células BHK-21 em cada orifício, com 50µL de diluições seriadas em razão 2 de cada uma das cepas. Após 24 horas de incubação, em atmosfera úmida contendo 5% de CO₂, o sobrenadante foi aspirado dos orifícios; as monocamadas de células foram fixadas com acetona 80% gelada. Foi adicionado conjugado antivírus da raiva, produzido no Instituto Pasteur – órgão da Coordenadoria de Controle de Doenças da Secretaria de Estado da Saúde de São Paulo (CCD/SES-SP) –, lote IP.TOT3/06, e as microplacas foram incubadas a 37°C por uma hora.

Por observação em microscópio invertido LEICA DMIL para fluorescência, aumento 100x, uma dose infectante em cultura de células (DICC100) foi estabelecida como sendo a diluição do vírus que infectou 100% das células observadas em um orifício da microplaca, o que foi correspondente a 1:80 para PV e 1:300 para CVS.

Suspensões BHK-21/Vírus

Suspensões BHK-21/PV e BHK-21/CSV foram preparadas para a produção das cepas PV e CVS em cultura da linhagem celular BHK-21 e para o preparo da infecção em lamínulas de vidro. Para tanto, as células em monocamadas confluentes dos frascos T25 foram individualizadas com solução Tripsina-EDTA (0,2%), ressuspensas com MEM na concentração de 10⁵ células/mL e adicionadas na mesma proporção a cada suspensão das cepas

de vírus PV e CVS, diluídas em MEM 1:80 e 1:300, respectivamente.

Produção das cepas PV e CVS em cultura de células BHK-21

Foram utilizados quatro frascos T25, sendo dois para a suspensão BHK-21/PV e dois para BHK-21/CVS. Em cada frasco foram adicionados 2mL da suspensão célula/vírus e 8mL de MEM. Os frascos foram mantidos por 96 horas, a 37°C, e a cada três horas 100µL do sobrenadante dos frascos foram coletados e armazenados a -20°C, até o momento do uso.

Avaliação da produção dos antígenos

Para a determinação da DICC100 nas alíquotas coletadas foi realizado o teste de imunofluorescência direta (IFD) em microplacas de 96 orifícios. Foram realizadas 12 diluições seriadas de cada alíquota, na razão 2, começando de 1:2, colocando-se 100µL da alíquota no primeiro orifício e adicionando-se 100µL de MEM. Em seguida, foram adicionados 50µL de MEM e 50µL de células BHK-21 na concentração de 10^5 células/mL. As microplacas foram incubadas a 37°C em atmosfera contendo 5% de CO₂ por 24 horas e as células foram fixadas, em banho de gelo, com acetona 80% gelada.

A reação foi revelada com adição de conjugado antivírus da raiva produzido pelo Instituto Pasteur, lote IP.TOT3/06, diluído 1:240. A leitura foi realizada em microscópio invertido LEICA DMIL para fluorescência com aumento de 100x. A DICC100 foi determinada pela maior diluição em que as suspensões virais infectaram 100% do tapete confluyente de células BHK-21.

A presença do antígeno viral na primeira diluição das alíquotas (1:2) nas microplacas foi analisada pela observação do aumento da intensidade de fluorescência, expressa em cinco classes, sendo: classe 0 (-) ausência de focos fluorescentes; classe 1 (+) com raros focos fluorescentes, menos de 25% do campo analisado; classe 2 (++) com focos fluorescentes em 50% do campo analisado; classe 3 (+++) com focos fluorescentes em 75% do campo analisado; e classe 4 (++++) com focos fluorescentes em mais de 75% do campo analisado. Ressalta-se que o campo analisado foi toda a monocamada de células dos orifícios da microplaca.

Infecção das células em lamínulas

Foram colocadas lamínulas de vidro em microplacas de seis orifícios e adicionados 200µL das mesmas suspensões, BHK-21/PV e BHK-21/CVS e 2mL de MEM. Foram incubadas a 37°C em atmosfera contendo 5% de CO₂, no período máximo de 96 horas. A cada três horas uma lamínula de cada cepa viral foi coletada, fixada por dez minutos em acetona PA gelada e armazenada a -20°C. As lamínulas foram aderidas às lâminas de vidro para a realização da IFD, e o mesmo lote de conjugado fluorescente antivírus da raiva, com a mesma diluição, foi utilizado para a revelação do teste.

As lâminas foram incubadas a 37°C em atmosfera úmida, por 30 minutos, lavadas com solução tampão fosfato de sódio (PBS) 0,01 molar pH 7.2 e água deionizada; após a secagem foi adicionada glicerina tamponada pH 8.5. A observação da reação foi realizada em microscópio invertido Nikon Eclipse TE2000-S, para fluorescência, com lâmpada HBO-100, aumento 200x e demonstrada por meio de fotodocumentação.

RESULTADOS

Avaliação da produção dos antígenos

Conforme demonstram a Tabela 1 e a Figura 1, a avaliação da presença do antígeno viral nas suspensões coletadas em diferentes períodos, expressando em cruces o aumento da intensidade de fluorescência produzida pela infecção viral das alíquotas 1:2 nas células BHK-21 cultivadas em microplacas, demonstrou classe 3 (+++) na observação de focos fluorescentes com a cepa PV e classe 2 (++) com CVS, nas alíquotas coletadas no momento zero da infecção.

Nas alíquotas coletadas no período entre 3 e 18 horas pós-infecção, observou-se diminuição da concentração de partículas, com menos de 25% de infecção do campo. A partir de 21 horas pós-infecção houve aumento gradativo da concentração de partículas virais, permitindo a observação de intensidade de fluorescência classe 2 (++) , passando para classe 3 (+++) nas alíquotas de 24 horas e classe 4 (++++) com 27 horas, sendo observada essa classe em todas as alíquotas seguintes até 96 horas pós-infecção.

Interpretação dos resultados: classe 0 (-), ausência de focos fluorescentes; classe 1 (+), com raros focos fluorescentes, menos de 25% do campo analisado; classe 2 (++) , com focos fluorescentes em 50% do campo analisado; classe 3 (+++) , com focos fluorescente em 75% do campo analisado; e classe 4 (++++), com focos fluorescentes em mais de 75% do campo analisado.

A Figura 2 demonstra os valores DICC100 das suspensões virais produzidas por infecção com as cepas PV e CVS, após os diferentes momentos. Observou-se que no período de 3 a 24 horas pós-infecção ambas as cepas mantiveram baixa concentração viral. De 24 a 48 horas, a suspensão viral infectada com a cepa CVS apresentou maior concentração das

partículas virais em relação à infectada com a cepa PV, embora esta também tenha apresentado elevação nesse período. Na alíquota coletada 72 horas pós-infecção, observou-se a presença da maior concentração de antígenos das cepas PV e CVS com DICC100 correspondente a 1:96, seguida de diminuição na alíquota coletada 96 horas pós-infecção.

Tabela 1. Intensidade de fluorescência expressa em cruces, identificando a presença de antígenos das cepas PV e CVS em suspensões virais diluídas 1:2.

Período de incubação (h)	BHK-21/PV	BHK-21/CVS
0	+++	++
3	+	+
6	+	+
9	+	+
12	+	+
15	+	+
18	+	+
21	++	++
24	+++	+++
27	++++	++++
30	++++	++++
33	++++	++++
36	++++	++++
48	++++	++++
72	++++	++++
96	++++	++++

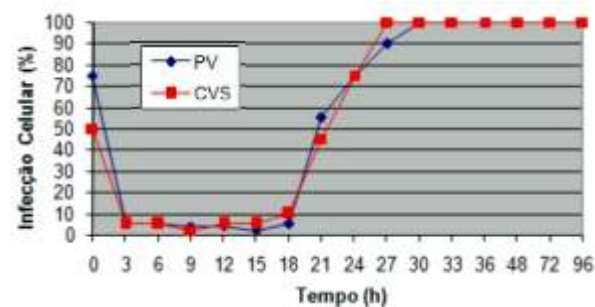


Figura 1. Percentual de infecção das monocamadas confluentes de células BHK-21 com suspensões virais diluídas 1:2, reveladas por meio da técnica de imunofluorescência direta.

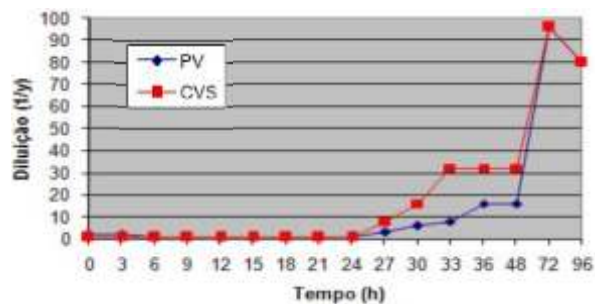


Figura 2. Valores de DICC100 das suspensões virais em monocamada confluyente de células BHK-21, reveladas por meio da técnica de imunofluorescência direta.

Infecção das células em lamínulas

Avaliando-se as lamínulas coletadas a partir de nove horas pós-infecção da cultura de células BHK-21 pelas cepas PV e CVS foi possível observar reação positiva para o antígeno da raiva, mas, devido à pouca intensidade de

fluorescência (menos de 5% do campo observado), não foi possível fotodocumentá-la. Na Figura 3 está demonstrado o aumento gradativo da presença dos antígenos virais em células BHK-21 infectadas com as cepas PV e CVS, nos períodos de 12, 18 e 24 horas.

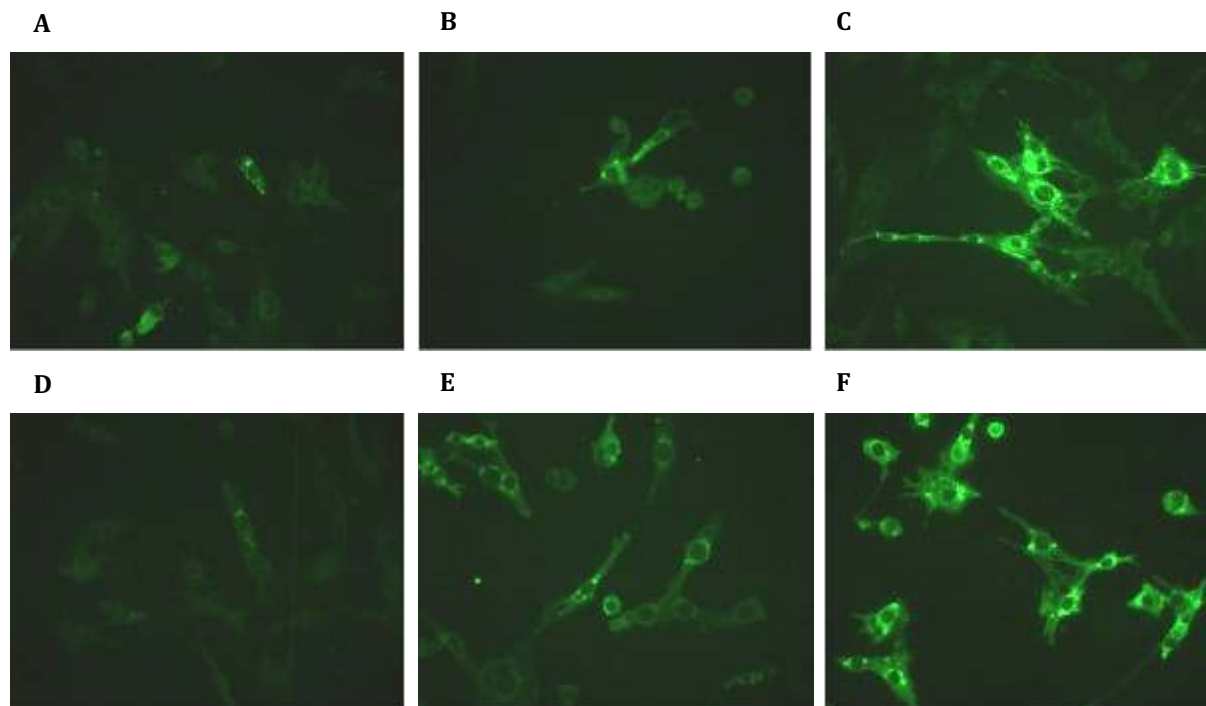


Figura 3. Imunofluorescência direta de células BHK-21 infectadas com as cepas PV e CVS (aumento 200x). (A) Células BHK-21 com 12 horas pós-infecção com a cepa CVS. (B) Células BHK-21 com 18 horas pós-infecção com a cepa CVS. (C) Células BHK-21 com 24 horas pós-infecção com a cepa CVS. (D) Células BHK-21 com 12 horas pós-infecção com a cepa PV. (E) Células BHK-21 com 18 horas pós-infecção com a cepa PV. (F) Células BHK-21 com 24 horas pós-infecção com a cepa PV.

DISCUSSÃO

Embora a avaliação dos títulos em DICC 100, apresentados pelas alíquotas de ambas as suspensões virais produzidas pelas células BHK-21 infectadas com as cepas PV e CVS, tenham demonstrado que no período de 0 a 24 horas pós-infecção as suspensões não atingiram concentrações de partículas virais satisfatórias, os títulos de 27 a 48 horas pós-infecção indicam a presença de partículas virais com aumento gradativo das

concentrações, sendo superiores nas suspensões cuja infecção foi pelo vírus CVS.

A diferença observada na avaliação realizada por IFD em microplacas, a qual apresentou intensidade de fluorescência de classe 3 (+++) para PV e classe 2 (++) para CVS nas alíquotas coletadas no momento 0 da infecção, apesar de ambas as cepas terem sido preparadas para infectar 100% das células, pode ser a explicação para os diferentes

títulos apresentados nas suspensões preparadas com infecção pelas duas cepas virais, no período de 27 a 48 horas pós-infecção. Pode, ainda, estar relacionada às fases de adsorção e penetração das partículas virais de cada cepa utilizada, sugerindo que as partículas da cepa CVS tenham adsorvido e penetrado nas células mais rapidamente do que as partículas da cepa PV, sendo liberadas em maior quantidade para o sobrenadante.

A diminuição da concentração das partículas virais nas suspensões das cepas PV e CVS entre 3 e 24 horas pós-infecção já era esperada, devido ao período necessário para adsorção, penetração e replicação das partículas virais nas células.

A partir de 21 horas pós-infecção a concentração começou a aumentar, atingindo o pico máximo em 27 horas em ambas as cepas, mostrando que com pouco mais de um dia novas partículas virais íntegras já estão brotando para infectarem novas células.

A obtenção de grande concentração de partículas virais da cepa CVS com 48 horas pós-infecção torna possível, com este período, o estabelecimento de protocolos de replicação para obtenção

de concentrações adequadas para uso em testes diagnósticos.¹⁹ Ambas as cepas virais atingiram o máximo de rendimento antigênico com 72 horas pós-infecção, portanto, o momento ideal de coleta de sobrenadante para obtenção da maior concentração viral para uso. O fato de ainda com 96 horas pós-infecção muitas partículas virais serem liberadas mostra que as células mantêm-se viáveis para a produção de vírus.

A produção de vírus da raiva em linhagens celulares é extremamente importante, tanto para a obtenção de conhecimento sobre a cepa viral empregada como para a produção de grandes volumes ou concentrações de antígeno que poderão ser utilizados para a purificação de proteínas, obtenção de soros hiperimunes, produção de imunorreagentes, realização de testes diagnósticos e produção de vacinas.^{1,18,19}

AGRADECIMENTOS

À Dra. Ivanete Kotait, Assistente Técnica de Saúde, pela valiosa contribuição, e à Dra. Zélia Maria Pinheiro Peixoto, ambas do Instituto Pasteur, pelo incentivo e contribuição técnica.

REFERÊNCIAS

1. King AA. Cell culture of rabies virus. In: Meslin F-X, Kaplan MM, Koprowski H. Laboratory techniques in rabies. 4. ed. Geneva: World Health Organization; 1996. p. 114-30.
2. Fenje P. A rabies vaccine from hamster kidney tissue cultures: preparation and evaluation in animals. *Can J Microbiol.* 1960;6:605-9.
3. Lin F, Zeng F, Lu L, Lu X, Zen R, Yu Y, et al. The primary hamster kidney cell rabies vaccine: adaptation of viral strain, production of vaccine, and pre and postexposure treatment. *J Infect Dis.* 1983;147:467-73.
4. Atanasiu P, Tsiang H, Gamet A. A new rabies vaccine for human use prepared in primary tissue culture. *Ann Inst Pasteur: Microbiol.* 1974;125B:419-32.

5. Steenis GV, Wezel ALV, Hannik CHA, Marel PVD, Osterhaus ADME, Groot IGM, et al. Immunogenicity of dog kidney cell rabies vaccine (DKCV). In: Kuwert E, Merieux C, Koprowski H, Bogel K, editores. Rabies in the tropics. Berlin, Springer-Verlag. 1985. p. 172-80.
6. Clark HF. Systems for assay and growth of rhabdovirus. In: Bishop DHL, editor. Rhabdoviruses. Boca Raton: CRC Press; 1979. p. 23-41.
7. Clark HF. Rabies serogroup viruses in neuroblastoma cells: propagation, "autointerference" and apparently random back-mutation of attenuated viruses to the virulent state. Infect Imm. 1980;27:1012-22.
8. Iwasaki T, Clark HF. Rabies virus infection in mouse neuroblastoma cells. Lab Invest. 1977;36:578-84.
9. Tsiang H. An in vitro study of rabies pathogenesis. Bull Inst Pasteur. 1985;83:41-56.
10. Montagnon, BJ, Fournier P, Vicent-Falquet JC. Un nouveau vaccine antirabique à usage humain: rapport préliminaire. [A new rabies vaccine for human use: preliminary report.] In: Kuwert E, editor. Rabies in the tropics. Berlin: Springer-Verlag; 1985. p. 138-43.
11. Bordignon J, Piza AT, Silva MA, Caporale GMM, Carrieri ML, Kotait I, Zanetti CR. Isolation and replication of Rabies Virus in C6 Rat Glioma Cells (Clone CCl107). Biologicals. 2001;29:67-73.
12. MacPherson I, Stoker M. Polyoma transformation of hamster cell clones-an investigation of genetic factors affecting cell competence. Virology. 1962;16:147-51.
13. Wiktor TJ, Clark HF. Growth of rabies virus in cell culture. In: Baer GM. The natural history of rabies. New York: Academic Press; 1975. p. 155-79.
14. Rudd RJ, Trimarchi CV, Abelseth MK. Tissue culture technique for routine isolation of street strain rabies virus. J Clin Microbiol. 1980;12:590-3.
15. Smith JS, Yacer PA, Baer GM. A rapid reproducible test for determining rabies neutralizing antibody. Bull Wld Hlth Org. 1973;48:535-41.
16. Zalan E, Wilson C, Pukitis D. A microtest for quantitation of rabies virus neutralizing antibodies. J Biol Stand. 1979;7:213-20.
17. Favoretto SR, Carrieri ML, Tino MS, Zanetti CR, Pereira OAC. Simplified fluorescent inhibition microtest for the rabies neutralizing antibodies. Rev Inst Med Trop S Paulo. 1993;35(2):171-5.
18. Caporale GMM, Silva ACR, Peixoto ZMP, Chaves LB, Carrieri ML, Vassão RC. First production of fluorescent anti-ribonucleoproteins conjugate for diagnostic of rabies in Brazil. J Clin Lab Anal. 2009;23:7-13.
19. Schneider LG. Concentration and purification. In: Baer GM. The natural history of rabies. New York: Academic Press; 1975. p.125-40.

Recebido em: 08/09/2009
Aprovado em: 22/11/2009

Correspondência/correspondence to:

Graciane Maria Medeiros Caporale
Av. Paulista, 393 – Cerqueira César – CEP: 01311-000 – São Paulo/SP – Brasil
Tel.: 55 11 3145-3145 – graciecaporale@yahoo.com.br

Inquérito de cobertura vacinal e evento adverso à vacina de febre amarela no município de Buri, São Paulo, Brasil, 2009

Vaccine coverage and adverse reactions to yellow fever vaccine survey in Buri city, Sao Paulo State, 2009

Eduardo Stramandinoli Moreno¹; Daniel Marques¹; Gerrita Figueira¹; João Fred¹; Ronaldo Danilo Almeida²; Ricardo K. Albernaz³, Helena Sato⁴, Beatriz Yuko Kitagawa¹

¹Programa de Treinamento em Epidemiologia Aplicada aos Serviços do Sistema Único de Saúde. São Paulo, SP, Brasil

²Vigilância Epidemiológica. Buri, SP, Brasil

³Central de Vigilância Epidemiológica. Centro de Vigilância Epidemiológica. Coordenadoria de Controle de Doenças. Secretaria de Estado da Saúde. São Paulo, SP, Brasil

⁴Divisão de Imunização. Centro de Vigilância Epidemiológica. Coordenadoria de Controle de Doenças. Secretaria de Estado da Saúde. São Paulo, SP, Brasil

RESUMO

O Brasil possui extensa área endêmica para febre amarela silvestre (FAS), na qual ocorrem, anualmente, casos da doença em indivíduos não vacinados que entram em contato com o ciclo natural. No Noroeste do Estado de São Paulo a vacinação contra a febre amarela (FA) é recomendada na rotina, uma vez que há circulação esporádica do vírus naquela região. Entre fevereiro e abril de 2009, São Paulo registrou 25 casos de FAS em cinco municípios localizados fora da área de recomendação de vacinação. Esse fato levou à ampliação da área de recomendação de vacinação contra FA. Buri foi o último município incluído, sendo importante realizar inquérito de cobertura vacinal e avaliar a possível ocorrência de eventos adversos à vacina. A prevalência esperada de sintomas leves pós-vacinação é muito variável, dependendo de fatores intrínsecos de cada população, existindo poucos estudos de referência. Foi aplicado questionário semiestruturado, em zona urbana (ZU) e zona rural (ZR) de Buri, no período de 26 a 29 de abril de 2009. Na ZU realizou-se amostragem aleatória simples de 218 indivíduos; na ZR foram amostrados 256 indivíduos residentes em sete bairros de referência. A cobertura vacinal foi de 94,9% na ZU e 98,4% na ZR, sendo, portanto, inferior ao preconizado pelo Ministério da Saúde (100%). Observou-se uma prevalência de indivíduos com pelo menos algum sintoma pós-vacinação de 38,6% na ZU e 36,9% na ZR. Os sintomas febre (ZU = 15,6% e ZR = 14,3%), cefaléia (ZU = 20,6% e ZR = 27,0%) e mialgia (ZU = 26,1% e ZR = 24,6%) apresentaram prevalência acima do esperado. Foi observada alta prevalência de diarreia (ZU = 6,9% e ZR = 12,3%) e vômito (ZU = 3,2% e ZR = 10,7%), sintomas incomuns. Assim, faz-se importante avaliar sintomas gastrointestinais como possíveis eventos adversos relacionados à vacina 17DD de FA e realizar mais estudos relacionados a eventos adversos leves à vacina de FA em populações em situações reais.

PALAVRAS-CHAVE: Evento-adverso à vacina. Febre amarela. Gastrointestinal.

Trabalho realizado de 26 a 29 de abril de 2009 como rotina do EPISUS-SP, vinculado ao Centro de Vigilância Epidemiológica "Prof. Alexandre Vranjac" da Coordenadoria de Controle de Doenças, Secretaria de Estado da Saúde do de São Paulo.

ABSTRACT

Brazil has an extensive endemic area to Sylvatic Yellow Fever (SYF), where annually cases of disease occurs in non-vaccinated individuals that have contact with natural cycle. In Northwest region of São Paulo State (SPS), the immunization against Yellow Fever (YF) is recommended as routine, once that has sporadic Virus circulation in the region. Between February and April of 2009 the SPS registered 25 cases of SYF, in five cities located on YF non-recommended immunization area. Buri city was the last city included, being important make a Vaccine Coverage survey and analyze the possible occurrence of related adverse vaccine events. The expected prevalence of light pos-vaccination symptoms is very variable, existing few reference studies. A semi-structured questioner was applied, in Urban and Rural Zones (UZ and RZ) of Buri city, in April 26-29 of 2009. In UZ was used a Simple Random Sample of 218 individuals. In RZ it was sampled 256 individuals who live in seven reference neighborhoods. The Vaccine Coverage was 94,9% in UZ and 98,4% in RZ, being inferior to Minister of Health recommendation (100%). It was observed a prevalence of at least one pos-vaccination symptom of 38,6% in UZ and 36,9% in RZ. The prevalence of the symptoms: fever (UZ = 15,6% and RZ = 14,3%), headache (UZ = 20,6% and RZ = 27,0%) and myalgia (UZ = 26,1% and RZ = 24,6%) were higher than expected. It was observed high prevalence of diarrhea (UZ = 6,9% and RZ = 12,3%) and vomit (UZ = 3,2% and RZ = 10,7%), considered non-expected symptoms. Thus it's important to evaluate gastrointestinal symptoms as possible adverse events pos-vaccination with the 17DD YF vaccine and make more studies about light pos-vaccination events with the YF vaccine in different populations, in real situations.

KEY WORDS:Vaccine Adverse event. Yellow fever. Gastrointestinal.

INTRODUÇÃO

A emergência de saúde pública de importância nacional de febre amarela silvestre (FAS), que se iniciou em fevereiro de 2009 no Estado de São Paulo, registrou, até 24 de abril deste ano, um total de 72 notificações de casos suspeitos de FAS. Desses, 25 casos foram confirmados, dos quais 9 evoluíram para o óbito. Outros 45 foram descartados e

2 permaneceram em investigação. Os locais prováveis de infecção (LPI) foram: áreas rurais da divisa de Itatinga com Avaré e os município de Sarutaiá, Piraju e Buri. Todos os casos eram não-vacinados contra a febre amarela (FA).

Os municípios com recomendação de vacinação contra FA, em situações de emergência

de saúde pública são definidos a partir de critérios de classificação de áreas afetadas ou ampliadas. Essa definição é baseada na evidência da circulação do vírus: ocorrência de epizootias em primatas não-humanos (PNH) confirmadas para a FA, casos humanos confirmados ou isolamento de vírus em vetores silvestres.¹

No Noroeste do Estado de São Paulo a vacinação contra a FAS é recomendada na rotina, uma vez que há circulação esporádica do vírus na região.²⁻⁴ Nessas localidades deve ser mantida elevada a taxa de cobertura vacinal. A área de recomendação de vacinação contra FA vem aumentando no decorrer desta década, sendo que em 2008 foram incluídos mais dois Grupos de Vigilância Epidemiológica (GVE)² (Figura 1).

A partir dos casos humanos e/ou epizootias confirmados de FA em 2009, foram incluídos 43 municípios (aproximadamente 935.000 habitantes) na área de recomendação de vacinação, sendo realizada vacinação casa a casa na área rural de Sarutaiá, Itatinga, Piraju e Buri, assim como nos municípios da área de risco ampliada (municípios dentro de um raio de 30 quilômetros de algum município afetado).^{3,4}

Segundo dado administrativo, até o momento da investigação havia sido aplicado um total de 895.408 doses, correspondendo a 89,01% da população residente da região (Figura 2). No total, entre janeiro e abril de 2009 foram aplicadas 2.510.190 doses de vacina contra a FAS nas áreas com recomendação em todo o Estado, totalizando 374 municípios.

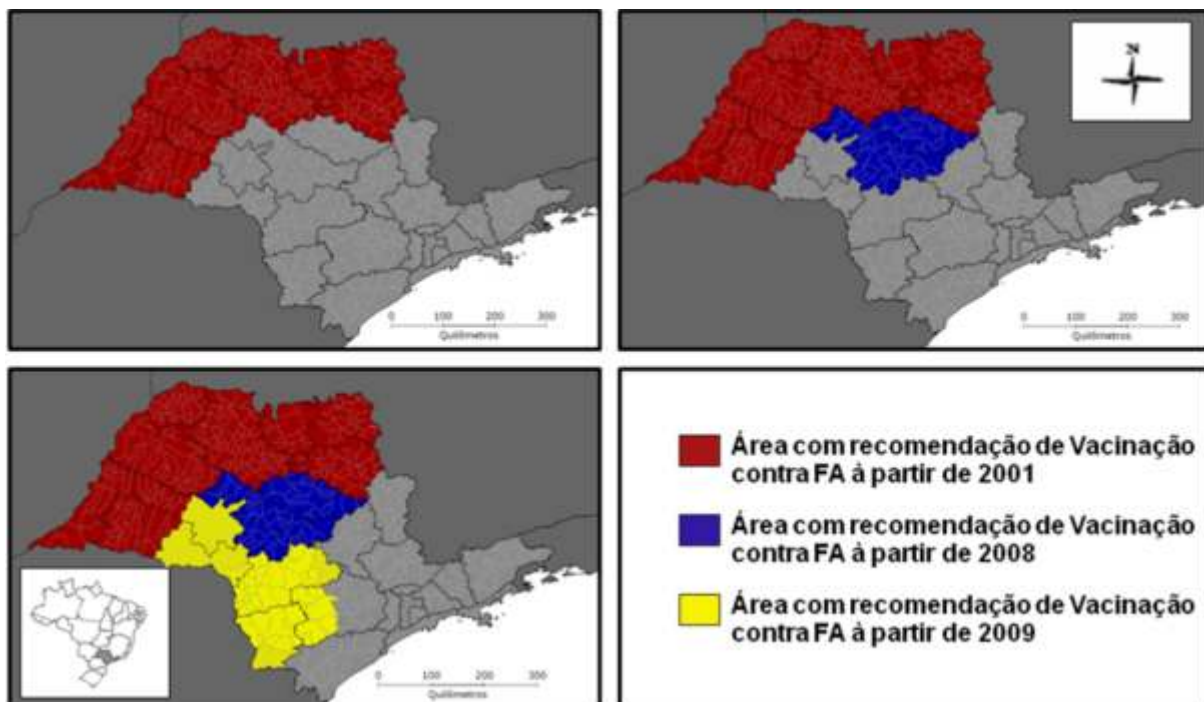


Figura 1. Evolução da área com recomendação de vacinação no Estado de São Paulo – 2001 a 2009.

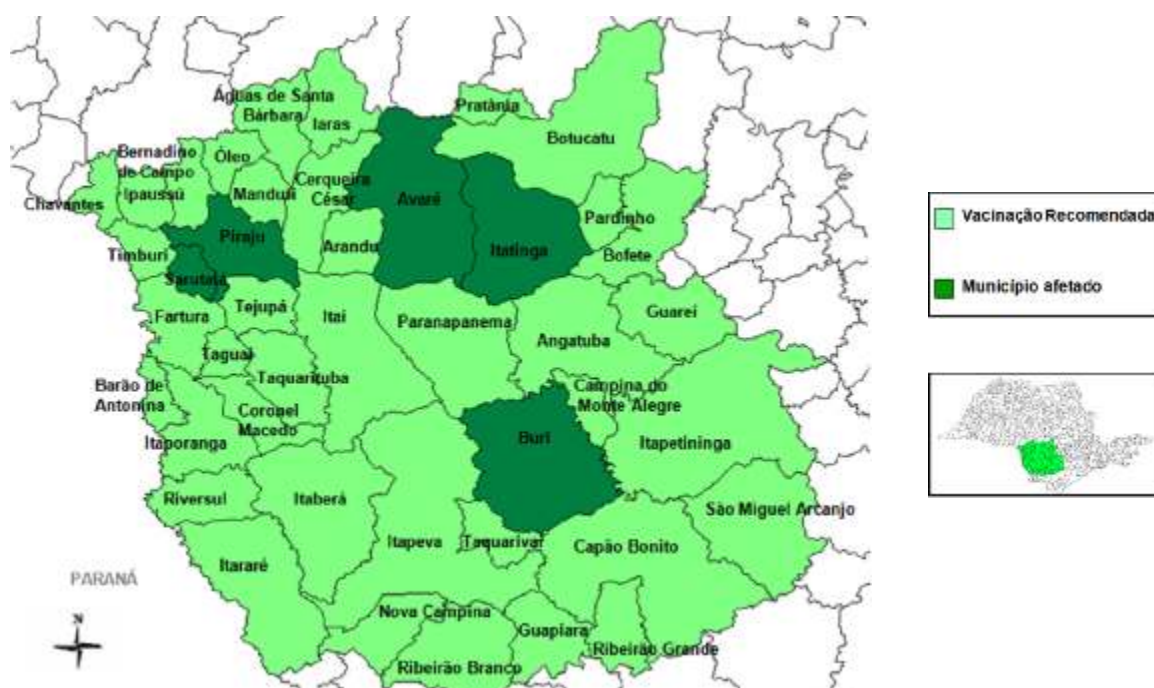


Figura 2. Área com recomendação de vacinação ampliada no Estado de São Paulo – 2009.

Buri foi incluído na área de recomendação de vacinação contra a FAS após notificação e confirmação laboratorial de casos humanos e epizootias em PNH. O município está localizado na região Sudoeste do Estado, pertencendo ao GVE de Itapeva. A equipe municipal de saúde realizou vacinação casa a casa na zona rural (ZR), utilizando como referência 36 pontos entre fazendas e bairros rurais. Na zona urbana (ZU) foi realizada campanha de vacinação em quatro postos fixos.

O período da vacinação tanto para ZU quanto ZR foi de 06/04/2009 a 10/04/2009. Segundo dado administrativo da campanha, 103,8% dos residentes do município foram vacinados. Esse fato sugere migração de pessoas residentes de outros municípios.

A cobertura vacinal preconizada pelo Programa Nacional de Imunizações (PNI) do Ministério da Saúde é de 100% para municípios localizados em zona de risco para FAS. Esta

meta nem sempre é alcançada, devido a fatores como dificuldade de acesso, divulgação ineficiente e barreiras culturais.

Outro fator importante em relação à vacinação contra FA é a possibilidade de eventos adversos. O Manual de Vigilância Epidemiológica de Eventos Adversos Pós Vacinação (2007)⁵ define evento adverso pós-vacinal como: “Qualquer ocorrência clínica indesejável em indivíduo que tenha recebido algum imunobiológico.”

Os eventos podem ser classificados quanto à intensidade em: grave, moderado e leve.⁵ A vigilância de eventos adversos pós-vacinais é passiva, o que permite que sua frequência seja subestimada. Segundo o PNI, o aumento da frequência ou intensidade habitual dos eventos adversos deve ser investigado. Vale salientar que muitos dos sintomas pós-vacinação podem ser imputados a doenças intercorrentes que ocorrem em associação temporal com a vacinação.

A vacina contra a FA é constituída de vírus vivos atenuados, derivados da linhagem 17D, cultivados em ovos embrionados de galinha. No Brasil utiliza-se a vacina produzida na Fundação Oswaldo Cruz – Bio-Manguinhos, cuja composição inclui vírus vivos atenuados da subcepa 17DD.⁵

Os eventos adversos mais comuns são: febre, cefaleia e mialgia, o que ocorre em cerca de 2%-15% dos vacinados, por volta do 5º ao 10º dia, tendo a duração em média de 1 a 2 dias^{6-10,1}

A vacinação em massa utilizando a vacina 17D é considerada segura, tendo sido registrados poucos casos de evento adverso grave pós-vacinação.^{11-18,10} Porém, a prevalência esperada de sintomas leves pós-vacinação é muito variável, dependendo de fatores intrínsecos de cada população, existindo poucos estudos de referência que avaliem o comportamento desse imunobiológico em populações em situações reais.

Portanto, sendo Buri um município de comprovada circulação viral e possuindo uma população rural significativa (mais de 30%), o que representa potencial dificuldade de acesso por parte da população, faz-se importante a realização de inquérito de cobertura vacinal. Seu objetivo é avaliar a cobertura atingida no município e possíveis eventos adversos relacionados a ela, de maneira a otimizar as medidas de controle para a doença na região e identificar bolsões de susceptibilidade.

Nesse sentido, os objetivos do estudo foram: avaliar a cobertura vacinal para FA no município de Buri, após campanha de vacinação; identificar indivíduos não vacinados para a FA e motivos da não vacinação; e descrever os possíveis eventos adversos relacionados.

MÉTODOS

Foi realizado inquérito de cobertura vacinal e evento adverso associado à vacina de FA no município de Buri, em zona urbana (ZU) e zona rural (ZR), no período de 26 a 29 de abril de 2009.

Local

O município de Buri possui uma população estimada de 18.246 (IBGE corrigido para 2009), sendo 52% do sexo masculino. Estima-se que 30% da população sejam residentes de ZR.^{19,20}

Amostragem

População de estudo

Indivíduos residentes do município de Buri que preenchem os critérios para vacinação contra FA, segundo PNI. Dessa forma, não foram amostrados indivíduos com idade inferior a 6 meses, gestantes ou com indicação médica para não vacinação.

Dados coletados

Foi realizada entrevista utilizando questionário semiestruturado, elaborado especificamente para o estudo, a qual abordava informações acerca de dados demográficos do entrevistado, tais como escolaridade e ocupação, vacinação contra FA e possíveis eventos adversos relacionados.

Unidade de amostra

A unidade amostral nas duas zonas foi o domicílio, condicionando-se que um indivíduo com idade igual ou superior a 18 anos respondesse pelos demais moradores do domicílio.

Para avaliar a qualidade dos dados foi solicitado que os indivíduos entrevistados apresentassem o cartão de vacinação de todos os moradores referidamente vacinados contra FA, sendo então classificados como: “Vacinado – Com comprovação”; no caso de não apresentação do comprovante o indivíduo foi classificado como “Vacinado – Informação verbal”.

Cálculo da amostragem

- População residente na zona urbana: 12.772 indivíduos
- População residente na zona rural: 5.474 indivíduos
- Prevalência esperada de indivíduos imunizados pelo bloqueio vacinal encerrado em 10 de abril: 95%
- Precisão absoluta (ou erro máximo tolerado): 5%
- Intervalo de confiança (IC): 95%
- Amostra mínima necessária: 73 domicílios na ZU e 72 domicílios na ZR.

Critérios para seleção da amostra

Foram utilizados diferentes métodos de seleção da amostra das zonas urbana e rural.

Para o sorteio da amostra na ZU foi utilizada a lista de imóveis com endereços, segundo catálogo do IPTU, e mapa cartográfico fornecidos pela prefeitura de Buri. Para o sorteio dos domicílios realizou-se amostragem aleatória simples, utilizando-se tabela de números aleatórios.

No caso de ausência de moradores no momento da entrevista, retornou-se ao domicílio no período noturno do mesmo dia. Após segunda visita, em caso de o mesmo continuar vazio, foi considerado como perda. O ende-

reço sorteado que não era um domicílio foi substituído pelo de numeração maior mais próximo.

A ZR do município está dividida em 36 núcleos/bairros, utilizados como referência pela equipe de saúde. Para o estudo foram selecionados sete desses núcleos/bairros. Para a seleção considerou-se: concentração populacional, distribuição espacial dentro do município (Norte, Sul, Leste e Oeste), proximidade dos LPI dos casos humanos e epizootias.

Todos os domicílios de cada ponto foram amostrados. No caso de ausência de moradores no domicílio no momento da entrevista, este foi considerado como perda.

Evento adverso

Os indivíduos vacinados foram questionados sobre possíveis eventos adversos à vacinação contra febre amarela.

Apesar da definição de evento adverso pós-vacina de FA ter como intervalo de tempo máximo entre a data de aplicação do imunobiológico e a de início de sintomas um período de dez dias, foram considerados como evento adverso neste estudo todos os intervalos a partir de um dia, com o objetivo de se identificar variações temporais diferentes do esperado. A seguinte definição de caso, foi atribuída para o estudo:

- Indivíduo residente de Buri, que recebeu imunização contra FA entre 6 e 10 de abril de 2009 e relatou a ocorrência de pelo menos um sintoma sistêmico, dentre os quais febre, cefaleia e mialgia, acompanhados ou não de outros sintomas ou sintoma local (inchaço, vermelhidão ou formação de abcesso), em um período entre 1 e 15 dias após data de imunização.

Cálculo de amostragem

Com o objetivo de garantir a representatividade da amostra utilizada para o estudo de evento adverso à vacina, foi realizado cálculo de amostragem específico:

- Prevalência esperada de indivíduos imunizados pelo bloqueio vacinal encerrado em 10 de abril de 95%:
- População estimada de imunizados na ZR: 5.200
 - ✓ população estimada de imunizados na ZU: 12.133
 - ✓ prevalência esperada de eventos adversos leves: 10%
- Precisão absoluta (ou erro máximo tolerado): 5%
- Intervalo de confiança (IC): 95%
- Amostra mínima necessária de 137 indivíduos em cada uma das zonas

Sendo este estudo complementar ao de cobertura vacinal, para alcançar o número de indivíduos citados acima considerou-se uma média superior a dois moradores por domicílio na região (IBGE).²⁰ Dessa maneira, amostrando 70 domicílios, seriam amostrados pelo menos 140 indivíduos.

Análise dos dados

Para análise dos dados foram utilizados os aplicativos: Epi-info Versão 3.5.1; Epi-info 6.0 e Microsoft Office Excel 2007.

RESULTADOS

Cobertura vacinal

Foram entrevistados 218 indivíduos na ZU e 252 na ZR. A Tabela 1 apresenta a distribuição dos indivíduos amostrados (ZU e ZR) segundo sexo e mediana de anos de idade.

Foram identificados 207 e 252 indivíduos vacinados na ZU e ZR (94,9% e 98,4% de cobertura vacinal, respectivamente). A Tabela 2 apresenta a distribuição dos indivíduos referidamente vacinados segundo sua comprovação ou não por meio do cartão de vacinação.

A Tabela 3 apresenta a distribuição dos indivíduos não vacinados contra FA segundo mediana de anos de idade e sexo. A Tabela 4 apresenta a distribuição dos indivíduos não vacinados segundo motivos para não vacinação na ZU e ZR.

Tabela 1. Número de indivíduos amostrados (informação auto-referida e não auto-referida) e sua distribuição segundo idade e sexo.

Zona	Amostra								
	Nº indivíduos			Mediana de idade (anos)			Sexo (% masculino)		
	Auto-ref.	Não auto-ref.	Total	Auto-ref.	Não auto-ref.	Total	Auto-ref.	Não auto-ref.	Total
				35	29	30			
Urbana	68*	150	218	(18-65)	(1 – 86)	(1-86)	60	55	53
				30	25	23			
Rural	66**	190	256	(18-70)	(1 – 91)	(1 – 91)	48	49	51

*6% de perdas; **9% de perdas

Tabela 2. Indivíduos vacinados contra FA e sua distribuição segundo comprovação através da apresentação do cartão de vacinação.

Zona	Vacinado FA					
	Comprovado		Inf. verbal		Total	
	n	%	n	%	n	%
Urbana	131	63,3	76	36,7	207	100
Rural	215	85,3	37	14,7	252	100

Tabela 3. Distribuição dos indivíduos não vacinados contra FA mediana de idade e sexo e idade.

Zona	Não vacinados				
	Nº indivíduos		Mediana de idade (anos)	Sexo (% masculino)	
	n	%		n	%
Urbana	11	5,1	46 (18-86)	8	75
Rural	4	1,6	66 (27-74)	3	75

Tabela 4. Distribuição dos indivíduos não vacinados segundo motivos para não vacinação.

Motivos para não vacinação	Zona urbana		Zona rural	
	n	%	n	%
Não sabia sobre a vacinação	6	54,5	1	25,0
Posto de saúde lotado	2	18,2	-	-
Alcoolizado quando foi ao posto	1	9,1	-	-
Fora do município no momento da campanha	1	9,1	-	-
Medo de evento adverso à vacina	-	-	2	50,0
Informação não fornecida	1	9,1	1	25,0

Evento adverso

Foram identificados 80 (38,6%) e 93 (36,9%) indivíduos que relataram a ocorrência de pelo menos um sintoma pós-vacinação contra FA na ZU e ZR, respectivamente (Tabela 5).

As Tabelas 6 e 7 apresentam a distribuição dos indivíduos que relataram ocorrência de evento adverso à vacina segundo

sinais e sintomas (sistêmicos e no local de aplicação da vacina) apresentados na ZU e ZR, respectivamente.

Em relação ao período de incubação entre a aplicação da vacina e início dos sintomas descritos, a mediana foi de cinco dias tanto na ZU (intervalo: 1 a 12 dias) como na ZR (intervalo: 1 a 14 dias).

Tabela 5. Distribuição dos indivíduos vacinados segundo relato de evento adverso à vacina de FA.

Zona	Evento adverso	
	Nº indivíduos	%
Urbana	80/207	38,6
Rural	93/252	36,9

DISCUSSÃO

Cobertura vacinal

O estudo de cobertura vacinal teve como principal limitação o fato de a metodologia de amostragem utilizada na ZR ter sido por conveniência, devido à dificuldade de acesso e restrições logísticas da equipe.

Apesar das coberturas vacinais identificadas na ZU e ZR estarem abaixo das preconizadas pelo Ministério da Saúde, estas podem ser consideradas coberturas altas.

A cobertura vacinal encontrada no estudo é inferior ao dado administrativo fornecido, o qual referia 103,8%. Esse fato sugere que parte desta porcentagem se devia à migração de indivíduos de outros municípios, comum em situações de campanhas vacinais emergenciais. Outro fato que explicaria esse comportamento é uma estimativa incorreta da população do município, causando uma falsa impressão de completude da campanha de vacinação.

Evento adverso

Pode-se observar uma alta prevalência de indivíduos que relataram sintomas sistêmicos considerados de grau leve, após vacinação contra FA. Manifestações sistêmicas pós-vacina 17D têm sido relatadas com frequência variável. A prevalência esperada de pelo menos algum sintoma pós-vacinação contra FA varia entre 2%-15%.¹⁰⁻¹⁸

Em Buri observou-se uma prevalência de 38,6% na ZU e 36,9% na ZR de indivíduos que apresentaram pelo menos algum sintoma pós-vacinação contra FA, dentre os quais: febre, cefaleia, mialgia, diarreia e vômito.

CAMACHO et al. (2005),¹⁰ em ensaio clínico utilizando a vacina de FA 17D de três lotes diferentes, encontraram prevalência inferior a 13% para todos os seguintes sintomas: febre, cefaleia e mialgia. Os valores encontrados em Buri (Tabelas 6 e 7) sugerem uma maior prevalência destes três sintomas tanto na ZU quanto na ZR do município.

Tabela 6. Distribuição dos indivíduos que relataram ocorrência de evento adverso à vacina de FA na ZU e sua distribuição segundo sinais e sintomas sistêmicos e no local de aplicação da vacina.

Sinais e sintomas Sistêmicos	Auto-ref.		Não auto-ref.		Total	
	n ^a	%	n ^b	%	n ^c	%
Mialgia	19	28.8	38	25.3	57	26.1
Cefaleia	15	22.7	30	20.0	45	20.6
Febre	8	12.1	26	17.3	34	15.6
Diarréia	4	6.1	11	7.3	15	6.9
Vômito	1	1.5	6	4.0	7	3.2
Locais						
Vermelhidão	1	1,5	1	0,6	2	0,9
Inchaço	-	-	-	-	-	-
Abcesso	-	-	-	-	-	-

(a) n = 66; (b) n = 150; (c) n = 218

Tabela 7. Distribuição dos indivíduos que relataram ocorrência de evento adverso à vacina de FA na ZR e sua distribuição segundo sinais e sintomas sistêmicos e no local de aplicação da vacina.

Sinais e sintomas	Auto-ref.		Não auto-ref.		Total	
	n ^a	%	n ^b	%	n ^c	%
Sistêmicos						
Mialgia	23	35.9	39	20.7	62	24.6
Cefaleia	25	39.1	43	22.9	68	27.0
Febre	9	14.1	27	14.4	36	14.3
Diarreia	9	14.1	22	11.7	31	12.3
Vômito	7	10.9	20	10.6	27	10.7
Locais						
Vermelhidão	-	-	1	0,5	1	0,4
Inchaço	-	-	1	0,5	1	0,4
Abcesso	-	-	-	-	-	-

(a) n = 64; (b) n = 188; (c) n = 252

Os autores também observaram prevalência inferior a 5% de indivíduos apresentando qualquer sintoma gastrointestinal. MONATH et al. (2002)⁸ encontraram prevalências maiores desse tipo de sintomas utilizando as vacinas ARILVAX e YF-VAX, 6,7% e 5,1%, respectivamente. Essas vacinas, porém, não são utilizadas no Brasil.

É importante ressaltar que em nenhum desses estudos foi identificado o indivíduo apresentando diarreia e/ou vômito, sendo citado apenas o sintoma náuseas.

BELMUSTO-WORN et al (2005)²¹ identificaram uma prevalência de indivíduos apresentando diarreia de 12,3% e 10,8% utilizando as vacinas ARILVAX e YF-VAX, respectivamente. O mesmo estudo realizado em crianças menores de 5 anos e encontrou prevalências de 5,8% e 3,0% para vômito.

Em Buri, 6,9% (ZU) e 12,3% (ZR) dos indivíduos vacinados apresentaram diarreia e 3,2% (ZU) e 10,7% (ZR), vômito. Os valores encontrados estão acima do esperado. Porém, não existem estudos que descrevam os sintomas gastrointestinais (diarreia e

vômito) em indivíduos vacinados com a vacina 17D utilizada no Brasil, sugerindo a necessidade de se realizarem mais pesquisas sobre o assunto.

Segundo o PNI, sintomas leves decorrentes de evento adverso à vacina de FA podem se manifestar do 3º ao 10º dia pós-vacinação, sendo mais comuns a partir do 5º dia.^{1,9}

A mediana do número de dias entre a data da imunização e a de início dos sintomas foi compatível, sendo de 5 dias tanto na ZR como ZU, variando de 1 a 12 e de 1 a 14 dias, respectivamente. O intervalo máximo esperado para evento adverso pós-vacinação de FA é de dez dias.⁵ Apesar de nas duas zonas serem relatados intervalos superiores a esse, é importante ressaltar que apenas um indivíduo relatou intervalo superior a 10 dias na ZU e 2 na ZR. Esses valores podem ser consequência de viés de memória, uma vez que o estudo foi realizado mais de 21 dias após a campanha de vacinação realizada no município, e um indivíduo de cada domicílio era responsável por referir as informações dos outros moradores.

Apenas dois indivíduos relataram evento adverso relacionado ao local de aplicação da vacina. Esse achado está de acordo com o esperado para este tipo de evento.^{1,9,10}

MONATH (2004)⁹ cita que ensaios clínicos em que a população de estudo foi instruída sobre a possibilidade de eventos adversos à vacina, observa-se uma maior prevalência de relatos de evento adverso, entre 18% e 50%. Em estudo de CAMACHO et al (2005)¹⁰ a vacina 17D foi testada juntamente com placebo. Os autores observaram para indivíduos que receberam placebo uma prevalência de 2,2% para febre aferida >38°C; 7% de dor de cabeça; 2,6% de mialgia e 3,7% de sintomas gastrointestinais. Esse pode ser um dos motivos da elevada prevalência de indivíduos apresentando sintomas pós-vacinação contra FA no município de Buri.

O fato de um indivíduo ser responsável pela a informação dos demais em um mesmo domicílio permite viés de informação, potencialmente subestimando ou superestimando a prevalência dos sintomas. Quando comparamos a análise referenciada com a auto-referida (Tabelas 6 e 7) não observamos grande variação entre os grupos.

O alto número de indivíduos que relataram sintomas gastrointestinais pós-vacinação contra FA pode sugerir uma possível consequência de associação entre o vírus da FA atenuado 17D e outros fatores endêmicos na região. MONATH (2004)⁹ cita condições preexistentes ao aparecimento de sintomatologia pós-vacinal relatadas, por exemplo: infecções associadas a outros microrganismos, outras vacinas administradas concomitantemente e estado imune inadequado.

CONCLUSÕES

Apesar da cobertura vacinal contra FA estar abaixo do recomendado pelo MS, esta pode ser considerada uma cobertura vacinal alta.

A prevalência observada de possíveis eventos adversos à vacina contra FA considerados de grau leve foi superior à esperada para esse tipo de evento.

Os sintomas gastrointestinais detectados no estudo sugerem a necessidade de novos estudos que avaliem o comportamento da vacina contra FA 17D em populações.

REFERÊNCIAS

1. Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde. Guia de vigilância epidemiológica. Brasília (DF): Ministério da Saúde; 2005.
2. Centro de Vigilância Epidemiológica "Prof. Alexandre Vranjac" - CVE. Casos de febre amarela silvestre em residentes do Estado de São Paulo, 2007-2008. BEPA [boletim na internet]. 2008 jul. Disponível em: http://www.cve.saude.sp.gov.br/agencia/bepa55_famarela.htm.
3. Centro de Vigilância Epidemiológica "Prof. Alexandre Vranjac" - CVE. Febre amarela: situação epidemiológica e ampliação da área de recomendação de vacinação no Estado de São Paulo. BEPA [boletim na internet]. 2009 jan. Disponível em:

- http://www.cve.saude.sp.gov.br/agencia/bepa61_famarela.htm.
4. Centro de Vigilância Epidemiológica "Prof. Alexandre Vranjac" - CVE. Febre amarela silvestre no Estado de São Paulo, 2009. BEPA [boletim na internet]. 2009 mar. Disponível em: http://www.cve.saude.sp.gov.br/agencia/bepa63_famarela.htm.
 5. Ministério da Saúde. Programa Nacional de Imunizações (PNI). Manual de Eventos Adversos Pós-Vacina. Brasília (DF): Ministério da Saúde; 2005.
 6. Huhn GD, Brown J, Perea W, Berthe A, Otero H, Libeau G, et al. Vaccination coverage survey versus administrative data in the assessment of mass yellow fever immunization in internally displaced persons, Liberia, 2004. *Vaccine*. 2006;24(6):730-7.
 7. Adhiyaman V, Oke A, Cefai C. Effects of yellow fever vaccination. *Lancet*. 2001;358:1907-8.
 8. Monath TP, McCarthy K, Bedford P, Johnson CT, Nichols R, Yoksan S, et al. Clinical proof of principle for ChimeriVax™: recombinant live, attenuated vaccines against flavivirus infections. *Vaccine*. 2002;15:1004-18.
 9. Monath TP. Yellow fever vaccine. *Travelers' vaccines*. Jong EC, Zuckerman JN. Edt PMPH-USA; 2004. p. 440.
 10. Camacho Lab & Collaborative Group for the Study of Yellow Fever Vaccines et al. Reactogenicity of yellow fever vaccines in a randomized, placebo-controlled trial. *Rev Saúde Pública*. 2005;39(3):413-20.
 11. Barrett AD. Yellow fever vaccines. *Biologicals*. 1997;25:17-25.
 12. Vainio J, Cutts F. Yellow fever. Geneva, Switzerland: World Health Organization, Global Programme for Vaccines and Immunization, 1998. Publication no. (WHO/EPI/GEN) 98.11. [acesso em 15 de junho de 2009]. Disponível em: http://www.who.int/emc-documents/yellow_fever/whoepigen9811c.html.
 13. Galler R, Pugacheve KV, Santos CLS, Ochrán SW, Jabor AV, Rodrigues SG, et al. Phenotypic and molecular analyses of yellow fever 17DD vaccine viruses associated with serious adverse events in Brazil. *Virology*. 2001;290:309-19.
 14. Goujon C, Tohr M, Feuillie V, Coulaud JP, Dupont B, Sansonetti P. Good tolerance and efficacy of yellow fever vaccine among subject carriers of human immunodeficiency virus. In: Program and abstracts of the 4th International Conference on Travel Medicine. Geneva, Switzerland: International Society of Travel Medicine/World Health Organization. 1995; p. 63.
 15. Sibailly TS, Wiktor SZ, Tsai TF, Cropp BC, Ekpini ER, Adjorlolo-Johnson G, et al. Poor antibody response to yellow fever vaccination in children infected with human immunodeficiency virus type 1. *Pediatr Infect Dis J*. 1997;16:1177-9.
 16. Martins RM, Galler R, Freire MSM, Camacho LMA, Maia LMS, Homma A. Yellow fever vaccination: some thoughts on how much is enough (*Vaccine* 23(2005)3908-3914). *Science Direct*. 2007;25(1):10-11.

17. Robertson SE. The immunological basis for immunization series: Yellow fever. World Health Organization (Document WHO/EPI/GEN/93.18), Geneva, 1993.
18. Tsai TF, Paul R, Lynberg MC, Letson GW. Congenital yellow fever virus infection after immunization in pregnancy. *J Infect Dis.* 1993;168:1520-3.
19. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística - IBGE. Divisão territorial do Brasil. Divisão territorial do Brasil e limites territoriais. [acesso em 11 de maio de 2009]. Disponível em: http://www.ibge.gov.br/home/geociencia/cartografia/default_territ_area.shtm.
20. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística - IBGE. Estimativas da população para 1º de julho de 2008. [acesso em 11 de maio de 2009]. Disponível em: http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/populacao/estimativa2008/POP_2008_TCU.pdf.
21. Belmusto-Worn VE, Sanches JL, McCarthy K, Nichols R, Bautista CT, Magill AJ, et al. Randomized, double-blind, phase III, pivotal field trial of the comparative immunogenicity, safety, and tolerability of two Yellow Fever 17D Vaccines (Arilvaxtm And Yf-Vax®) in healthy infants and children in Peru. *Am J Trop Med Hyg.* 2005;72(2):189-97.

Recebido em: 05/09/2009
Aprovado em: 28/11/2009

Correspondência/correspondence to:

Eduardo Stramandinoli Moreno
Av. Dr Arnaldo 351 - 6º andar
CEP: 01311-000 - São Paulo/SP - Brasil
Tel.: 55 11 3066-8742
eduardo_smoreno@yahoo.com.br

Leishmaniose visceral americana: situação atual no Brasil

Leishmaniasis: current situation in Brazil

Waneska Alexandra Alves

Coordenação Geral de Doenças Transmissíveis. Departamento de Vigilância Epidemiológica. Secretaria de Vigilância em Saúde. Ministério da Saúde. Brasília, DF, Brasil

INTRODUÇÃO

As leishmanioses são doenças zoonóticas de transmissão vetorial, sendo consideradas pela Organização Mundial de Saúde (OMS) um importante problema de saúde pública mundial. Representam um complexo de doenças com importante espectro clínico e diversidade epidemiológica.¹⁻³ A OMS estima que 350 milhões de pessoas estejam expostas ao risco, com registro aproximado de 2 milhões de novos casos de diferentes formas clínicas. Atualmente, a doença afeta 88 países e há estimativa de prevalência de 14 milhões casos e 59 mil óbitos, número que, no caso de doenças parasitárias, só é superado pelas mortes causadas por malária.^{2,3}

As leishmanioses apresentam-se basicamente em duas formas clínicas diferentes (a forma cutâneo-mucosa e a forma visceralizante), afetando órgãos como fígado, baço, linfonodos e intestinos.^{4,5,2,3} Esta última refere-se à manifestação clínica mais grave que, quando não diagnosticada e tratada precocemente, pode cursar para o óbito em até 90% dos casos.^{5,6}

No continente americano, exceto na América do Norte, a leishmaniose tegumentar americana (LTA) é causada por 11 espécies de leishmânias: *Leishmania (Viannia) braziliensis*, *L. (V.) peruviana*, *L. (V.) guyanensis*, *L. (V.) panamensis*, *L. (V.) lainsoni*, *L. (V.) naiffi*, *L. (V.) shawi*, *L. (Leishmania.) mexicana*, *L. (L.) amazonensis*,

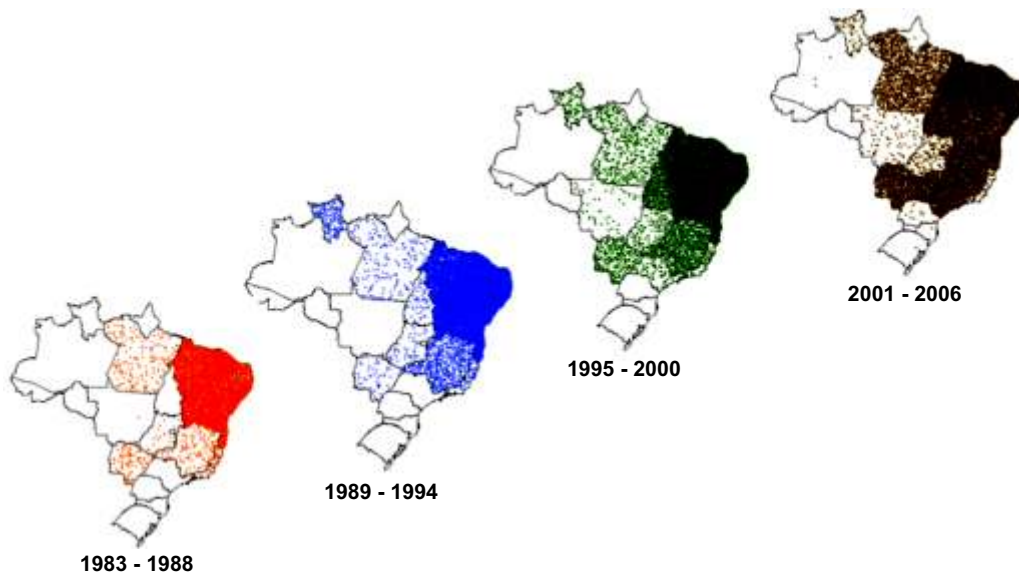
L. (L.) venezuelensis e *L. (L.) pifanoi*. A leishmaniose visceral americana (LVA) é causada pela *L. (L.) chagasi*.⁷⁻¹¹

No Brasil foram notificados, no período de 1990 a 2007, 561.673 casos de leishmanioses, sendo 508.193 (90,5%) provocados pelas espécies *Leishmania (Viannia) braziliensis*, *L. (V.) guyanensis*, *L. (V.) lainsoni*, *L. (V.) naiffi*, *L. (V.) shawi* e *L. (L.) amazonensis* e 53.480 (9,5%) pela *L. (L.) chagasi*.^{13-23,6}

Inicialmente, a LVA foi caracterizada como doença eminentemente rural; nos últimos anos, vem se expandindo para áreas urbanas de municípios de médio e grande porte.^{1,5,6,13,14} É crônica, sistêmica, caracterizada por febre, esplenomegalia, perda de peso, astenia, adinamia e anemia, dentre outros sintomas.⁶

A LVA apresenta comportamento epidemiológico cíclico, com elevação de casos em períodos médios a cada cinco anos. Atualmente, essa endemia atinge 20 Estados brasileiros, com média anual de 3.095 casos no período de 1996 a 2005 e incidência de 2,1 casos por 100.000 habitantes.¹⁴⁻²³

Até a década de 1990, o Nordeste respondeu a 90% dos casos de LVA do País. Porém, a doença vem se expandindo para as regiões Centro-Oeste, Sudeste e Norte, modificando esta situação. Em 2005, os Estados nordestinos passaram a representar 56% do total de casos^{1,5,6,8,10-14,16-23} (Figura 1).



Fonte: SVS/MS

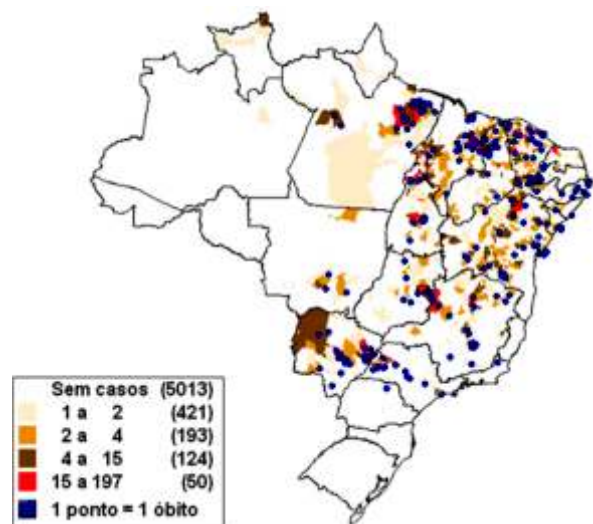
Figura 1. Distribuição espacial dos casos de LVA no Brasil – 1983 a 1988, 1989 a 1994, 1995 a 2000 e 2001 a 2006.

Em de 2007 foram registrados 2.897 casos. A doença afetou principalmente crianças menores de 10 anos (62,1%) e indivíduos do sexo masculino (74,2%). No período foram registrados 183 óbitos, o que representa uma letalidade de 6,3%¹⁶⁻²³ (Figura 2).

Os municípios com maior número de casos foram: Araguaína (TO) com 251 casos (8,7%); Fortaleza (CE), Campo Grande (MS) e Teresina (PI) com 180 (6,2%), 97 (3,3%) e 75 (2,6%) casos, respectivamente.¹⁶⁻²³

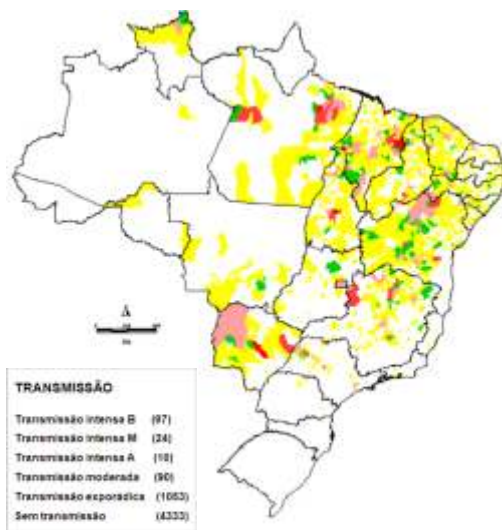
A partir de 2003, os municípios com transmissão de LVA foram estratificados segundo a intensidade da transmissão em esporádica, moderada e intensa, e as estratégias de vigilância e controle passaram a ser diferenciadas conforme risco epidemiológico⁶ (Figura 2). O critério para classificação foi baseado na média de casos no período de três anos, sendo considerados municípios de transmissão: intensa alta (A), aqueles cuja média é superior ou igual

a 55,7 casos; intensa média (M), cuja média está entre 17,0 e 55,6 casos; intensa baixa (B), média entre 4,4 e 16,9 casos; moderada, aqueles cuja média está entre 2,4 e 4,4 casos; e esporádica, média entre 0,1 e 2,4 casos (Figura 3).⁶



Fonte: Sinan/SVS/MS.

Figura 2. Distribuição dos casos e óbitos de leishmaniose visceral americana por município de residência, Brasil, 2006.



Fonte: SVS/MS

Figura 3. Distribuição dos municípios com transmissão de leishmaniose visceral americana segundo extratos de transmissão. Brasil, 2003 a 2005.

CONCLUSÕES E RECOMENDAÇÕES

O intenso processo migratório, as pressões econômicas ou sociais, a pauperização, o processo de urbanização crescente, o esvaziamento rural e as secas periódicas provocam transformações ambientais e a expansão das áreas endêmicas para LVA, com o surgimento de novos focos, levando a uma redução do espaço ecológico da doença que facilita a ocorrência de epidemias.^{1-7,11,12,14-23}

REFERÊNCIAS

1. Alencar JE, Dietze R. Leishmaniose visceral (Calazar). In: Veronesi R. Doenças infecciosas e parasitárias. 8 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 1991. p. 706-17.
2. World Health Organization. Leishmaniasis. Bulletin. 2003. 81(5):353-9.
3. Organização Pan-Americana da Saúde. Consulta de Expertos OPS/OMS sobre Leishmaniasis Visceral en Las Américas

Considerando as características epidemiológicas e o conhecimento ainda insuficiente sobre os vários elementos que compõem a cadeia de transmissão da LVA, as estratégias de controle desta endemia devem visar à redução da morbimortalidade, por meio do diagnóstico e tratamento precoce dos casos, bem como da população de vetores flebotomíneos, a eliminação dos reservatórios infectados e o desenvolvimento de atividades de educação em saúde.^{6,16,19-23}

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Portanto, fazem-se necessários esforços conjuntos das diversas interfaces que compreendem áreas do conhecimento científico somados aos serviços de saúde pública em níveis estaduais, municipais, regionais e locais, buscando otimizar a efetividade das ações de vigilância e controle das leishmanioses.

Nesse contexto, instituições públicas e civis, assim como a própria sociedade, devem estar ativa e permanentemente inseridas no processo dinâmico, complexo e proativo das ações de controle dessas zoonoses.

Nota: Artigo referente à palestra apresentada no II Fórum de Discussão da Sociedade Paulista de Parasitologia: leishmaniose visceral americana, situação atual e perspectivas futuras. Organizado por Regina M. B. Franco, da Sociedade Paulista de Parasitologia, Vera L. F. de Camargo-Neves e Cecília Abdalla, da Coordenadoria de Controle de Doenças da Secretaria de Estado da Saúde de São Paulo, o evento foi realizado em 3 de julho de 2007, no auditório Luiz Mussolino (SES-SP).

- [informe na internet]. Brasília: Opas/Ministério da Saúde; 2009 [acesso 3 mar 2007]. Disponível em: http://www.panaftosa.org.br/Comp/Zoonoses/Leishma/doc/Inf_final_leish_2005.pdf.
4. Desjeux P. Leishmaniasis: current situation and new perspectives. *Comparative Immunology Microbiology & Infectious Diseases*. 2004;27:305-18.
 5. Costa CH, Pereira HF, Araújo MV. Epidemia de leishmaniose visceral no Estado do Piauí, Brasil, 1980-1986. *Rev Saúde Public*. 1990;24:361-72.
 6. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. Manual de vigilância e controle da leishmaniose visceral. Brasília: Ministério da Saúde; 2005.
 7. Lainson R, Shaw JJ. Evolution, classification and geographical distribution. In: Peters & Killick-Dendrick. *The leishmaniasis in biology and medicine*. London: Academic Pres; 1987. p. 1:20.
 8. Penna HA. Leishmaniose visceral no Brasil. *Bras Méd*. 1934;18:940-50.
 9. Sherlock IA. Ecological interactions of visceral leishmaniasis in the State of Bahia. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 1996;91(6):671-83.
 10. Marzochi MCA, Sabrosa PC, Toledo LM, Marzochi KBF, Tramontano NC, Rangel-Filho FB. Leishmaniose visceral na cidade do Rio de Janeiro, Brasil. *Cad Saúde Pública*. 1985;1:5-17.
 11. Camargo-Neves VLF, Katzg G, Rodas LAC, Poletto DW, Lage LC, Spinola RMF, et al. Use of spation analysis tools in he epidemiological surveillance of American visceral leishmaniasis, Araçatuba, São Paulo, Brazil, 1998-1999. *Cad Saúde Pública*. 2001;17(5):1263-7.
 12. Camargo-Neves VLF. Aspectos epidemiológicos e avaliação das medidas de controle da leishmaniose visceral americana no Estado de São Paulo, Brasil [tese de doutorado]. São Paulo: Faculdade de Saúde Pública da USP; 2004.
 13. Alencar JE. Expansão do Calazar no Brasil. *Ceará Médico*. 1983;5(1-2):86-102.
 14. Bevilacqua PD, Paixão HH, Modena CM, Castro MCPS. Urbanização da leishmaniose visceral em Belo Horizonte. *Arq Bras Méd Vet Zootec*. 2001;53(1).
 15. Maia-Elkhoury ANS, Lucena F, Sousa-Gomes ML, Alves WA, Paz L. Co-infecção da leishmaniose visceral e aids no Brasil. *Rev Soc Bras Med Trop*. 2007;40(1 Suppl):124.
 16. Maia-Elkhoury ANS, Alves WA, Sousa-Gomes ML, Sena JM, Luna EA. Visceral leishmaniasis in Brazil: trends and challenges. *Cad. Saúde Pública*. 2008;24(12):2941-7.
 17. Alencar Junior LR, Alves WA, Costa DL, Maia-Elkhoury ANS, Sousa-Gomes ML. Análise do perfil clínico-epidemiológico dos pacientes com leishmaniose visceral grave, tratados com anfotericina B lipossomal, Brasil, 2005 e 2006. *Rev Soc Bras Med Trop*. 2007;40(1 Suppl).
 18. Alves WA, Sousa-Gomes ML, Maia-Elkhoury ANS, Sena JM. Avaliação do sistema de vigilância epidemiológica da leishmaniose visceral, Brasil, 2005. *Rev Soc Bras Med Trop*. 2007;40 (1 Suppl).
 19. Sena JM, Camargo-Neves VLF, Alves WA, Maia-Elkhoury ANS. Avaliação do controle químico aplicado nas áreas de ocorrência

- da leishmaniose visceral, Brasil, 2005. Rev Soc Bras Med Trop. 2007;40 (1 Suppl).
20. Sousa-Gomes ML, Alves WA, Maia-Elkhoury ANS, Sena JM. Avaliação qualitativa do banco de dados da leishmaniose tegumentar americana, Brasil, 2005. Rev Soc Bras Med Trop. 2007;40(1 Suppl).
21. Maia-Elkhoury ANS, Alves WA, Oliveira GM, Sousa-gomes ML, Sabroza PC. Leishmanise tegumentar americana: vigilância e monitoramento de base territorial no Brasil. XI Congresso Mundial de Saúde Pública, VIII Congresso Brasileiro de Saúde Coletiva, Rio de Janeiro, Brasil. 2006.
22. Alves WA, Maia-Elkhoury ANS, Oliveira GM, Sousa-Gomes ML. Análise dos óbitos de leishmaniose visceral em municípios brasileiros, 2003. XLII Congresso Brasileiro de Medicina Tropical, 2006.
23. Alves WA, Maia-Elkhoury ANS, Oliveira GM, Sousa-gomes ML. Análise dos óbitos de leishmaniose visceral em municípios brasileiros, 2003. XLII Congresso Brasileiro de Medicina Tropical, 2006.

Correspondência/correspondence to

Waneska Alexandra Alves
Rua Professor Silvio de Macedo, 49/504 – Jatiúca
CEP: 57036-740 – Maceió/AL – Brasil
Tel.: 55 82 3325-4970
E-mail: waneska.alves@gmail.com

Instruções aos Autores

Missão

O **Boletim Epidemiológico Paulista (Bepa)** 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). Editado nos formatos impresso e eletrônico, documenta e divulga trabalhos relacionados a essas ações, de maneira rápida e precisa, estabelecendo um canal de comunicação entre as diversas áreas do SUS-SP. Além de disseminar informações entre os profissionais de saúde de maneira rápida e precisa, tem como objetivo incentivar a produção de trabalhos técnico-científicos desenvolvidos no âmbito da rede pública, proporcionando a atualização e, conseqüentemente, o aprimoramento dos profissionais e das instituições responsáveis pelos processos de prevenção e controle de doenças, nas esferas pública e privada.

Política editorial

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/>.

Após uma revisão inicial para avaliar se os autores atenderam aos padrões do Bepa, os trabalhos passam por processo de revisão por dois especialistas da área pertinente, sempre de instituições distintas daquela de origem do artigo, e cegos quanto à identidade e vínculo institucional dos autores. Após os pareceres, o Conselho Editorial, que detém a decisão final sobre a publicação ou não do trabalho, avalia a aceitação do artigo sem modificações, a sua recusa ou devolução ao autor com as sugestões apontadas pelo revisor.

Tipos de artigo

Artigos de pesquisa – Apresentam resultados originais provenientes de estudos sobre quaisquer aspectos da prevenção e controle de agravos e de promoção à saúde, desde que no escopo da epidemiologia, incluindo relatos de casos, de 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).

Revisão – Avaliação crítica sistematizada da literatura sobre assunto relevante à saúde pública. Devem ser descritos os procedimentos adotados, esclarecendo os limites do tema. Os artigos desta seção incluem relatos de políticas de saúde pública ou relatos históricos baseados em pesquisa e análise de questões relativas a doenças emergentes ou reemergentes.

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.

Informe epidemiológico – Tem por objetivo apresentar ocorrências relevantes para a saúde coletiva, bem como divulgar dados dos sistemas públicos de informação sobre doenças e agravos e programas de prevenção ou eliminação de doenças infectocontagiosas.

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 agravos.

Resumo – Serão aceitos resumos de teses e dissertações até um ano dois anos após a defesa.

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.

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.

Editoriais – São escritos por especialistas convidados a comentar artigos e tópicos especiais cobertos pelo Bepa.

Relatos de encontros – Devem enfatizar o conteúdo do evento e não sua estrutura.

Cartas – As cartas permitem comentários sobre artigos veiculados no Bepa, e podem ser apresentadas a qualquer momento após a sua publicação.

OBRS – Os informes técnicos, epidemiológico, Pelo Brasil, atualizações e relatos de encontros devem ser acompanhados de carta do diretor da instituição à qual o autor e o objeto do artigo estão vinculados. Modelo disponível em: ftp://ftp.cve.saude.sp.gov.br/doc_tec/outros/MOD_CIENCIA_INSTIT_BEPA.pdf.

Apresentação dos trabalhos

O trabalho deverá ser anexada uma carta de apresentação, assinada por todos os autores, dirigida ao Conselho 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 Helsink e aprovada por comissão de ética reconhecida pela Comissão Nacional de Ética em Pesquisa (Conep), vinculada ao Conselho Nacional de Saúde (CNS), bem como registro dos estudos de ensaios clínicos em base de dados, conforme recomendação aos editores da Lilacs e Scielo, disponível em: <http://bvsmodeo.bvsalud.org/site/lilacs/homepage.htm>. O nome da base de dados, sigla e/ou número do ensaio clínico deverão ser colocados ao final do RESUMO.

O trabalho deverá ser redigido em Português do Brasil, com entrelinhamento duplo. O manuscrito deve ser encaminhando em formato eletrônico (*e-mail*, disquete ou CD-ROM) e impresso (folha A4), aos cuidados do editor científico do Bepa, no seguinte endereço:

Boletim Epidemiológico Paulista

Av. Dr. Arnaldo, 351, 1º andar, sala 135
Cerqueira César – 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 (se houver); AGRADECIMENTOS; REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS; e TABELAS, FIGURAS e FOTOGRAFIAS.

A íntegra das instruções aos autores quanto à categoria de artigos, processo de arbitragem, preparo de manuscritos e estrutura dos textos, entre outras informações, está disponível no *site*: http://www.cve.saude.sp.gov.br/agencia/bepa37_autor.htm.



**SECRETARIA
DA SAÚDE**

