

# BEPA

## Boletim Epidemiológico Paulista

PUBLICAÇÃO MENSAL SOBRE AGRAVOS À SAÚDE PÚBLICA

ISSN 1806-4272

Volume 4 Número 37

janeiro de 2007

### Nesta Edição

- Surto de Doença Meningocócica no município de Estrela D'Oeste-SP, Setembro de 2006: da investigação ao controle..... 2**  
*Meningitis Outbreak in the city of Estrela D'Oeste-SP, September, 2006: from investigation to control*
- Produção e Aplicação de Novos Anticorpos Monoclonais na Padronização de Técnicas Imunológicas para a Detecção das bactérias *Escherichia coli* O157:H7, *Vibrio cholerae* 01 e Toxinas Stx1, Stx2 em Alimentos..... 10**  
*Production and application of New monoclonal antibodies in the padronization of immunological methods for the detection of the Bacteria Escherichia coli O157:H7 Vibrio cholerae 01 and Stx1, Stx2 toxins in food*
- A Violência Contra Crianças e Adolescentes..... 21**  
*Violence Against Children And Adolescents*
- Sarampo na Bahia – Cenário Atual..... 26**  
*Masles Outbreak in Bahia – Current Scenario*
- Informes – Information ..... 30**
- Instruções aos Autores ..... 31**  
*Author's Instructions*



O Boletim Epidemiológico Paulista é uma publicação mensal da Coordenadoria de Controle de Doenças (CCD), da Secretaria de Estado da Saúde de São Paulo.  
Av. Dr. Arnaldo, 351 - 1º andar, sl. 135  
CEP: 01246-902  
Tel.: (11) 3066-8823 e 3066-8825  
bepa@saude.sp.gov.br

### Expediente

#### Coordenadora

Clélia Maria Sarmento Souza Aranda

#### Editora Geral

Clélia Maria Sarmento de Souza Aranda

#### Editores Associados

Afonso Viviane Junior - SUCEN/SP  
Cilmara Polido Garcia - CVE/CCD/SES-SP  
Fernando Fiuza - Instituto Clemente Ferreira/CCD/SES-SP  
José Carlos do Carmo - CEREST/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

#### Consultores Científicos

Carlos Magno Castelo Branco Fortaleza - FM/Unesp/Botucatu - SP  
Cristiano Corrêa de Azevedo Marques - CCD/SES-SP  
Eliseu Alves Waldman - FSP/USP/SP  
José Cássio de Moraes - FCM-SC/SP  
Luiz Eduardo Batista - CCD/SES-SP  
Luiz Jacintho da Silva - FM/Unicamp  
Maria Bernadete de Paula Eduardo - CCD/SES-SP  
Vilma Pinheiro Gawyszewsk - CCD/SES-SP

#### Coordenação Editorial

Cecília Abdalla  
Cláudia Malinverni  
Letícia Maria de Campos  
Sylia Rehder

#### Núcleo de Comunicação - GTI

#### Projeto gráfico/editoração eletrônica

Marcos Rosado - Nive/CVE  
Zilda M Souza - Nive/CVE

## Surto de Doença Meningocócica no Município de Estrela D'Oeste-SP, Setembro de 2006: da Investigação ao Controle.

### *Meningitis Outbreak in the City of Estrela D'Oeste-SP, September, 2006: from Investigation to Control*

Fernandes, F.C.<sup>1</sup>, Carvalhanas, T.R.M.P.<sup>2</sup>, Barbosa, H.A.<sup>2</sup>, Sato, H.K.<sup>3</sup>, Reina, M.C.F.P.<sup>4</sup>, Ferreira, E.R.<sup>4</sup>, Moro, E.C.R.<sup>5</sup>, Neto, J.M.P.<sup>6</sup>, Cortez, M.G.<sup>6</sup>, Cruz, S.R.A.<sup>6</sup>

<sup>1</sup>EPISUS/SES/SP, <sup>2</sup>Divisão de Doenças de Transmissão Respiratória/CVE/CCD/SES/SP, <sup>3</sup>Divisão de Imunização/CVE/CCD/SES-SP, <sup>4</sup>VE/Direção Regional de Saúde-DIR XXII - São José do Rio Preto/SP, <sup>5</sup>V.E. Município de Estrela D'Oeste, <sup>6</sup>V.E. Núcleo de Jales

#### Resumo

A doença meningocócica (DM) é uma moléstia infecciosa aguda de expressiva relevância em saúde pública, devido ao seu potencial epidêmico, a elevada morbi-mortalidade e ao percentual significativo de seqüelas. Em setembro de 2006, o Município de Estrela D'Oeste, São Paulo confirmou a ocorrência de 3 casos de DM e letalidade de 66,7%. Os casos foram sorogrupo C e todos identificados como meningococo do sorogrupo C. O objetivo da investigação foi caracterizar e confirmar a ocorrência do surto da doença na região. A investigação dos casos foi realizada a partir da análise de bancos de dados, de fichas epidemiológicas de notificação/investigação, de fichas de atendimento hospitalar e dos exames processados e de entrevistas com os médicos, casos suspeitos, contatos e familiares. Para inclusão no presente surto foram utilizadas as seguintes definições de casos: caso suspeito: todo paciente com sinais e/ou sintomas de meningite aguda, isto é, febre alta, vômitos, cefaléia intensa, rigidez de nuca ou abaulamento de fontanela; com ou sem toxemia (sonolência e/ou torpor e/ou irritação) e lesões cutâneas (petéquias ou púrpuras) residente ou que se deslocou para o Município de Estrela D'Oeste, no mês de setembro de 2006. Caso confirmado: caso suspeito com critério de confirmação laboratorial e/ou necropsia. Na ocasião, foi confirmado um surto de DM no Município de Estrela D'Oeste, com três casos e dois óbitos, desenvolvido em curso rápido e progressivo e com identificação do meningococo sorogrupo C nos três casos, o que está de acordo com a atual prevalência do sorogrupo C no Estado de São Paulo. As medidas de controle, quimioprofilaxia e vacinação, foram realizadas de forma criteriosa e oportuna. A investigação permitiu a descrição clínica e epidemiológica dos casos, com a confirmação de surto e a efetivação oportuna das ações de prevenção e controle.

**Palavras-chave:** doença meningocócica, investigação de surto, medidas de prevenção e controle, vacinação.

#### Abstract

Meningococcal disease (DM) is a severe infectious disease of expressive relevance in public health, due to the epidemical potential, the high morbidity and mortality and the significant percentage of sequels this hazard presents. In September, 2006, the city of Estrela D'Oeste/São Paulo confirmed the

occurrence of three cases of DM, with a lethality of 66,7%. All cases were serogrouped and all were identified as being caused by serogroup C meningococcus. The objective of this investigation was to characterize and to confirm the occurrence of an outbreak of the disease in the region. Case investigation was performed with the analysis of databanks, of epidemiological reporting/investigation charts, of hospital consults sheets and of processed exams and interviews with the physicians, suspicious cases and their families. In order to be included in this outbreak, the following case definitions were adopted: suspicious case: all patients with signs or symptoms of acute meningitis, e.g. high fever, vomiting, intense headache, rigidity of the nape or raising of the fontanelle, with or without toxemia (somnia and/or torpor and/or irritation) and skin lesions (petechiae or purpura), living or coming to the city of Estrela D'Oeste during the month of September of 2006. Confirmed case: a suspicious case with confirmation by laboratorial criteria and/or necropsy. In the occasion an outbreak of the disease was confirmed in the city of Estrela D'Oeste, with three cases and one death, evolving in rapid and progressive course, with the identification of meningococcus of the C serogroup in the State of São Paulo. Measures of control, chemoprophylaxis and vaccination were performed judiciously and timely. Investigation allowed the timely start of preventive and controlling actions.

**Key words:** meningococic disease, outbreak investigation, prevention and control measures, vaccination.

## Introdução

A doença meningocócica (DM) é uma moléstia infecciosa aguda de transmissão respiratória com grande importância em saúde pública devido ao seu potencial epidêmico, à sua expressiva morbimortalidade e ao seu significativo percentual de seqüelas.<sup>1,2,3</sup> O seu agente etiológico é a *Neisseria meningitidis*, um diplococo Gram negativo. Classificam-se em 12 sorogrupos de acordo com antígenos polissacarídeos da cápsula, cujos mais freqüentes são os sorogrupos: A, B, C, W135 e Y. A transmissão direta do meningococo ocorre pelo contato com gotículas de secreções do trato respiratório; já a transmissão indireta é questionada, pois o meningococo é extremamente sensível às variações de temperatura e à dissecação. A DM apresenta sazonalidade com aumento do número de casos no inverno, mas pode ocorrer durante todo o ano.<sup>1,2,4,5</sup>

O período de incubação da DM, geralmente, varia de 2 a 5 dias, enquanto o período de transmissibilidade persiste até que o meningococo desapareça das secreções nasofaríngeas<sup>5</sup>. Em geral, os meningococos sensíveis desaparecem dentro de 24 horas depois de iniciado o tratamento específico, mas o estado de portador pode ser longo, até 10 meses<sup>9</sup>.

As manifestações clínicas da DM variam desde formas benignas, caracterizadas por febre e bacteremia até quadros muito graves, como a meningococemia, em que os pacientes podem evoluir para a morte em poucas horas<sup>5</sup>.

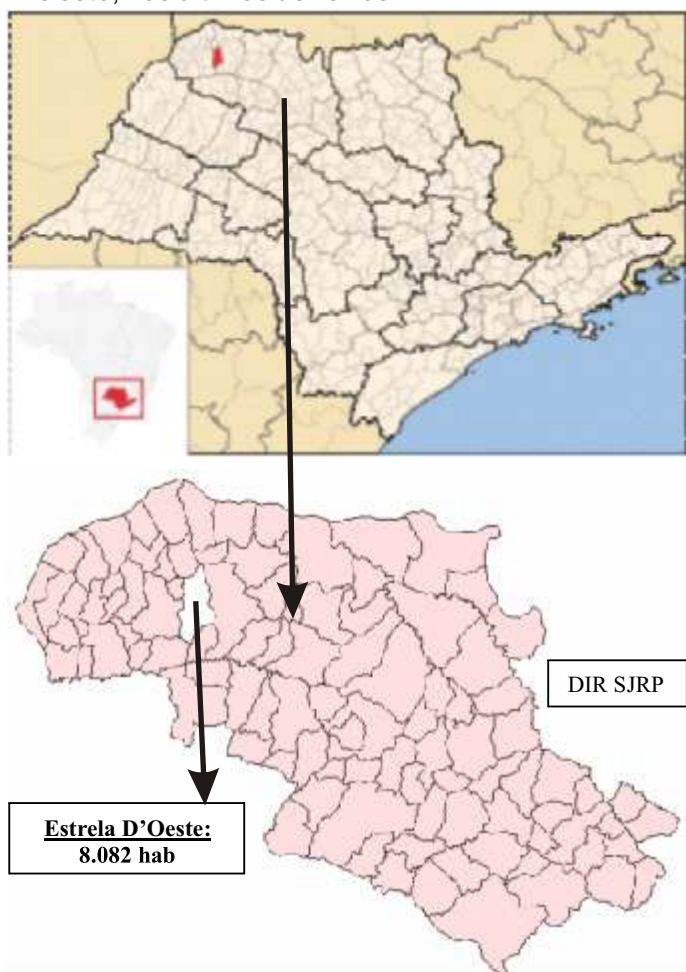
No Brasil, a DM é endêmica e de notificação compulsória. O coeficiente médio de incidência da DM foi de 3,28/100.000 habitantes (1994 a 2004) e a letalidade, no período correspondente, foi de 19,4%, segundo dados do Sinan/SVS/MS (Sistema Nacional de Agravos Notificáveis, da Secretaria de Vigilância em Saúde, do Ministério da Saúde)<sup>3</sup>.

No Estado de São Paulo, a DM apresentou uma taxa média de incidência dos casos em torno de 4,59/100.000 habitantes nos últimos dez anos.<sup>3</sup> Alguns surtos de DM foram relatados no Estado e podem estar associados à introdução de uma nova cepa virulenta ou à mudança do sorogrupo circulante<sup>2,5,6</sup>.

No dia 11 de setembro de 2006, a Divisão de Doenças de Transmissão Respiratória do Centro de Vigilância Epidemiológica "Prof. Alexandre Vranjac" e da Secretaria de Estado da Saúde/SP (DDTR/CVE/SES-SP) recebeu a notificação de surto de DM no município de Estrela D'Oeste com a ocorrência de 3

casos, destes 2 óbitos, sendo dois casos residentes em Estrela D'Oeste e um caso em Fernandópolis, no período de 6/9/06 a 9/9/06.

O Município de Estrela D'Oeste localiza-se na região Noroeste do Estado de São Paulo, a cerca de 170 km de São José do Rio Preto(S.J.R.P.), faz parte da microrregião de Fernandópolis e da DIR XXII S.J.R.P/SP (Figura 1). Apresenta uma população atual de 8.082 habitantes, predominantemente urbana e conta com um Centro de Saúde e uma Santa Casa. Segundo dados disponíveis no Sistema Nacional de Agravos de Notificação (Sinan), não houve registro de DM no Município de Estrela D'Oeste, nos últimos dez anos.



Fonte: IBGE.  
[http://pt.wikipedia.org/wiki/imagem:saopaulo\\_municip\\_estreladoeste.svg](http://pt.wikipedia.org/wiki/imagem:saopaulo_municip_estreladoeste.svg)

Figura 1. Localização geográfica do Município de Estrela D'Oeste na região da DIR XXII - S.J.R.P./SP

## Objetivos

A partir dessa notificação foi realizada uma investigação de campo por representantes da Vigilância Epidemiológica(V.E.) municipal, da VE do Núcleo de Jales, VE da DIR XXII, da equipe do EPISUS/SP e da DDTR/CVE, com os seguintes objetivos:

- confirmar a existência de um surto ou de *cluster* (*agregado de casos e óbitos*);
- caracterizar os casos em tempo, pessoa e espaço;
- identificar os casos co-primários e secundários;
- identificar possíveis fatores de risco;
- orientar a adoção das medidas de controle e profilaxia.

## Metodologia

A investigação dos casos foi realizada por meio de: 1) análise das fichas epidemiológicas de notificação e investigação dos casos de DM; 2) análise de banco de dados do Sinan; 3) análise de fichas e prontuários de atendimento médico; 4) entrevistas com familiares e contatos dos casos; 5) entrevistas com o caso que não evoluiu para óbito e com os casos suspeitos e 6) entrevistas com os médicos que atenderam os casos.

O levantamento e análise das fichas e prontuários e as entrevistas com médicos e casos (confirmados ou suspeitos de DM) ocorreram na Santa Casa de Fernandópolis, no Hospital de Base de São José do Rio Preto e na Unidade Básica de Saúde de Estrela D'Oeste.

Os exames laboratoriais iniciais dos casos foram realizados pelos hospitais de atendimento. A identificação e confirmação do sorogrupo foram realizadas pelo Instituto Adolfo Lutz de São José do Rio Preto(cultura e/ou contraímunoelctroforese - CIE e/ou látex).

A definição de surto de DM utilizada foi: ocorrência de três ou mais casos confirmados ou prováveis do mesmo sorogrupo, excetuando-se os casos co-primários e secundários, num período menor ou igual a três meses, que residiam na mesma área geográfica e com uma taxa de ataque igual ou maior a 10 casos em 100.000 habitantes<sup>3,7</sup>.

Para inclusão no presente surto foram utilizadas as seguintes definições de casos:

- caso suspeito: todo paciente com sinais e/ou sintomas de meningite aguda, isto é, febre alta, vômitos, cefaléia intensa, rigidez de nuca ou abaulamento de fontanela; com ou sem toxemia (sonolência e/ou torpor e/ou irritação) e lesões cutâneas (petéquias ou púrpuras) residente ou que se deslocou para o município de Estrela D'Oeste, no mês de setembro de 2006.

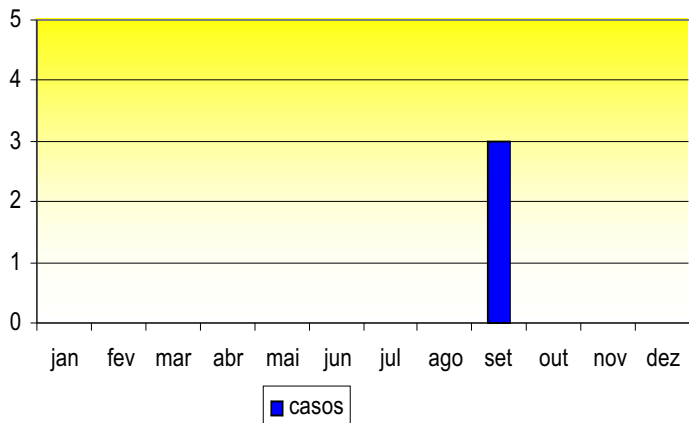
- caso confirmado: caso suspeito com critério de confirmação laboratorial e/ou necropsia.

## Resultados

Foram notificados 3 casos/2 óbitos de DM, no período de 6/9/2006 a 9/9/2006, sendo que 2 casos

residiam no Município de Estrela D'Oeste durante o período de incubação e 1 caso residia em Fernandópolis, mas com história de deslocamento recente para Estrela D'Oeste. Em 100% dos casos, foi identificado meningococo do sorogrupo C.

A partir das definições de casos adotadas, os três casos foram classificados como confirmados. Conforme a curva epidêmica (Figura 2), todos os casos ocorreram no mês de setembro/2006, na trigésima sexta semana epidemiológica.



Fonte: Sinan/DIR XXII-SJRP.

Figura 2. Distribuição dos casos confirmados de DM, segundo mês do início dos sintomas, Estrela D'Oeste, 2006

Nos últimos dez anos, não houve registro de casos de DM no Município de Estrela D'Oeste. O coeficiente de incidência de DM, no presente surto, foi de 25/100.000 habitantes, com faixas etárias de maior risco concentradas nos menores de cinco anos e entre 20 e 29 anos de idade e predomínio no gênero masculino, conforme ilustram as Tabelas 1 e 2.

Tabela 1. Distribuição dos casos confirmados de DM segundo faixa etária, gênero e coeficiente de incidência por 100.000 habitantes, Município de Estrela D'Oeste/SP, setembro de 2006.

Faixa etária	Gênero			%	Coeficiente
	masc	fem	total		
<1 ano	-	-	-	-	-
1 a 4	1	-	1	33,3	215,9
5 a 9	-	-	-	-	-
10 a 14	-	-	-	-	-
15 a 19	-	-	-	-	-
20 a 29	*1	1	2	66,7	146,4
30 a 39	-	-	-	-	-
40 a 49	-	-	-	-	-
50 e mais	-	-	-	-	-
Total	2	1	3	100	37,1

Fonte: Sinan.

\*inclusão do caso residente em Fernandópolis/SP.

Tabela 2. Distribuição dos casos confirmados de DM residentes em Estrela D'Oeste/SP, segundo faixa etária, gênero e coeficiente de incidência por 100.000 habitantes, Município de Estrela D'Oeste/SP, setembro de 2006.

Faixa etária	Gênero		%	Coeficiente
	masc	fem		
<1 ano	-	-	-	-
1 a 4	1	-	50	215,9
5 a 9	-	-	-	-
10 a 14	-	-	-	-
15 a 19	-	-	-	-
20 a 29	-	1	50	73,2
30 a 39	-	-	-	-
40 a 49	-	-	-	-
50 e mais	-	-	-	-
Total	1	1	100	24,7

Fonte: Sinan.

## Descrição dos casos

### Caso 1

K.R.S.R., 4 anos, sexo masculino, branco, residente em Estrela D'Oeste, previamente hígido. Apresentou os primeiros sintomas em 6/9/06 e no mesmo dia passou em consulta na Unidade Básica de Saúde (UBS) de Estrela D'Oeste, com hipótese diagnóstica inicial de resfriado e alta com orientações. Em 8/9/06, apresentou febre (38,3°C) e vômitos, quando foi encaminhado, novamente, à UBS de Estrela D'Oeste. Durante observação clínica, evoluiu com sonolência, diarreia, taquicardia, desidratação, desconforto respiratório, cianose labial e petéquias em face, sem sinais meníngeos. Houve tentativa de transferência para a Santa Casa de Fernandópolis, mas durante o percurso paciente teve piora clínica com progressão do quadro para choque séptico, parada cardíaco-respiratória e posterior óbito.

No dia 8/9/06, foi realizada coleta de LCR (líquido cefalorraquidiano) na Santa Casa de Fernandópolis com aspecto límpido. A bacterioscopia (LCR) resultou negativa e a aglutinação pelo látex reagente para meningococo C. A citouímica apresentou um leucócito/mm<sup>3</sup>, glicorraquia de 35 mg/dl e proteinorraquia de 32 mg/dl. A CIE (sangue) apresentou resultado positivo com evidência do meningococo C. Hemocultura apresentou-se negativa.

Critério de confirmação de caso: clínico-laboratorial.

Antecedentes epidemiológicos: criança residia com a mãe e os avôs, não freqüentava creche ou escola e circulava pouco pelas ruas da cidade. Sua mãe P.A.B.S, era namorada do caso 3 e trabalhava no mesmo frigorífico que o caso 2, mas em

bancadas diferentes. Além disso, P.A.B.S. foi a um churrasco no dia 3/9/06, em que estava o caso 2, mas o filho (caso 1) ficou em casa. P.A.B.S. referiu história de tosse pouco produtiva, cefaléia e dor de garganta naquele período e com melhora progressiva do quadro.

### Caso 2

L.F.R., 22 anos, sexo feminino, branca, residia em Estrela D'Oeste (mudou-se para Jales em 7/9/06), previamente hígida. Iniciou os primeiros sintomas na noite de 7/9/06 com cefaléia de forte intensidade. Procurou atendimento médico em Jales no dia 8/9/06, sendo transferida para o Hospital de Base (HB) de SJRP. Deu entrada nesse hospital na madrugada de 9/9/06 com história de cefaléia, vômitos, febre, mialgia, agitação psicomotora e manchas no corpo. No exame físico de entrada, paciente com Glasgow de 12, rigidez de nuca, saturação de oxigênio de 98% e petéquias disseminadas. Realizada hidratação venosa, observação do nível neurológico e iniciada antibioticoterapia com ceftriaxona, após coleta de LCR. Paciente evoluiu com melhora clínica e neurológica, recebendo alta do HB, após completar antibioticoterapia.

No dia 9/9/06, foi realizada coleta de LCR no Hospital de Base, com aspecto purulento. A bacterioscopia resultou negativa para diplococo Gram negativo e a aglutinação pelo látex reagente para meningococo do sorogrupo C. A citotécnica apresentou 960 hemáceas/mm<sup>3</sup>, 20.000 leucócitos/mm<sup>3</sup>, com predomínio neutrofílico, glicorraquia de 1 mg/dl e proteinorraquia de 153 mg/dl, pandy positivo. A CIE apresentou resultado negativo e a hemocultura identificou o meningococo (*Neisseria meningitidis*) do sorogrupo C.

Critério de confirmação de caso: clínico-laboratorial.

Antecedentes epidemiológicos: reside atualmente em Jales, mas residia em Estrela D'Oeste durante o adoecimento, com o marido e filho. Trabalhava no mesmo frigorífico que a mãe do caso 1, em Estrela D'Oeste. Em visita realizada no frigorífico pela VE municipal, VE do Núcleo de Jales e VE- DIR XXII foi verificado que, apesar do local ter ar condicionado, circula ar externo por todo ambiente, pois há uma rampa de acesso em que o animal sobe para desossa, além de portas de acesso dos funcionários ao local. Ao lado disso, observou-se que os trabalhadores não permanecem fixos na mesma bancada. L.F.R. participou do churrasco na casa de colegas do trabalho em 3/9/06, junto com a mãe do caso 1. Negava contato com os casos 1 e 3 e com pessoas doentes no período.

### Caso 3

D.F.S., 28 anos, sexo masculino, residente em Fernandópolis, previamente hígido. Iniciou sintomas em 9/9/06 com febre, cefaléia e náuseas. Neste mesmo dia, o paciente foi encaminhado à UBS de Estrela D'Oeste para elucidação diagnóstica. Como era namorado da mãe do caso 1 foi orientada e realizada a quimioprofilaxia com rifampicina. Deu entrada na UBS por volta das 15h30 do mesmo dia com febre (38,8°C), cefaléia frontal, sem vômitos, com estabilidade hemodinâmica e sem sinais de irritação meníngea ao exame físico. Foi medicado com dipirona endovenosa e, em seguida, encaminhado para Santa Casa de Fernandópolis para realização de exames complementares. Evoluiu na Santa Casa com hipotensão, dor abdominal, cianose labial e de extremidades, confusão mental e petéquias disseminadas. Na ocasião, foi realizada hidratação, prescrito penicilina cristalina e observação clínica rigorosa. Quadro clínico evoluiu com insuficiência respiratória grave e realizada intubação orotraqueal. Houve piora clínica com parada cardiorespiratória. Constatado óbito às 23h35.

No próprio dia 9/9/06, foi realizada coleta de LCR com aspecto límpido. A bacterioscopia (sangue) resultou positiva para diplococo Gram negativo. A citotécnica apresentou 1.040 hemáceas/mm<sup>3</sup>, um leucócito/mm<sup>3</sup>, glicorraquia de 28 mg/dl e proteinorraquia de 59 mg/dl. A CIE (LCR) apresentou resultado negativo. Na hemocultura foi isolada a *Neisseria meningitidis* (meningococo C).

Critério de confirmação de caso: clínico-laboratorial.

Antecedentes epidemiológicos: residia em Fernandópolis e se deslocava para Estrela D'Oeste com frequência para visitar a namorada (P.A.B.S.-mãe do caso 1). Antes de adoecer no dia 9/9/06, esteve em Estrela D'Oeste nos dias 5/9/06 por cerca de 1 hora e no dia 6/9/06 permaneceu na cidade durante 4 horas e esteve com P.A.B.S. Em entrevista, P.A.B.S. nega ter havido contato entre o caso 1 e o caso 3, já que ela se encontrava com o caso 3 na casa de uma amiga de trabalho. Assim como, nega que D.F.S. tenha tido contato com pessoas doentes no período. D.F.S. não foi ao churrasco do dia 3/9/06.

É de fundamental importância ressaltar que não houve evidências de contato entre os três casos acima descritos.

### Discussão

No Brasil, a primeira metade da década de 70 foi marcada por epidemias de DM causadas pelos meningococos A e C, com taxas de incidência que atingiram até 170/100.000 habitantes em determinadas cidades do País. A década de 80 se iniciou com baixa incidên-

cia, mas a partir de 1986 houve um aumento de casos, notadamente pelo sorogrupo B.

A partir de 2003, observou-se variação positiva em relação ao percentual do sorogrupo C em comparação com o sorogrupo B, isto é, aumento da proporção do sorogrupo C. Porém, não houve aumento concomitante da incidência dos casos de DM no decorrer do mesmo período<sup>9</sup>.

A distribuição geográfica da DM é universal, ocorrendo casos tanto em área urbana como rural. A aglomeração intradomiciliar favorece a transmissão<sup>9</sup>. Diversos fatores são importantes para ocorrência da DM como a suscetibilidade imunológica, a presença de cepas mais virulentas e baixas condições sócioeconômicas<sup>2</sup>.

O Município de Estrela D'Oeste, localizado a cerca de 170 km de São José do Rio Preto, é uma região que apresentou alta taxa de mortalidade infantil em 2004 (41,67 por 1.000 nascidos vivos).<sup>8</sup> Nos últimos dez anos, não houve registro de nenhum caso notificado de DM no município, o que remete a discussão da presente mudança do comportamento epidemiológico deste agravo na região, possivelmente relacionado à alguma cepa mais virulenta ou da alteração da suscetibilidade imunológica da população no presente surto.

ADM apresenta quadros clínicos variados, podendo ser classificada em três formas clínicas principais: meningococemia, apenas meningite sem meningococemia e meningite com meningococemia. A meningococemia é a expressão mais grave da doença, apresentando uma taxa de letalidade que varia entre 15% - 30%<sup>2,9</sup>.

Neste surto, o quadro clínico de meningococemia predominou em 67% dos casos, sendo que em 33% dos casos houve meningite associada. No LCR do caso 2 houve leucocitose com predomínio neutrofílico, compatível com a hipótese de meningite bacteriana. A letalidade foi de 67%, muito acima da letalidade registrada para DM no Sinan no primeiro semestre de 2006, de 13,7% no Estado de São Paulo. A elevada letalidade pode ser explicada pelo pequeno número de casos identificados no surto e pela forma de apresentação clínica predominante dos casos.

Vale destacar que todos os casos foram sorogrupo-ados com identificação de meningococo do sorogrupo C, o que está de acordo com o progressivo aumento da prevalência deste sorogrupo no Estado de São Paulo.

Em relação à transmissão da DM, há necessidade de contato íntimo e prolongado para uma transmissão ser eficiente<sup>1-11,12</sup>. O doente, do ponto de vista epidemiológico, não possui um papel de destaque na propagação da *N. meningitidis*. O principal elemento

na cadeia de transmissão do meningococo é o portador assintomático<sup>2,9</sup>.

Nesse contexto, a prevenção de casos de DM e o controle de surtos dependem da identificação e da notificação rápida dos casos. Para tanto, uma vigilância epidemiológica estruturada e efetiva é fundamental. Só assim, torna-se possível a realização de quimioprofilaxia oportuna e a avaliação da necessidade ou não de vacinação da população de risco.

Os principais objetivos da quimioprofilaxia são prevenir os casos secundários de DM e erradicar o estado de portador de um indivíduo<sup>2</sup>. No Brasil, a quimioprofilaxia está padronizada e a droga de escolha é a rifampicina<sup>1</sup>.

No Município de Estrela D'Oeste, houve a caracterização de um surto de Doença Meningocócica Sorogrupo C em setembro de 2006, com curso rápido e progressivo, não houve evidência de contato entre os casos e o coeficiente de incidência foi maior do que 10 por 100 mil habitantes. A rápida notificação dos casos, efetivada pela VE do município, permitiu a realização oportuna da quimioprofilaxia em todos os familiares e comunicantes próximos dos casos.

Ao lado disso, pela rápida propagação do surto em curto período de tempo, com faixa etária de maior risco concentrada nos menores de 5 anos (caso 1), seguida de 20 a 29 anos (casos 2 e 3) e pela letalidade elevada foi recomendada uma Campanha de Vacinação contra o meningococo C na região.

A estratégia de vacinação durante um surto de DM tem como objetivo a prevenção de casos secundários<sup>2</sup> e, por conseguinte, o controle efetivo do surto. As vacinas polissacarídeas contra os sorogrupos A e C têm imunogenicidade de 85% em crianças maiores de 5 anos e em adultos, não sendo indicadas para menores de 2 anos. Entretanto, a imunidade alcançada é temporária, durando de três a cinco anos. Essas vacinas são utilizadas para o controle de surtos ou epidemias da doença em grupos definidos por espaços sociais ou geográficos<sup>6,11 e 12</sup>.

A vacina conjugada contra o meningococo C é a indicação apropriada para os menores de 2 anos. À semelhança da vacina conjugada Hib (contra o *Haemophilus influenzae* tipo b), as cápsulas polissacarídicas dos meningococos (sorogrupos A, C, Y e W135) têm sido quimicamente conjugadas a proteínas de transporte. Estas vacinas conjugadas induzem uma resposta celular T-dependente, resultando em melhora da resposta imune em lactentes, com excelente

memória imunológica e potencial para proteção de longa duração. Nesse sentido, com o advento das vacinas conjugadas crescem as expectativas em torno do potencial impacto a ser observado no perfil epidemiológico global deste agravo.

### Conclusão e recomendações

Pela análise detalhada dos três casos relatados, foi possível a confirmação de um surto de DM no Município de Estrela D'Oeste no período de 6/9/06 a 9/9/06, com determinação do sorogrupo C em 100% dos casos. Foi realizada quimioprofilaxia de forma criteriosa e oportuna em todos os familiares e contatos próximos dos casos, inclusive dos trabalhadores do frigorífico, que eram comunicantes do caso 2.

Em reunião conjunta, a Divisão de Doenças de Transmissão Respiratória/CVE, a Divisão de Imunização/CVE, a Diretoria Técnica do CVE e a Coordenadoria de Controle de Doenças da SES/SP recomendaram uma Campanha de Vacinação contra o meningococo C no Município de Estrela D'Oeste, como a estratégia mais adequada para o efetivo controle do surto. As vacinas recomendadas foram: vacina conjugada (C) aos menores de 2 anos e vacina polissacarídica (C) aos maiores de 2 anos. A população alvo a ser vacinada nesse surto compreendeu a faixa etária de 2 meses a 29 anos, por ser esta a faixa etária definida como a de maior risco, conforme a descrição dos dados já referidos.

No dia 21/09/06, foi conduzida a campanha nas escolas do município, com vacinação de 1.646 alunos. Em 22/09/06, a campanha ocorreu na Unidade Básica de Estrela D'Oeste nas crianças, adolescentes e adultos jovens, concentrados na faixa etária de 2 meses a 29 anos (29 anos, 11 meses e 29 dias), sendo vacinadas 1.306 pessoas. No dia 29/09/06, uma equipe da VE municipal se deslocou até o frigorífico, onde trabalhava o caso 2 e a mãe do caso 1, para vacinação de 438 funcionários.

Foram fornecidos materiais impressos de notificação, investigação, diagnóstico, tratamento e prevenção de meningite à comunidade. Ao lado disso, foi recomendada a elaboração de uma nota técnica dirigida aos profissionais de saúde e à população local, no intuito de informar e esclarecer sobre as principais medidas de prevenção e controle adotadas frente ao surto.

Na oportunidade, houve distribuição de materiais educativos pela equipe da VE municipal e divulgação de informações sobre a DM pela mídia local à comunidade.

Enfatizou-se a importância do monitoramento de todos os casos suspeitos de meningite no município.

Como também, a capacitação periódica dos profissionais de saúde, com vistas à notificação, investigação, diagnóstico e tratamento precoces.

Portanto, com a notificação imediata da ocorrência desses casos, foi possível a realização das medidas de controle e prevenção de forma adequada e oportuna. Dessa forma, conclui-se que o surto foi contido de maneira efetiva e, até o presente, não houve notificação de novos casos confirmados de DM, no Município de Estrela D'Oeste.

### Agradecimentos:

Equipe técnica da DIR XXII - SJRP, à equipe técnica das VE municipais, ao corpo clínico dos hospitais: Hospital de Base de SJRP, Santa Casa de Fernandópolis, UBS municipais; ao Instituto Adolfo Lutz - SJRP e a todos que colaboraram e apoiaram a investigação e o controle do surto.

### Referências bibliográficas

1. Ministério da Saúde. Fundação Nacional de Saúde. Guia de Vigilância Epidemiológica. 6ª ed. Brasília (DF); 2005.
2. World Health Organization. Control of Epidemic Meningococcal Disease. WHO. Practical Guidelines. 2ª ed. 1998. Disponível em: outubro de 2006.
3. Carvalhanas TRMP, Brandileone MCC, Zanella RC. Meningites bacterianas. **Bepa** 2005 [Boletim *on-line*]. Disponível em: outubro de 2006.
4. American Academy of Pediatrics. Infecções Meningocócicas. *In*: Pickering LK, ed. Red Book: 2003 Report of the Committee on Infectious Disease. 26ª edição. Elk Grove Village; 2003: 444-450.
5. Meira DA. Doença Meningocócica. *In*: editores Veronesi R, Focaccia R. Tratado de Infectologia. Segunda edição. São Paulo: Atheneu; 2002. p. 645-54.
6. Ciccone FH, Suzuki E, Pellini ACG, Freitas AC, Vilaça PJ, Carvalhanas TRM et al. Doença Meningocócica: Investigação de Surto Comunitário no Distrito Administrativo do Grajaú, Município de São Paulo, Julho de 2006. **Bepa** 2006 [Boletim *on-line*]. Disponível em: outubro de 2006.
7. Centers for Diseases Control. Prevention and Control of Meningococcal Disease. Recommendation of the Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP). **MMWR Morb Mortal Wkly Rep** 2005; 54 (RR-7):



- 1-21. Disponível em outubro de 2006.
8. Fundação Seade. Anuário Estatístico do Estado de São Paulo: 2004. Disponível em outubro de 2006.
  9. Carvalhanas TRMP, Pellini ACG, Gorla MCO. Infecção Meningocócica. *In*: Antonio Carlos Lopes, editor. Tratado de Clínica Médica, v. 3. São Paulo: Roca 2006; seção 19, cap.386, p. 3996-4015.
  10. Stiehm, E, Damrosch, D. Factors in the prognosis of meningococcal infection. **J. Pediatric** 1966; 68: 457-67.
  11. Centers for Diseases Control. Epidemiology and Prevention of Vaccine Preventable Diseases: the Pink Book. 9<sup>th</sup> ed. Atlanta (GA): 2006. Meningococcal disease. Disponível em: outubro de 2006.
  12. Barroso DE, Carvalho DM, Nogueira AS, Solari CA. Doença meningocócica: epidemiologia e controle dos casos secundários. **Rev Saúde Pública** 1998; 32(1): 89-97.

**Correspondência/Correspondence to:**

Divisão de Doenças de Transmissão Respiratória – CVE  
Av. Dr. Arnaldo, 351 – 6º Andar  
CEP 01246-000 – São Paulo (SP)  
Tels.: (11) 3066-8000, ramais 8236 e 8289, 3082-0957  
FAX: (11) 3082-9359/9395  
E-mail: dvresp@saude.sp.gov.br

## Produção e Aplicação de Novos Anticorpos Monoclonais na Padronização de Técnicas Imunológicas para a Detecção das Bactérias *Escherichia Coli* O157:H7, *Vibrio Colerae* 01 e Toxinas Stx1, Stx2 em Alimentos.

### *Production and application of New Monoclonal Antibodies in the Padronization of Immunological Methods for the Detection of the Bacteria Escherichia Coli O157:H7 Vibrio Colerae 01 and Stx1, Stx2 toxins in Food*

Ruth E G Rowlands<sup>1</sup>, Christiane A Ristori<sup>1</sup>, Tatiane Ferreira<sup>2</sup>, André Yoshio Yto<sup>2</sup>, Daniela de Lima Franco<sup>2</sup>, Monica C G Scola<sup>3</sup>, Mioko Jakabi<sup>1</sup>, Dilma S Gelli<sup>1</sup>, Mark Tamplin<sup>4</sup>, Tulio N. Cunha<sup>2</sup> e Elizabeth N. De Gaspari<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Seção de Microbiologia Alimentar e <sup>2</sup>Seção de Imunologia, <sup>3</sup>Seção de Coleção de Bactérias, Instituto Adolfo Lutz, Coordenadoria de Controle de Doenças, Secretaria de Estado da Saúde de São Paulo-IAL/CCD/SES-SP, <sup>4</sup>Departamento da Agricultura, Pennsylvania-USA

#### Resumo

O presente trabalho descreve a produção e utilização de novos anticorpos monoclonais para a detecção das bactérias *Vibrio cholerae*, *Escherichia coli* O157:H7 assim como para as toxinas Stx1 e Stx2 em amostras de alimentos. Testes imunológicos como Dot-ELISA, ELISA de captura e aglutinação utilizando partículas de látex ligadas aos anticorpos monoclonais produzidos estão em fase de avaliação. Os limites e padrões microbiológicos que devem ser adotados para garantir uma correta interpretação sobre os resultados das análises microbiológicas, os fatores que contribuem para a ocorrência de surtos de enfermidades de origem alimentar demandam a implantação de sistemas de detecção de alta sensibilidade e especificidade, características estas das técnicas imunológicas. Os dados indicam que os ensaios de Dot-ELISA, ELISA de captura e aglutinação utilizando partículas de látex são apropriados dependendo da amostra de alimento analisada.

**Palavras-chave:** anticorpo monoclonal, Dot-ELISA, ELISA de captura, aglutinação utilizando partículas de látex, amostras de alimentos.

#### Abstract

This paper describes the production and the use of new monoclonal antibodies for the detection of the bacteria *Vibrio cholerae*, *Escherichia coli* O157:H7 as well as for the toxins Stx1 e Stx2 in food samples. Immunological tests like Dot-ELISA - Capture and agglutination ELISA, employing latex particles linked to the monoclonal antibodies produced are under evaluation. Limits and microbiological patterns that must be adopted to warrant correct interpretation of the results of microbiological results, factors contributing to the occurrence of foodborne diseases outbreaks demand the implantation of detection systems of high specificity and sensibility, which are characteristic of these immunological techniques. Data indicate that Dot-ELISA, Capture ELISA Agglutination essays and latex particles are appropriate, depending on the food sample under analysis.

**Key words:** monoclonal antibodies, Dot-ELISA, capture ELISA, agglutination with latex particles, food samples.

## Introdução

As *Escherichia coli* são bactérias presentes normalmente no intestino do homem e de animais. A maioria delas não é patogênica, entretanto algumas cepas são causas de graves doenças. A *E. coli* O157:H7 é uma cepa particular que causa uma severa diarreia e em alguns casos complicações sérias que podem levar ao óbito. A doença causada por estas cepas é clinicamente distinta de outras doenças causadas por outros patógenos entéricos.

A bactéria foi identificada pela primeira vez em surtos de colite hemorrágica nos estados de Oregon e Michigan/EUA, associada ao consumo de hambúrguer mal cozido em restaurantes de uma cadeia de *fast food*<sup>1</sup>. De 1982 a 2002, foram reportados 350 surtos, 8.598 casos esporádicos, 1.493 hospitalizações, 354 casos de colite hemorrágica e 40 óbitos por *E. coli* O157 em 49 estados dos EUA, sendo os produtos cárneos moídos de origem bovina os veículos identificados em 75 surtos e os hambúrgueres bovinos em 27 surtos. Nesse período, entre os surtos associados a hambúrgueres contaminados, cinco ocorreram em restaurantes do tipo *fast food*, sendo dois em 1982, um em 1992 a 1993, um em 1995, e um em 1999. Seis surtos similares envolvendo hambúrgueres contaminados por esta bactéria, nos EUA, também foram notificados em 2003 (três casos) e 2004 (três casos)<sup>2,3</sup>.

A *E. coli* O157:H7 tem uma característica que a diferencia da maioria das cepas de *E. coli*. Ela pode sobreviver às baixas temperaturas e resiste à dessecação e ambientes com pH ácido. Estas características permitem a sua persistência em ambientes distintos de outras cepas de *E. coli*. Elas podem sobreviver em ambientes ácidos por até 56 dias. Conseguem sobreviver em ambientes dessecados e em salsichas dessecadas e estocadas a baixas temperaturas. Outra característica dessas cepas é a sua baixa dose infectante. A dose infectante suficiente para causar a doença está entre 10 a 100 células, correspondente a 1/10.000 da dose de outras cepas de *E. coli*. Conseqüentemente, os ambientes que permitem a sua sobrevivência podem representar sérios riscos à saúde humana<sup>4</sup>.

Embora possa ser isolada de uma variedade de animais, o gado tem sido considerado o principal reservatório de *E. coli* O157:H7. Habitante do trato gastrointestinal de animais normais sadios, sua prevalência varia de 1,8 a 16% em rebanhos dos Estados Unidos. Tais estimativas podem variar consideravelmente dependendo da linhagem do gado, da localização geográfica e de outros fatores, incluindo a composição da dieta, o tamanho do rebanho e a idade dos animais. A presença do patógeno no animal individual dentro dos rebanhos parece ser transitória.

Tem sido relatado que a eliminação de *E. coli* O157:H7 nas fezes varia de acordo com a idade do animal, com os regimes alimentares e com as condições de stress. No gado leiteiro são eliminadas *E. coli* O157:H7. Estes animais podem excretar de  $10^3$  a  $10^5$  CFU de *E. coli* O157:H7 por grama de fezes.

Acredita-se que as *E. coli* O157:H7 sejam inofensivas para o animal hospedeiro, o que complica o controle da sua disseminação através dos ambientes da fazenda. A maneira pela qual ela infecta o animal, o tempo de sua persistência, os efeitos na saúde animal e o papel desses ambientes permanecem desconhecidos. A sua disseminação mundial possivelmente indica que este microrganismo estabeleceu um nicho ecológico onde suas toxinas podem aumentar a sobrevivência.

A *E. coli* O157:H7 também foi encontrada em outros animais tais como o carneiro, suínos, cabras e aves. Animais selvagens e domésticos que vivem próximos à fazenda de gado podem também albergar esta espécie. Portanto, além do gado, outros animais também podem ser veículos de *E. coli* O157:H7<sup>3</sup>.

No Brasil, têm sido realizados estudos visando evidenciar a presença de *E. coli* O157:H7 em hambúrgueres, frigoríficos e indústrias nas regiões Sul e Sudeste. A bactéria não foi detectada em nenhuma das amostras analisadas, atestando senão a ausência, pelo menos uma baixa frequência desse patógeno em produtos cárneos brasileiros<sup>3,4</sup>.

As enfermidades transmitidas por alimentos (ETAs) são definidas como qualquer doença resultante da ingestão de alimentos contaminados. Podem ser causadas pelo consumo de produtos contendo células vegetativas viáveis de um agente infeccioso específico ou toxinas pré-formadas resultantes da proliferação de patógenos toxigênicos<sup>3,5</sup>.

Essas enfermidades são consideradas pela Organização Mundial de Saúde (OMS) como um dos problemas de saúde pública mais difundidos no mundo contemporâneo e afetam até 30% da população do mundo industrializado<sup>6</sup>. As conseqüências que essas doenças podem causar à saúde humana são bastante variáveis, dependendo de sua natureza, estágio de tratamento, idade, susceptibilidade individual, patogenicidade do agente e número de organismos ingeridos<sup>3,7,8</sup>.

A doença começa com uma severa diarreia e câimbras abdominais levando à uma diarreia sangüinolenta. Os sintomas ocorrem usualmente 3-4 dias após a exposição. Algumas pessoas têm somente uma diarreia moderada ou nenhum sintoma, o que pode ser de grande relevância na disseminação subsequente. Vômitos e/ou febre baixa também podem ocorrer. As complicações incluem a síndrome

hemolítica urêmica (HUS), a mais séria delas, o que pode resultar em destruição dos glóbulos vermelhos (anemia hemolítica), trombocitopenia e colapso renal. A HUS pode também afetar o sistema nervoso e levar eventualmente ao coma. Elevados números de glóbulos brancos, febre, anemia e insuficiência renal são sinais de desenvolvimento da HUS. Embora a maioria das pessoas se recupere da HUS, aproximadamente, 2 a 7% dos pacientes vão a óbito; em alguns surtos, entre os idosos, a taxa de mortalidade pode chegar a 50%.

Os microrganismos que contaminam os produtos cárneos são amplamente distribuídos na natureza e podem ser encontrados na água, no ar, no solo, no trato intestinal do homem e de animais, na pele, nas mãos e no trato respiratório dos manipuladores de alimentos, na pele e nas carcaças de bovinos e nos utensílios e equipamentos de abatedores e de cozinhas<sup>9</sup>.

A microbiota normal de produtos à base de carne bovina moída sob condições higiênicas é composta, predominantemente, por bactérias Gram-negativas da família *Enterobacteriaceae* e do gênero *Pseudomonas* e por Gram-positivas dos gêneros *Enterococcus*, *Lactobacillus* e *Staphylococcus*<sup>2</sup>. As bactérias patogênicas ou potencialmente mais comuns nestes alimentos são *Escherichia coli*, *Clostridium perfringens*, *S. aureus* e *Salmonella*, e, ocasionalmente, *Yersinia enterocolitica*, *Clostridium botulinum* e *Bacillus cereus*<sup>3,10</sup>.

Na carne moída ou na carne de hambúrguer bovina são evidenciadas, predominantemente, as bactérias deteriorantes aeróbias Gram-negativas como *Pseudomonas*, *Alcaligenes*, *Acinetobacter*, *Moraxella* e *Aeromonas*, que crescem na superfície desses alimentos e, ocasionalmente, as anaeróbias Gram-positivas como *Lactobacillus*, que se desenvolvem no seu interior<sup>11,12</sup>. As *Pseudomonas* e *Acinetobacter-Moraxella* spp são geralmente responsáveis pela deterioração primária, com algumas outras atuando em menor escala, no processo<sup>11</sup>.

Normalmente, os episódios agudos são brandos, autolimitados e de curta duração. Destacam-se como sintomas mais comuns: diarreia, cólica, dor abdominal, náusea e, raramente, vômito e febre<sup>12</sup>.

Crianças, idosos, gestantes e indivíduos imunodebilitados são considerados grupos de risco, uma vez que apresentam o sistema imunológico incompleto ou deficiente e, nesses casos, a ingestão de pequeno número de patógenos pode ser suficiente para causar doença. Deve-se considerar ainda que essas patologias podem manifestar-se de forma mais acentuada, causando sérias complicações ou até mesmo a morte<sup>3</sup>.

Nas últimas décadas, foram identificadas novas

espécies de patógenos ou verificado o reaparecimento de agentes já conhecidos e também foram desenvolvidos métodos mais eficazes de isolamento e detecção<sup>13</sup>. Mudanças demográficas e alterações nos hábitos alimentares têm provocado modificações tecnológicas na indústria com relação à formulação, ao processamento e à distribuição dos alimentos. Essas modificações, associadas à habilidade dos microrganismos de se desenvolverem rapidamente e se adaptarem ao ambiente, têm acarretado novos desafios ao sistema alimentar<sup>14</sup>.

A variedade de alimentos associados a surtos de doenças por eles veiculadas inclui os produtos de origem animal, como carnes vermelhas, de frango, peixes e frutos do mar, ovos, leite e seus derivados e os de origem vegetal, como as frutas e hortaliças. A carne bovina e seus derivados têm sido apontados como os principais veículos em vários surtos notificados em diferentes países.

A multiplicação de patógenos nos produtos cárneos pode ocorrer em qualquer etapa da produção e do consumo e depende de fatores intrínsecos como atividade da água, pH, potencial de oxidação-redução, composição química, fatores antimicrobianos naturais, interações entre os microrganismos e de fatores extrínsecos relacionados com o ambiente como a umidade e a temperatura.

Durante a produção do hambúrguer, tanto em estabelecimentos industriais e varejistas quanto na fabricação caseira, pode ocorrer contaminação resultante da adoção de práticas inadequadas de higiene ou após adição de condimentos ou outros ingredientes contaminados. A remoção ou a diminuição do número de bactérias coliformes pode ser evidenciada após o tratamento da carne utilizada na fabricação de hambúrgueres por pasteurização com água a 85°C por 45 ou 60 segundos<sup>3,15</sup>.

O armazenamento e o resfriamento inadequados da carne também são fatores que contribuem para a ocorrência de ETAs<sup>16</sup>. Os hambúrgueres devem ser acondicionados corretamente em sacos plásticos estéreis, estocados e conservados congelados sob temperaturas= 0°C, preferencialmente a 18°C com tolerância de até 12°C até o momento do uso. Sob refrigeração, os produtos cárneos de origem bovina devem ser armazenados a 4°C por até 72 horas<sup>3,17</sup>.

O hambúrguer mal cozido tem sido apontado como um dos principais fatores de risco de infecções esporádicas e surtos causados por *E. coli* O157:H7<sup>18</sup>.

Em muitos países, erros durante o processamento e o cozimento de hambúrgueres têm resultado em vários surtos, especialmente causados por *Escherichia coli* O157:H7. Isso demonstra que a contaminação cruzada e o tratamento térmico insuficiente são fatores diretamente relacionados

com surtos causados por produtos cárneos<sup>3,19,20</sup>.

Nos EUA, são estimados, aproximadamente, 250 mil casos de toxinoses alimentares por *C. perfringens* e sete óbitos por ano<sup>21</sup>. Entre 1993 e 2004, foram identificados no país alguns surtos causados por essa bactéria, associados ao consumo de carne moída cozida. Na Inglaterra e País de Gales, de 1996 a 2000, foram relatados 168.436 casos de toxinoses por *C. perfringens*, o que ocasionou 709 hospitalizações e 177 óbitos, sendo as carnes de origem bovina e aviária os alimentos mais envolvidos<sup>22</sup>. Surtos similares causados por este patógeno, tendo a carne e o hambúrguer de origem bovina como veículos, também foram identificados na Austrália, entre 1995 e 2000, e no Brasil, entre 1998 e 2001<sup>3,23</sup>.

É bem reconhecido, atualmente, que cada país deve ter o seu próprio banco de dados sobre composição de alimentos, especialmente em relação aos componentes que afetam a saúde humana, positiva ou negativamente. A análise de alimentos, no entanto, é dispendiosa e complicada, e os métodos variam largamente em custo, exatidão, precisão e complexidade. São imprescindíveis a validação e revalidação de métodos e são também requeridos, especialmente em países em desenvolvimento, vários métodos para cada analito, todos capazes de fornecer dados confiáveis, e passíveis de serem utilizados por laboratórios com recursos humanos e materiais diferentes.

Assim, o presente trabalho teve por objetivo comparar métodos sorológicos de alta sensibilidade e especificidade na análise da bactéria *E. coli* O157:H7 e *V. cholerae* como anticorpos monoclonais para as toxinas Stx1 e Stx2 produzidos na seção de Imunologia utilizando como alimentos carnes e hortaliças.

## Objetivos

Alcançar a auto-suficiência na produção de anticorpos monoclonais a serem utilizados no diagnóstico de algumas infecções entéricas de importância em saúde pública. A produção de reagentes de baixo custo, utilizando anticorpos monoclonais e que possibilitem a sua aplicação em métodos de diagnóstico rápido de alta especificidade e sensibilidade, permitindo uma ação mais eficaz na prevenção e controle dessas infecções.

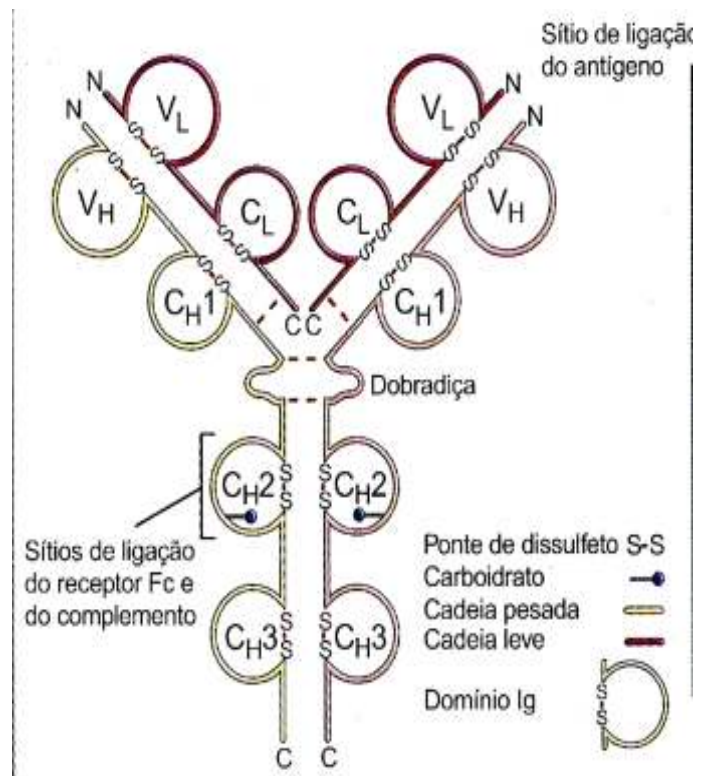
## Material e métodos

### Anticorpos

- São um tipo de molécula glicoprotéica, também

chamada de imunoglobulina, Ig.

- São produzidos por tecidos linfóides em resposta à presença de antígenos.
- Atuam neutralizando e eliminando os antígenos que induziram sua formação.
- São capazes de distinguir dois polipeptídeos que se diferenciam pela presença de um aminoácido.
- Apresentam grande especificidade.



Fonte: Abbas et al, 1993.

Todo anticorpo é formado por duas cadeias leves e duas pesadas. Os dois tipos de cadeias apresentam regiões variáveis (V; N-terminal) e regiões constantes (C; carboxi-terminais)

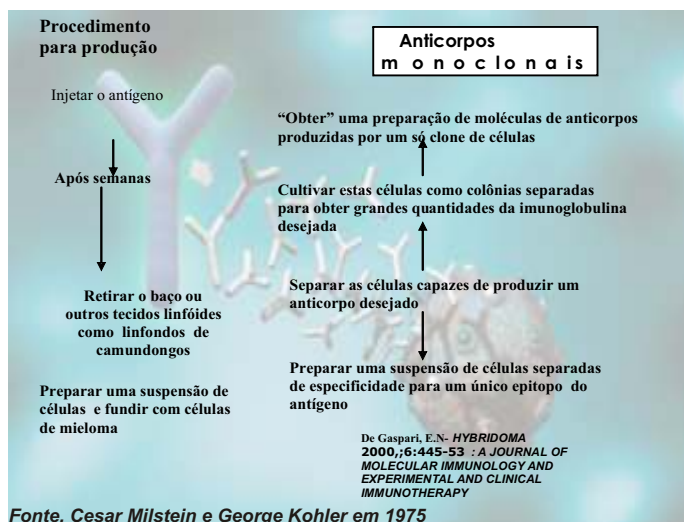
### Anticorpos policlonais

- Um clone de células B produz anticorpos com sítios idênticos para combinar com antígenos, isto é, anticorpos com as mesmas regiões variáveis.
- A heterogenidade dos anticorpos produzidos quando se injeta um único antígeno purificado em um animal se deve à ativação de muitos linfócitos B diferentes para diferentes partes do antígeno.

### Anticorpos monoclonais

- Essa técnica foi descrita por Cesar Milstein e George Kohler em 1975.
- Baseada no fato de que cada linfócito B produz anticorpo de uma única especificidade.

- São necessárias manipulações adicionais para obter anticorpos monoclonais, pois os linfócitos B que sintetizam os anticorpos não crescem e nem se dividem em cultivo.
- Solução: Combinaram dois tipos de células, o linfócito normal e o mieloma, fusionando as duas e formando células híbridas HIBRIDOMA, que crescem e proliferam produzindo grande quantidade do anticorpo desejado.
- Em 1980 dois anticorpos monoclonais foram submetidos a experimentos clínicos mas esse número aumentou consideravelmente nos últimos 20 anos<sup>24,25,26,27</sup>.
- Atualmente, aproximadamente 200 anticorpos e seus derivados estão em experimentação clínica para o tratamento de doenças.



Fonte: Cesar Milstein e George Kohler em 1975

Figura 1. Procedimento técnico utilizado no laboratório para a produção de anticorpos monoclonais em camundongos

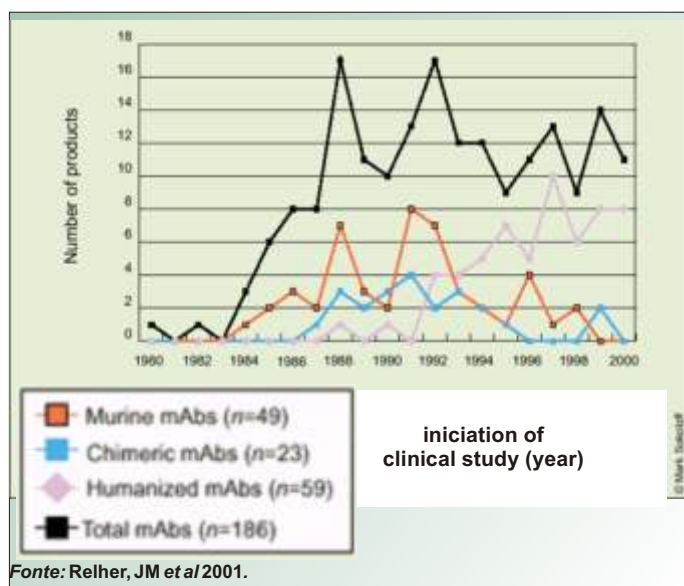


Figura 2. Número de AcMs que incorporaram estudos clínicos por ano.

### Imunodiagnóstico

- Nos últimos anos os anticorpos monoclonais se tornaram uma classe cada vez mais importante de terapêuticos humanos<sup>24,25,26,27</sup>.
- Diversos resultados clínicos bem sucedidos realizados recentemente aumentaram o interesse em pesquisas voltadas à expressão de várias formas de anticorpos monoclonais<sup>31</sup>.
- O diagnóstico de muitas doenças infecciosas baseia-se na detecção de antígenos e /ou anticorpos particulares na circulação ou nos tecidos, usando-se anticorpos monoclonais.

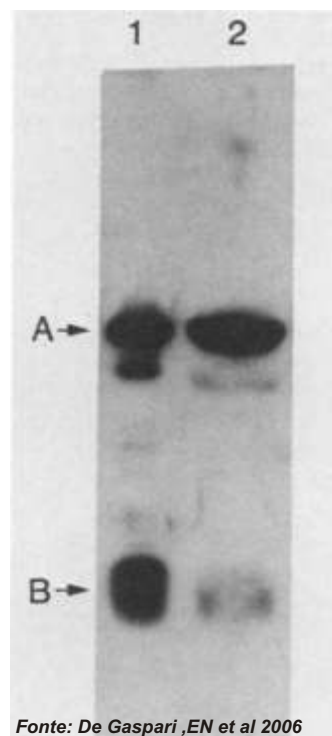


Figura 3. Caracterização por eletroforese em gel de poliacrilamida (SDS-PAGE) das toxinas (1) Stx1 e (2) Stx2 utilizadas na imunização de camundongos para a produção de anticorpos monoclonais. Método de coloração pela prata.

Camundongos da linhagem BALB/C foram imunizados pela via subplantar com  $1 \times 10^2$  células inteiras de *E. coli* O157:H7, inativadas com formalina 0,5% no volume de 10µl, ou com as toxinas STx1 e ou STx2 previamente emulsificadas na mesma proporção em adjuvante completo de Freund (Sigma). Após 20 dias, os animais receberam uma dose reforço pela mesma via e a mesma quantidade de antígeno, embora a emulsão tenha sido feita em adjuvante incompleto de Freund (Sigma). Os camundongos foram sangrados pelo plexo oftálmico para análise, por meio do ensaio imunoenzimático (ELISA), da quantidade dos anticorpos produzidos antes da fusão. Utilizamos o protocolo técnico baseado em estudos para obtenção de AcMo em

nosso laboratório, com algumas modificações. O trabalho foi aprovado pelo Comitê de ética e pesquisa do Instituto Adolfo Lutz **CTC/BM 44/99**.

### Obtenção de células de linfonodos poplíteos

Foi utilizado um camundongo para a fusão celular. Três dias antes da fusão celular, que corresponde dois dias após ter sido realizada a última coleta da amostra de sangue, foi dado reforço contendo  $1 \times 10^2$  células íntegras de *E. coli* ou toxinas STx em solução salina. Os linfonodos poplíteos do camundongo imunizado foram retirados asépticamente e macerados com lâminas de microscopia com um dos lados do vidro esmerilhada em meio de cultura RPMI 1640 (Gibco), suplementado com glutamina (Gibco) a 1%, piruvato de sódio (Gibco) a 2%, meio não essencial MEM a 1%, gentamicina (Gibco) a 0,1% e HEPES (Gibco) a 1,5%. As células assim obtidas foram reservadas para a técnica de fusão celular. O cultivo das células de mieloma P3X63-Ag8.653 foi realizado até atingirem a fase logarítmica de crescimento um dia antes da fusão (acertando a concentração para  $5 \times 10^4$  células/mL). Um dia antes da fusão foi obtido o *feeder layer* de macrófagos, injetando 5 mL de RPMI com SFB (soro fetal bovino) no peritônio de camundongos. O lavado peritoneal foi diluído em 45 mL de meio e distribuído em placa de cultura de 96 orifícios. As placas foram incubadas a 37°C em estufa de CO<sub>2</sub> a 5%<sup>28</sup>.

### Obtenção dos hibridomas (Fusão celular)

Os linfócitos e as células mielomatosas foram lavados separadamente utilizando o meio RPMI e centrifugados durante 5 minutos a 800xg. Os sobrenadantes foram descartados e foram adicionados 10 mL do meio, tanto no *pellet* de linfócitos como naquele das células de mieloma. Foi realizada contagem das células diluídas a 1:2 em *trypan blue* (Gibco) a 0,1%. As células foram misturadas na proporção 1:1 (células de infonodo/mieloma) e após centrifugação, foi realizada a fusão celular com o sedimento utilizando uma solução, previamente autoclavada, de 0,5 g de polietilenglicol 3500 (MERCK) diluída em 0,7 mL de PBS (pH 7,4), contendo 50 µL de dimetilsulfóxido (Sigma), gota a gota, por 1 min. a 37°C. Na seqüência, as células foram mantidas em repouso por 1,5 min a 37°C, foi adicionado 1 mL de RPMI com SFB, gota a gota por 1 min. a 37°C, e mais 20 mL de RPMI, gota a gota por 4 min. a 37°C. As células foram mantidas em repouso por 4 min. a 37°C. Em seguida, foram centrifugadas em meio RPMI com SFB,

contendo HAT a 3% (Gibco) na proporção de  $1 \times 10^6$  células por mL de meio. Após duas horas de incubação por orifício em placas contendo *feeder layers* de macrófagos e mantidas a 37°C com 5% de CO<sub>2</sub>. A primeira troca de meio foi realizada após 3 dias, as subseqüentes a cada 2 dias, e após uma semana o HAT foi substituído por hipoxantina e timidina (HT) (Gibco) a 2% e mantido por mais duas semanas, quando se passou a utilizar RPMI-SFB. A seleção dos clones por ELISA foi iniciada dez dias após a fusão celular, quando os hibridomas já se apresentavam com bom crescimento (ocupando 1/3 do poço). O ELISA para a seleção dos clones foi feito com células íntegras de *E. coli* ou as toxinas. Para a seleção foi utilizado conjugado anti-IgG solução PBS-Tween 0,05% e bloqueadas por 1h com 200µL de leite 5%. Repetidas as lavagens, foram incubadas com 100 µL de sobrenadante de cultura de células. Após 1h a 37°C foram feitas novas lavagens e adicionados 100 µL do conjugado de anti-IgG de camundongo marcado com peroxidase na diluição 1:2000 em leite desnatado (Glória-Brasil) 1%. Após a incubação de mais uma hora a 37°C, novas lavagens foram feitas, e a reação foi revelada com o substrato preparado com 10µL de água oxigenada e 9 mL de uma solução de tampão (citrato-fosfato) contendo cromógeno (TMB). A leitura foi feita após 15 minutos a 450 nm. A determinação do índice de avidéz dos anticorpos produzidos foi realizada basicamente com o mesmo procedimento utilizado para técnica de ELISA, sendo que os monoclonais foram incubados na ausência e na presença de tiocianato de potássio (KSCN) 1.5M em PBS (Sigma). O índice de avidéz foi expresso como a razão entre as médias das absorbâncias na presença de KSCN e na ausência de KSCN (com PBS). A especificidade dos AcMs utilizados em nossos estudos foi avaliada por *immunoblot*. O Protocolo utilizado para a sensibilização partículas de Látex está de acordo com as instruções do fabricante (Polyscience USA)<sup>28</sup>.

No amplo quadro da investigação científica na área da saúde observam-se inúmeras aplicações para os AcMos, pois estes anticorpos possuem especificidade única, como também observado em estudos realizados em nosso laboratório há mais de dez anos em diferentes áreas do conhecimento. Em nosso laboratório estes monoclonais são utilizados na sorotipagem de *Neisseria meningitidis*, caracterização de novos antígenos importantes em novas preparações vacinais para este microrganismo, também como em estudos de Imunologia básica e Aplicada.

## Resultados

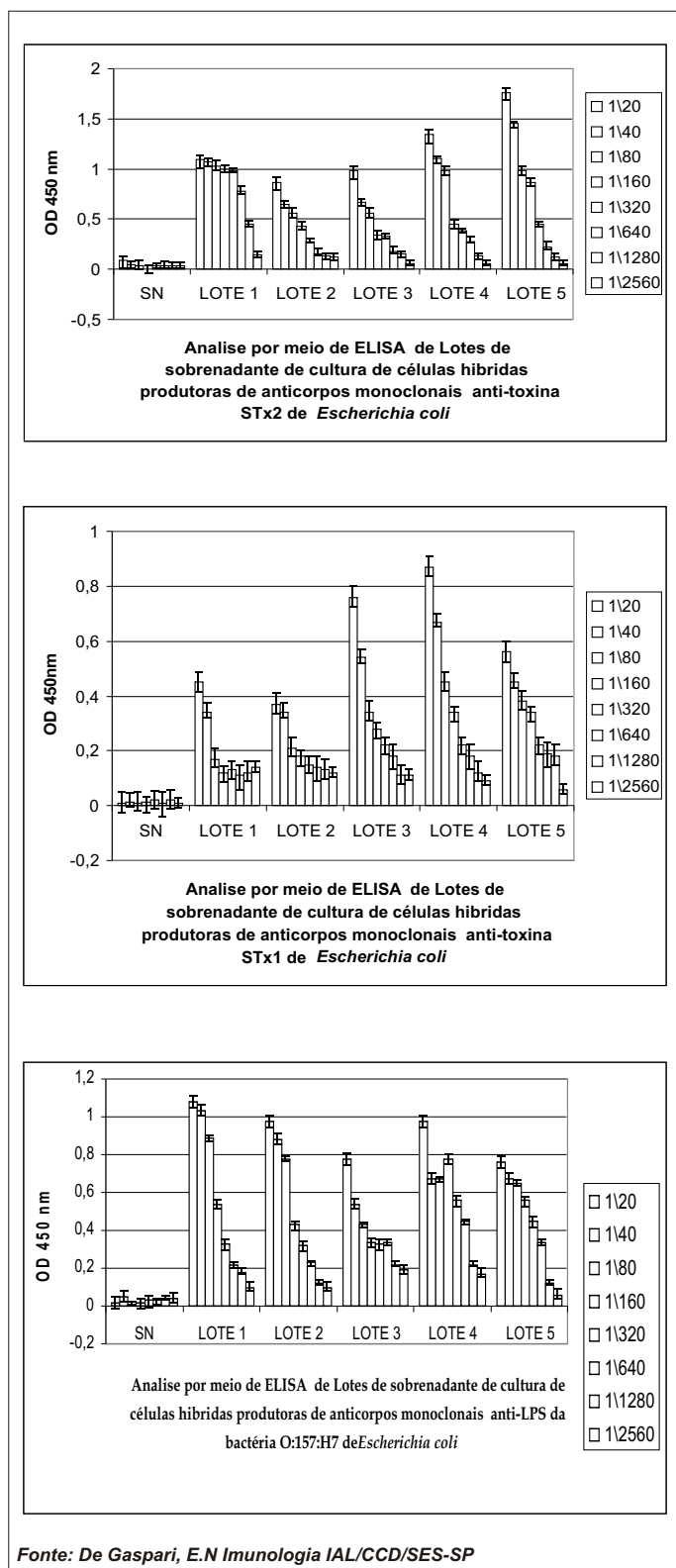


Figura 4. A análise de sobrenadante de cultura de células híbridas dos lotes (1 a 5) de anticorpos monoclonais do isótipo IgG selecionados por meio de ELISA utilizando células íntegras de *E. coli* O157:H7 e as toxinas STx1, STx2. Os resultados mostram a média de três ensaios independentes. O sobrenadante de cultura de células foi diluído de 1/20 a 1/2560.

## Discussão

O *V.cholerae* O1 e O139 são normalmente detectados, por dois métodos, em amostras clínicas, alimentos e água. Em amostras onde se espera encontrar uma concentração alta do *V.cholerae*, como em fezes diarreicas aquosas, estas poderão ser semeadas diretamente em placas contendo, por exemplo, o agar TCBS (tiosulfato- citrato- sais biliares- sacarose). Se a concentração for baixa ou desconhecida, a amostra é normalmente inoculada em água peptonada alcalina, para enriquecimento, antes de ser semeada em meio seletivo (TCBS).

Seguindo os processos de cultivo, a identificação envolve normalmente uma série de testes bioquímicos e sorológicos, que podem levar 3 a 5 dias para a obtenção de um resultado confirmatório. A sorologia pode ser dificultada quando são isoladas cepas rugosas que são auto-aglutinantes. O anti-soro para identificar o *V.cholerae* O139 era difícil de se obter; sendo que até Junho de 1993, nos Estados Unidos da América, menos de 1 mL deste anti-soro era a quantidade disponível para pesquisa em saúde pública.

O uso de anticorpo monoclonal dirigido contra o epitopo específico do *V.cholerae* O1 e O139 pode produzir um teste muito mais rápido para o diagnóstico da cólera. O anticorpo monoclonal pode ser padronizado para ELISA para a identificação de colônias, eliminando os testes bioquímicos. Poderá também ser conjugado ao isotiocianato de fluoresceína para um ensaio rápido de imunofluorescência. O método mais eficiente seria a aglutinação de latex (sensibilizado com anticorpos monoclonais), que poderia ser utilizada diretamente para detectar o *V.cholerae* nas fezes, nas culturas em meio líquido e nas colônias isoladas<sup>28</sup>.

As toxinas Stx1 e STx2 podem ser detectadas por uma série de testes, dependendo da capacidade de cada laboratório. O teste mais avançado envolve PCR ou hibridização de colônias, cuja aplicabilidade nos laboratórios é dificultada pela necessidade de equipamentos, reagentes e custos para manutenção.

A produção das toxinas Stx1 e Stx2 pode ser verificada em ensaios com culturas de células. As toxinas Stx1 e Stx2 são detectadas pela mudança morfológica na linhagem celular, usualmente de uma forma fibroblástica para forma circular, ou o oposto, dependendo da linhagem celular. Algumas vezes, a interpretação é dificultada se a cultura bacteriana contém citolisinas que destroem a linhagem celular. Este é especialmente o problema se o nível da citotoxina é mais alta que o nível da toxina CT. Outra dificuldade que dever ser mencio-



nada refere-se ao alto custo devido à necessidade de equipamentos tais como capelas de fluxo laminar, microscópio e meios de cultura para culturas celulares.

Por essas razões, os sistemas de detecção baseados em anticorpos oferecem uma abordagem mais simples e de baixo custo para a detecção da toxina CT. Atualmente encontramos disponíveis, no comércio, kits para ensaios de inibição competitiva e para aglutinação de latex para detecção da toxina CT; entretanto, o alto custo torna-os praticamente inacessíveis para a maioria dos laboratórios<sup>29</sup>.

## Em nossos estudos utilizamos

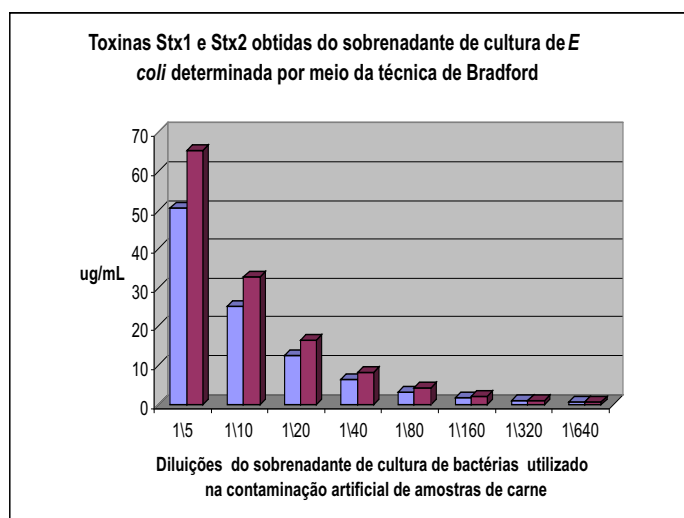
### Amostras

As amostras de carne moída crua (200 g) e alface (um pé) que foram adquiridas em estabelecimentos comerciais do Município de São Paulo. As amostras foram contaminadas artificialmente.

### Cepas

Foram utilizadas cepas de *E. coli* O157:H7 IAL 1848 e *V. cholerae* O1 não toxigênico IAL 1965 provenientes da Seção de Coleção de Culturas do IAL. As cepas, mantidas em gelose conservação, foram repicadas em caldo TSB (caldo tripticase de soja) e incubadas a 35°C por 18 h. Após este período foram realizadas diluições seriadas em água peptonada a 1% (APT), de 10<sup>1</sup> a 10<sup>6</sup> (para *V. cholerae*) e 10<sup>1</sup> a 10<sup>9</sup> (para *E. coli* O157:H7).

### Toxinas



Fonte: De Gaspari, E.N. *Imunologia IAL/CCD/SES-SP*

Figura 5. As toxinas Stx1 e Stx2 foram obtidas do sobrenadante de cultura de *Escherichia coli*. A concentração das toxinas presentes no sobrenadante da cultura de bactérias foi feita por meio da análise utilizando o método de Bradford.

## Preparo das amostras

### Alface

A amostra de alface foi dividida em três porções de 50 g e uma de 25 g. Cada porção de 50 g foi imersa em 100 mL de água potável declorada contaminada com alíquotas da cepa de *V. cholerae* O1 conforme descrito abaixo:

**Amostra A** 1 mL da cepa na concentração de 10<sup>1</sup>

**Amostra B** 1 mL da cepa na concentração de 10<sup>-3</sup>

**Amostra C** 1 mL da cepa na concentração de 10<sup>-6</sup>

As porções foram mantidas na água por 2 minutos sob agitação manual. De cada amostra foram colhidos 25 g em 225 mL de água peptonada alcalina, seguido de homogeneização por 2 minutos. Antes dos testes de aglutinação em látex foram semeados 0,1 mL de cada frasco em ágar TCBS (Tiosulfato citrato de sais biliares) para enumeração da bactéria. As amostras foram incubadas a 35°C por 18 h para enriquecimento.

### Carne

A amostra de carne foi alíquotada em três porções de 50 g e uma de 25 g. Cada porção de 50 g foi contaminada com alíquotas da cepa de *E. coli* O157:H7 e homogenizadas manualmente por 2 minutos como descrito a seguir:

**Amostra A1** 2,5 mL da cepa na concentração de 10<sup>-5</sup>

**Amostra B1** 2,5 mL da cepa na concentração de 10<sup>-7</sup>

**Amostra C1** 2,5 mL da cepa na concentração de 10<sup>-9</sup>

De cada amostra foram colhidos 25 g em 225 mL de APT, seguido de homogeneização por 2 minutos. Antes dos testes de aglutinação em látex, foram semeados 0,1 mL de cada frasco em ágar MacConkey Sorbitol (MCS) para contagem. As amostras foram incubadas a 35°C por 18 h para enriquecimento.

As amostras foram contaminadas artificialmente com as toxinas Stx1 ou Stx2 diluídas a 1/10 (Figura 5).

As porções de 25g de cada uma das amostras (sem contaminação), alface e carne, foram analisadas microbiologicamente para verificar a presença dos patógenos estudados e de outras bactérias.



Fonte: De Gaspari, E.N. *Imunologia IAL/CCD/SES-SP*

Figura 6. Procedimento técnico utilizado para a contaminação artificial de amostras de carne e alface com as bactérias *E.coli* O157:H7, *V.colerae* e as toxinas Stx1 e STx2 para a padronização de ensaios imunológicos.

Rowlands, REG. & Ristori Ruth C.A, 2006

A Figura 6 apresenta amostras de alface com as diferentes concentrações da bactéria *V.cholerae*.

### Aglutinação utilizando partículas de látex sensibilizadas com anticorpos monoclonais

A técnica foi realizada imediatamente (sem etapa de enriquecimento) e após o enriquecimento como descrito anteriormente<sup>28,29</sup>.

### Análise microbiológica das amostras não contaminadas

#### Alface

Coliformes totais:  $4,6 \times 10^2$  NMP/g

Coliformes termotolerantes:  $< 3,0$  NMP/g

**Presença** de *Alcaligenes* spp., *Citrobacter* spp. e *Enterobacter* spp.

**Ausência** de *Salmonella* spp., *Pseudomonas aeruginosa* e *V.cholerae*

#### Carne

Coliformes totais:  $4,6 \times 10^2$  NMP/g

Coliformes termotolerantes:  $< 3,0$  NMP/g

**Presença** de *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus* spp., *Citrobacter* spp., *Klebsiella* spp. e *Alcaligenes* spp.

**Ausência** de *Salmonella* spp., *Aeromonas* spp. e *E. coli* O157:H7

### Contagem após contaminação (sem enriquecimento)

#### Alface (contagem de *V. cholerae*)

**A:**  $< 10^2$  UFC/g

**B:**  $< 10^2$  UFC/g

**C:**  $< 10^2$  UFC/g

#### Carne (contagem de *E. coli* O157:H7)

**A1:**  $6,3 \times 10^3$  UFC/g

**B1:**  $9,1 \times 10^3$  UFC/g

**C1:**  $1,1 \times 10^4$  UFC/g

### Contagem após contaminação (com enriquecimento)

#### Alface (contagem de *V. cholerae*)

**A:**  $> 2,5 \times 10^4$  UFC/g

**B:**  $> 2,5 \times 10^4$  UFC/g

**C:**  $> 2,5 \times 10^4$  UFC/g

### Carne (contagem de *E. coli* O157:H7)

**A1:**  $> 2,5 \times 10^4$  UFC/g

**B1:**  $> 2,5 \times 10^4$  UFC/g

**C1:**  $> 2,5 \times 10^4$  UFC/g

### Conclusão

Utilizamos em nossos estudos as técnicas como previamente demonstrado em nossos trabalhos Dot-ELISA, Aglutinação com anticorpos monoclonais adsorvidos em partículas de látex e ELISA de captura utilizando anticorpos monoclonais<sup>28,29</sup>.

Este projeto propõe a produção de anticorpos monoclonais de baixo custo para a detecção de enteropatógenos que poderão ser utilizados nos testes de ELISA assim como em ensaios de inibição competitiva, e posteriormente serem repassados à rede de laboratórios de saúde pública. Estudos estão em andamento em nosso laboratório utilizando um número maior de amostras para a validação dos métodos<sup>28,29</sup>.

A importância da vigilância epidemiológica para o monitoramento de doenças de notificação compulsória tem sido enfatizada em várias situações de desastre. Uma vigilância efetiva, simples e representativa no país pode fornecer sinais prévios para impedir surtos epidêmicos. Essa vigilância envolve análises de material clínico, alimentos e amostras ambientais, as quais devem ser realizadas através de técnicas simples e de resultado rápido. Entre essas técnicas os ensaios imunológicos têm sido os mais amplamente empregados, sendo premente o desenvolvimento e produção de anticorpos monoclonais, sejam eles para a detecção desses microrganismos ou de seus fatores de virulência.

Este projeto é financiado pela Fapesp Projeto Temático (Processo 00/05834-7) e Instituto Adolfo Lutz, envolvendo vários laboratórios, sob a Coordenação da doutora Elizabeth N. De Gaspari, PhD em Imunologia pelo Departamento de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo, (Pesquisador Científico VI), da Seção de Imunologia do IAL. Email: egaspari@ial.sp.gov.br

### Referências Bibliográficas

1. Riley LW, Remis RS, Helgerson SD, McGee HB, Wells JG, Davis BR, Heberts RJ, Olcott HM, Johnson LM, Hargrett NT, Blake PA, Cohen ML. Hemorrhagic colitis associated with a rare *Escherichia coli* serotype. *N Engl J Med* 308: 681-685, 1983.

2. Rangel JM, Sparling PH, Crowe C, Griffin PM, Swerdlow DL. Epidemiology of *Escherichia coli* O157:H7 outbreaks, United States, 1982-2002. **Emerg Infect Dis** 11: 603-609, 2005.
3. Tavares, MT, Serafini, AB. Carnes de Hambúrgueres prontas para consumo: Aspectos legais e riscos bacterianos. **Rev. Patthol. Trop** 35:1-21, 2006.
4. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Foodborne outbreak response and surveillance unit. U.S. Foodborne disease outbreaks. June, 2004. Disponível em: [http://www.cdc.gov/foodborneoutbreaks/us\\_outb.htm](http://www.cdc.gov/foodborneoutbreaks/us_outb.htm). Acesso em: 6 de janeiro de 2007.
5. Silveira NFA, Silva N, Contreras C, Miyagusku L, Baccin MDF, Koono E, Beraquet NJ. Occurrence of *Escherichia coli*:H7 in hamburgers produced in Brazil. **J Food Prot** 62: 1333-1335, 1999.
6. Silva N, Silveira NFA, Contreras C, Beraquet NJ. Ocorrência de *Escherichia coli* O157:H7 em produtos cárneos e sensibilidade dos métodos de detecção. **Ciênc Tecnol Aliment** 21: 223-227, 2001.
7. Brasil. Ministério da Saúde. Resolução RDC nº 12 de 02 de janeiro de 2001 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária ANVISA. Regulamento técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos. **Diário Oficial da União. Brasília**, 10 jan. 2001.
8. World Health Organization (WHO). **WHO Media Centre**. Fact Sheet No 237. *Food safety and foodborne illness*. January 2002. Disponível em: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs237/en/>. Acesso em: 06 de janeiro de 2007.
9. Buzby JC. Older adults at risk of complications from microbial foodborne illness. **Food Review** 25: 30-35, 2002.
10. Unnevehr L, Roberts T, Custer C. New pathogen testing technologies and the market for food safety information. **AgBioForum** 7: 212-218, 2004.
11. Jay JM. *Microbiologia de Alimentos*. 6. ed., Porto Alegre: **Artmed**, 2005.
12. Forsythe SJ. A flora microbiana dos alimentos. *Microbiologia da Segurança Alimentar*. 1. ed., Porto Alegre: **Artmed**, 2002.
13. Taeye A. The Cleveland Clinic. Disease Management Project. Medicine Index. Infectious Diseases. *Food-borne disease*. February 2004. Disponível em: <http://www.clevelandclinicmeded.com/diseasemanagement/infectiousdisease/foodborne/foodborne.htm>. Acesso em: 6 janeiro 2007.
14. Sobel J, Mixter CG, Kolhe P, Gupta A, Guarner J, Zaki S, Hoffman NA, Songer JG, Fremont-Smith M, Fischer M, Killgore G, Britz PH, MacDonald C. Necrotizing enterocolitis associated with *Clostridium perfringens* type A in previously healthy north american adults. **J Am Coll Surg** 201: 48-56, 2005.
15. Adak GK, Meakins SM, Yip H, Lopman BA, O'Brien SJ. Disease risks from foods, England and Wales, 1996-2000. **Emerg Infect Dis** 11: 365-372, 2005.
16. Picchi V. *Higienização em estabelecimentos de abate de bovinos*. **Revista Nacional da Carne**, v. 332, Outubro de 2004. Disponível em: [http://www.dipemar.com.br/carne/332/materia\\_especial\\_carne.htm](http://www.dipemar.com.br/carne/332/materia_especial_carne.htm). Acesso em: 21 janeiro de 2007.
17. Gill CO, Bryant J, Badoni M. Effects of hot water pasteurizing treatments on the microbiological condition of manufacturing beef used for hamburger patty manufacture. **Int J Food Microbiol** 63: 243-256, 2001.
18. Silva CRB, Barros JJC, Miranda FA, Rossi DA. Efeito do congelamento e resfriamento na preservação de *Escherichia coli* (ATCC25922) e *Staphylococcus aureus* (ATCC9801), inoculadas em carne moída bovina estocada para investigação de surtos de toxinfecção alimentar. **Rev Hig Alimentar** 19: 95-98, 2005.
19. Fattori FFA, Souza LC, Braoios A, Ramos APD, Tashima NT, Neves TRM, Barbosa RL. Aspectos sanitários em "trailers" de lanche no município de Presidente Prudente, SP. **Rev Hig Alimentar** 19: 54-62, 2005.
20. Macdonald C, Drew J, Carlson R, Dzogan S, Tataryn S, Macdonald A, Ali A, Amhed R, Easy R, Clark C, Rodgers F. Outbreak of *Escherichia coli* O157:H7 leading to the recall of retail ground beef **Winnipeg, Manitoba**, May 1999. **CCDR** 26-13, 2000.
21. Kassenborg HD, Hedberg CW, Hoekstra M, Evans MC, Chin AE, Marcus R, Vugia DJ, Smith K, Ahuja SD, Slutsker L, Griffin PM. Farms visits and undercooked hamburgers as major risk factors for sporadic *Escherichia coli* O157:H7 infection: data from a case-control study in 5 FoodNet sites. **Clin Infect Dis** 38:S271-278, 2004.
22. Wen Q, McClane BA. Detection of enterotoxigenic *Clostridium perfringens* type A isolates

- in american retail foods. *Appl Environ Microbiol* 70: 2685-2691, 2004.
23. Câmara SAV. *Surtos de toxinfecções alimentares no Estado de Mato Grosso do Sul, 1998-2001*. Campo Grande [Monografia de Especialização em Saúde Pública Escola de Saúde Pública Dr. Jorge David Nasser/MS, 2002.
24. Reichert JM. Trends in development and approval times for new therapeutics in the United States. *Nat Rev Drug Discov*. 2:695-702, 2003.
25. Reichert JM. Therapeutic monoclonal antibodies: trends in development and approval in the US. *Curr Opin Mol Ther*. 4:110-8, 2002.
26. Reichert JM. Monoclonal antibodies in the clinic. *Nat Biotechnol*. 19:819-22, 2001.
27. Humphreys DP, Glover DJ. Therapeutic antibody production technologies: molecules, applications, expression and purification. - *Curr Opin Drug Discov Devel*. 4:172-85, 2001.
28. Ristori, C. A, Rowlands, R. E G, Jakabi, Miyoko, Gelli D, Scolla, M CG, De Gaspari, E.N. Detecção de *Vibrio cholerae* 01 em ostras utilizando anticorpo monoclonal em ensaio de aglutinação. *Rev.Inst.Adolfo.Lutz*, 65:127-132,2006.
29. De Gaspari E.N, Ristori,CA, Rowlands, R E G, Irino,K, Torres, D,D, Tamplin,M. Aplicação de Anticorpos Monoclonais na Detecção de Enteropatógenos em Amostras de Origem Clínica, Alimentar e Ambiental para a Produção de Kits para Imunodiagnóstico. *Bepa*, ed. novembro, 2006, Volume 3, Número 35. Disponível em: <http://www.cve.saude.sp.gov.br/agencia/bepa5>.

**Correspondência/Correspondence to:**

Elizabeth N. De Gaspari  
Av. Dr. Arnaldo, 355, 11º andar – CEP: 01246-902 – São Paulo (SP)  
Tel.: (11) 3068-2898  
E-mail: [degaspari.elizabeth@gmail.com](mailto:degaspari.elizabeth@gmail.com)

## A Violência Contra Crianças e Adolescentes Violence Against Children And Adolescents

Vilma Pinheiro Gawryszewsk<sup>1</sup>, Tânia de Moura Guerschman<sup>1</sup>, Miriam E.S X.Hisano, Antonio Carlos Vanzeli<sup>1</sup>, Maria cristina Rolim Baggio<sup>1</sup>, Ruth Conceição Moreira dos Santos<sup>1</sup>, Maria Sanchez Bertolini<sup>1</sup>, Regina Helena Brito de Souza<sup>2</sup>, Silvia Helena Necchi<sup>3</sup>, Rita de Cássia Vilella Mendonça<sup>3</sup>, Fátima L.Ribelato Longhini<sup>1</sup>, Maria Aparecida Miguelon<sup>1</sup>, Maria Regina Lopes X.Martins<sup>1</sup>, Maria Denize Vierira Seron<sup>4</sup>, Naoko Y. Jardim da Silveira<sup>5</sup>.

<sup>1</sup>Secretaria Estadual de Saúde de São Paulo, <sup>2</sup>Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da USP, <sup>3</sup>Secretaria Municipal de Saúde e Higiene de S. José do Rio Preto, <sup>4</sup>Secretaria Municipal de Saúde de Jundiaí, <sup>5</sup>Secretaria Municipal de Saúde de Campinas

### Resumo

Os primeiros resultados do Sistema de Vigilância de Violência Doméstica, Sexual e Outras Violências Interpessoais implantado no Estado de São Paulo superaram as expectativas, uma vez que as notificações recebidas foram provenientes de 12 Regionais de Saúde, 64 municípios e 135 serviços sentinela. O objetivo do presente trabalho é descrever os atos de violência contra a criança e o adolescente notificados nesse Sistema. Foram analisadas 776 fichas de notificação cujas vítimas tinham idades menores de 18 anos. As variáveis analisadas foram: sexo, idade, tipo de violência, local de ocorrência e relação vítima/agressor. O sexo feminino foi predominante, responsável por 473 casos (61,0%) e o sexo masculino foram 298 casos (38,4%). A razão feminino/masculino encontrada foi 1,6. A idade média foi de 8,4 anos. Os resultados acerca do tipo de violência mostraram que a negligência e o abuso/violência sexual foram predominantes, sendo responsáveis por 264 (34,0%) e 261 casos (33,6%), respectivamente. Como violência física foram classificados 146 casos (24,9%). O local de ocorrência com maior número de casos foi a própria residência das vítimas (413; 53,2% do total), seguindo-se a via pública com 87 casos (11,5%). Estes resultados mostram características da violência contra a criança e a adolescente que podem subsidiar políticas públicas para a sua prevenção e suporte às vítimas.

**Palavras chave:** violência, abuso sexual, negligência; crianças, adolescentes.

### Abstract

The first results obtained by the Surveillance System for Domestic, Sexual and other interpersonal violence implanted in the State of São Paulo surpassed expectations, since reports received were issued by 12 Regional Health Branches, 64 cities and 135 sentinel services. The objective of this paper is to describe violence against children and adolescents reported in this System. We analyzed 776 report sheets, in which the victims were under 18 year olds. Variables analyzed were sex, age, kind of violence, place of occurrence and the relationship between victim/aggressor. Female sex was predominant,

accounting for 473 cases (61,0%) and male sex registered 298 cases (38,4%). Ratio females/males encountered was 1,6. Average age was 8,4 years. Results regarding the kind of violence reported showed that negligence and sexual abuse/violence were predominant, accounting for 264 (34,0%) and 261 cases (33,6%) respectively. Another 146 cases were classified as physical violence (24,9%). Place of occurrence registering the higher number of cases was the home of the victims (413; 53,2% of the total), followed by the streets with 87 cases (11,5%). These results disclose the characteristics in which violence against children and adolescents occurs and may offer significant contribution to public policies designed to prevent such cases and offer support to the victims.

**Key words:** violence, sexual abuse, negligence, children, adolescents.

## 1. Introdução

*“A violência invade a vida de muitas pessoas em todo o mundo, e toca a todos nós de alguma forma. Para muitas pessoas, permanecer longe da violência é somente uma questão de trancar portas e janelas e evitar os lugares perigosos. Para outras, escapar da violência não é possível. A ameaça de violência está atrás daquelas portas bem escondida da visão pública.”*(Gro Harlem Brundtland, Diretora Geral, Organização Mundial de Saúde).

Os sistemas de informação oficiais existentes em nosso país permitem conhecer e monitorar as mortes e as internações hospitalares decorrentes das causas externas. A análise desses dados ressalta o grande impacto que essas causas determinam sobre a vida e a morte dos brasileiros. Porém, uma parte considerável da violência que permeia a sociedade brasileira permanece silenciada no âmbito da esfera privada, não havendo disponibilidade de dados nacionais acerca deste problema. Particularmente a violência contra crianças está arraigada na cultura familiar brasileira, vitimizando milhares de crianças todos os anos<sup>1</sup>. Disciplinar crianças e adolescentes através do castigo corporal é uma prática existente e "legitimada" no Brasil desde o seu descobrimento<sup>2</sup>. E, segundo pesquisadores, esta é uma história que ainda precisa ser escrita, uma vez que são escassos os trabalhos na literatura científica que se referem ao tema Infância e Violência Doméstica<sup>2</sup>.

Nos últimos anos, vem sendo observado um interesse crescente em dimensionar estas violências no Brasil, uma vez que o estabelecimento de políticas públicas para a prevenção e controle desses agravos deve ter por base o quadro o mais completo possível do problema: **quantas são as vítimas? Quais as características desses agravos?** Neste processo, a Lei Federal 10.778/03, de 24 de novembro de 2003,

editada pelo Governo Federal estabeleceu a notificação compulsória no Brasil dos casos de violência contra a mulher atendidos em serviços de saúde públicos e privados. Essa notificação deveria ser iniciada em serviços de referência sentinela. Depois, a Portaria 2.406 do Ministério da Saúde, instituiu a Ficha de Notificação/Investigação Compulsória de Violência Doméstica, Sexual e Outras Violências Interpessoais. Em agosto de 2006, o Ministério da Saúde (MS) propõe a implantação, em vários estados e municípios brasileiros, a Rede de Serviços Sentinela de Vigilância de Violências e Acidentes Rede **VIVA**.

Cabe ressaltar que nos casos de maus-tratos contra crianças e adolescentes menores de 18 anos de idade, obrigatoriamente, deve ser comunicada ao Conselho Tutelar ou à Vara da Infância e da Juventude, conforme art. 13 do Estatuto da Criança e do Adolescente (ECA), Lei n.º 8.069, de 13 de julho de 1990. Essa medida é de extremo valor para oferecer a necessária e apropriada proteção para crianças e adolescentes. O ECA considera como criança a pessoa menor de 12 anos e adolescente aquela com idade maior que 12 e menor que 18 anos. Particularmente no Estado de São Paulo, a Lei Estadual 10.498 de 05/01/2001, obrigou a notificação dos maus tratos contra a criança e adolescente e a Lei 12.256, de 09 de fevereiro de 2006, cria o Programa de Prevenção à violência doméstica contra crianças e adolescentes, bem como o seu atendimento quando vítimas dessa violência.

O Estado de São Paulo iniciou a implantação dessas leis, desenvolvendo um sistema para monitorar rotineiramente os casos de violência no estado, mobilizando as Regionais de Saúde e municípios. Esse processo foi conduzido pelo Grupo Técnico de

Prevenção dos Acidentes e Violências, do Centro de Vigilância Epidemiológica, Secretaria de Estado da Saúde. Os primeiros resultados superaram as expectativas, uma vez as notificações recebidas foram provenientes de 12 Regionais de Saúde, sessenta e quatro municípios e cento e trinta e três serviços sentinela em todo estado. Este artigo tem o propósito de apresentar uma análise dos casos de violência contra a criança e adolescente notificados pelo sistema de vigilância sentinela para a violência doméstica, sexual e interpessoal que foi estabelecido no Estado de São Paulo.

## Métodos

Trata-se de um estudo descritivo de base populacional, realizado a partir das 1.433 notificações registradas no Sistema de Vigilância de Violências do Estado de São Paulo, onde foram selecionados somente os registros com idade menor de 18 anos. A definição de caso adotada foi a proposta pela Organização Mundial da Saúde (OMS)<sup>1</sup>, também adotada pelo Ministério da Saúde: o uso intencional da força física ou poder, ameaçado ou real, contra si mesmo, outra pessoa ou sobre um grupo ou comunidade que resulta ou tem alta probabilidade de resultar em lesão, morte, dano psicológico, mal desenvolvimento ou privação.

Os dados foram analisados segundo sexo e, idade, tipo de violência (física, sexual, negligência/abandono e psicológica), local de ocorrência e relação vítima/agressor. As definições acerca dos tipos de violência utilizados nesse estudo foram os que se encontram no manual de *Maus-tratos contra a Criança e o Adolescente*, editado pelo Ministério da Saúde<sup>4</sup>:

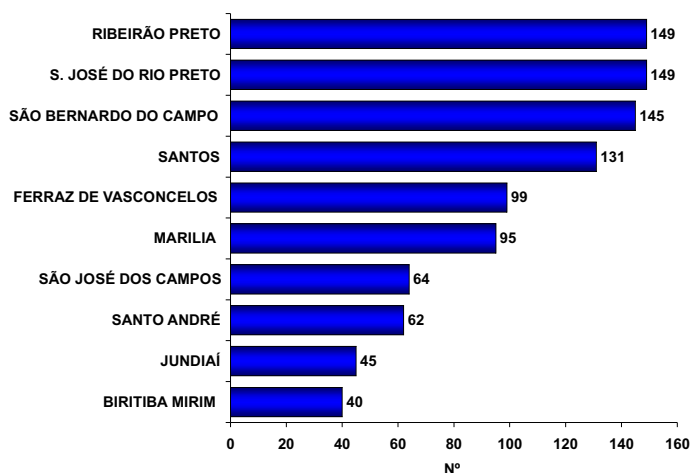
- **Violência física** – são atos violentos com uso da força física de forma intencional, não acidental, praticada por pais, responsáveis, familiares ou pessoas próximas da criança ou do adolescente, com o objetivo de ferir, lesar ou destruir a vítima, deixando ou não marcas evidentes em seu corpo.
- **Abuso sexual** – consiste em todo ato ou jogo sexual, relação heterossexual ou homossexual cujo agressor está em estágio de desenvolvimento psicosexual mais adiantado que a criança ou o adolescente. Apresenta-se sobre a forma de práticas eróticas e sexuais impostas à criança ou ao adolescente pela violência física, ameaças ou indução de sua vontade.
- **Negligência/abandono** – omissão dos pais ou de outros responsáveis (inclusive institucionais) pela criança e pelo adolescente, quando deixam de prover as necessidades básicas para seu desenvolvimento físico, emocional e social. O abandono

é considerado uma forma extrema de negligência.

- **Abuso psicológico** – constitui toda forma de rejeição, depreciação, discriminação, desrespeito, cobranças exageradas, punições humilhantes e utilização da criança ou do adolescente para atender às necessidades psíquicas dos adultos.

## Resultados

A Figura 1 mostra o ranking dos dez municípios que realizaram o maior número de notificações no período estudado. Ribeirão Preto, S. José do Rio Preto, São Bernardo do Campo, Santos, Ferraz de Vasconcelos, Marília, S. José dos Campos, Santo André, Jundiaí e Biritiba Mirim lideraram as notificações.



Fonte: *Fichas de Notificação de Violência Doméstica, Sexual e Outras Violências Interpessoais. GTPAV/CVE/CCD.*

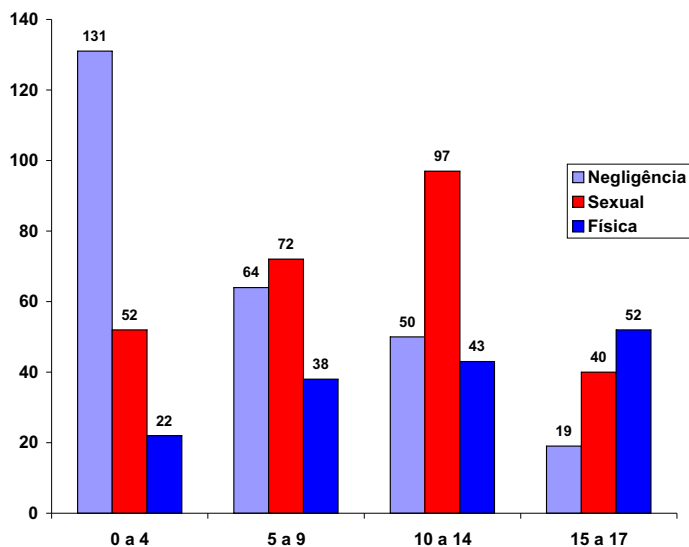
Figura 1. Ranking dos 10 municípios com maior número de notificações de violências. Estado de São Paulo, janeiro a agosto 2006.

Do total de 1.433 casos notificados, 54,2% eram violência contra crianças e adolescentes com idades menores de 18 anos. Por essa razão e considerando a literatura científica<sup>2,3,5,6</sup> que aponta que este tipo de evento pode determinar graves seqüelas na vida dessas crianças, no curto e longo prazo, optou-se por apresentar uma análise específica para esse grupo.

## A violência contra a criança e o adolescente

Entre o total de 776 vítimas de violência, foi observado predomínio do sexo feminino, uma vez que as meninas foram 473 casos (61,0%) e os meninos 298 casos (38,4%). A razão feminino/masculino encontrada foi 1,6. A idade média foi 8,4 anos ( $\pm 5,3$  anos). Os resultados acerca do tipo de violência mostraram que a negligência e o abuso/violência sexual foram predominantes, sendo responsáveis por 264 (34,0%) e 261 casos (33,6%), respectivamente. Como violência física

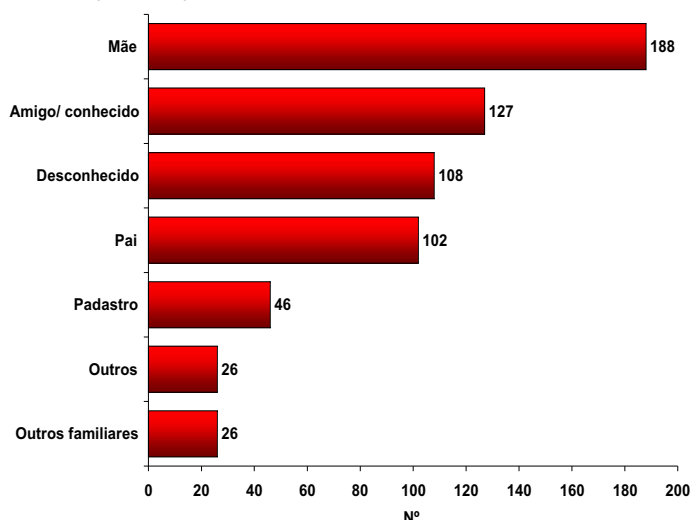
foram classificados 146 casos (24,9%). A análise do tipo de violência Segundo faixa etária é mostrada na Figura 2, onde é possível observar que a negligência predomina na faixa de 0 a 4 anos, enquanto a violência sexual aumenta nas faixas de 5 a 14 anos.



Fonte: Fichas de Notificação de Violência Doméstica, Sexual e Outras Violências Interpessoais. GTPAV/CVE/CCD.

Figura 2. Violência contra crianças e adolescentes segundo tipo de violência e faixa etária. Estado de São Paulo, janeiro a agosto 2006.

A análise combinada da relação vítima/agressor com o tipo de violência mostrou que as mães foram as mais prováveis perpetradoras de negligência, enquanto que a violência sexual foi mais praticada por conhecidos, seguida por desconhecidos, pais e padrastos. O local de ocorrência com maior número de casos foi a própria residência das vítimas (413; 53,2% do total), seguindo-se a via pública com 87 casos (11,5%).



Fonte: Fichas de Notificação de Violência Doméstica, Sexual e Outras Violências Interpessoais. GTPAV/CVE/CCD.

Figura 3. Violência contra crianças e adolescentes segundo relação vítima/agressor. Estado de São Paulo, janeiro a agosto 2006.

## Discussão

Estes resultados mostram o quanto a violência encontra-se arraigada na família brasileira, uma vez que os familiares são responsáveis por alta frequência de atos violentos e a casa é o local com maior ocorrência de casos. A violência sexual quando praticada por parceiros íntimos, familiares ou pessoas próximas, torna as vítimas ainda mais vulneráveis, pelo envolvimento emocional, dependência econômica, facilidade de acesso do agressor em relação à vítima ou o medo. Esforços para evitar o abuso sexual devem ter alta prioridade no planejamento de ações de saúde.

Em relação à avaliação do sistema implantado, esses resultados mostraram que na fase inicial o sistema se mostrou adequado para captar casos de violência contra a criança e a adolescente, mas apresenta alta sensibilidade às características do tipo de serviço de notifica os casos. Entre as limitações está a **impossibilidade de generalização dos dados** e, portanto, de construção de taxas, uma vez que por se tratar de um novo sistema de vigilância, os dados coletados podem estar sujeitos à subestimação ou variações nas características da vítima ou do tipo de violência. Apesar disso e considerando a inexistência de estimativas nacionais e para o Estado de São Paulo sobre o problema, esse sistema deve se constituir em fonte de dados essencial para a construção de políticas públicas amplas.

Também é importante assinalar que os ganhos desse processo foram além do registro e análise de dados, uma vez que a implementação desse sistema serviu para identificar e estabelecer parcerias entre profissionais de saúde e/ou de outras áreas num objetivo comum. Ainda é necessário melhorar a qualidade da informação coletada e envolver outros municípios e serviços que já estão estruturados e vêm realizando atendimento nessa área.

A violência coloca novos problemas para o setor saúde, pois é preciso que existam mecanismos bem definidos não somente para a detecção dos casos, mas também para o acolhimento e encaminhamento das pessoas atendidas. As equipes dos serviços de saúde devem ser multiprofissionais, facilitando, assim, o acesso às redes de apoio e proteção. A abordagem deve dar ênfase à capacitação das famílias, dos grupos comunitários para lidarem com o problema da violência não apenas como episódio isolado, mas como situação que se prolonga, por suas características culturais, sociais e familiares.



Considera-se que esse sistema I é um marco que aponta a inclusão destes agravos na agenda da saúde, devendo servir como a base para os esforços de prevenção e formulação de políticas públicas. Esperamos que este artigo traga mais atenção para o problema, contribuindo para o aumento das notificações e melhor atenção às vítimas.

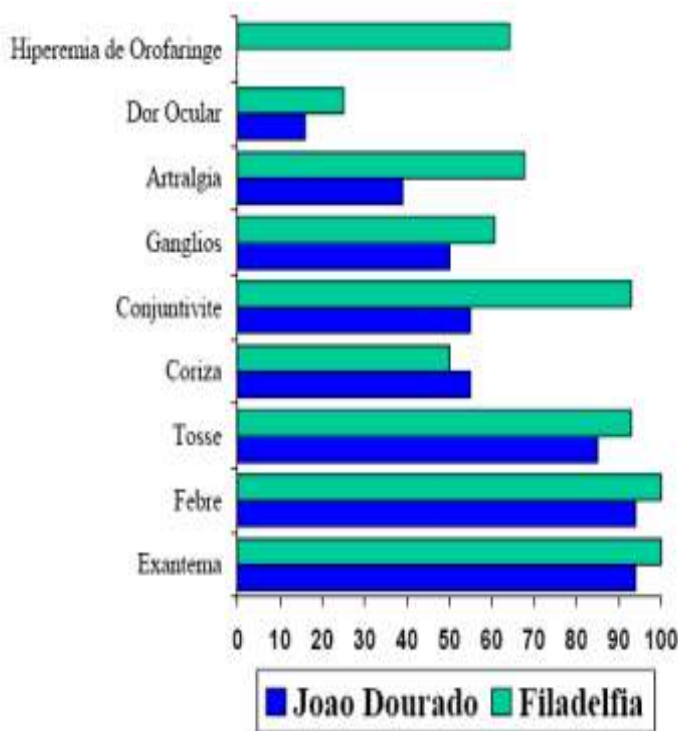
### Referências

1. Krug Eg et al., eds. World report on violence and health. Geneva, World Health Organization, 2002.
2. Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Prevenção e Tratamento dos Agravos Resultantes da Violência Sexual contra Mulheres e Adolescentes: norma técnica. 2ª ed. atual. e ampla. Brasília: Ministério da Saúde, 2005.
3. Picanço MRA. História da Violência Contra Criança - Abordagem Cultural e Conceitual do Tema. In: Enfrentando a violência na Rede de Saúde Pública do Distrito Federal/Laurez Ferreira Vilela (coordenadora). Brasília: Secretaria de Estado de Saúde do Distrito Federal, 2005. 115 p.
4. Ministério da Saúde. Notificação de Maus Tratos contra a Criança e Adolescentes Guia para Profissionais da Saúde. Série A: Normas e Manuais Técnicos, Brasília, 2001.
5. Deslandes SF, Assis SG, Santos NC. Violência envolvendo crianças no Brasil um plural estruturado e estruturante. In: **Impacto da violência na saúde dos brasileiros**. Brasília, 2005. Secretaria de Vigilância em Saúde. Ministério da Saúde.
6. Waters H, Hyder A, Rajkotia Y, Basu S, Rehwiakel JA, Butchart A. The economic dimensions of interpersonal violence. Department of Injuries and Violence Prevention, World Health Organization, Geneva, 2004.

### Correspondência/Correspondence to:

Divisão de Doenças Crônicas Não-Transmissíveis  
Av. Dr. Arnaldo, 351, 6º andar, sala 609 – Cerqueira César – São Paulo/SP  
CEP: 01246-901  
E-mail: dvcnt@cve.saude.sp.gov.br  
violencias@saude.sp.gov.br





Fonte: [http://portal.saude.gov.br/portal/arquivo/pdf/informe\\_sarampo\\_ba\\_150107.pdf](http://portal.saude.gov.br/portal/arquivo/pdf/informe_sarampo_ba_150107.pdf)

Figura 3. Distribuição percentual dos sinais e sintomas dos casos confirmados de sarampo, João Dourado e Filadélfia (n= 46), Bahia, 2006.

No Município de João Dourado, o primeiro e o último casos confirmados apresentaram exantema entre as semanas epidemiológicas 34 e 47 de 2006, no período de 23/8/06 a 25/11/06.

Acrescenta-se que seis (33%) dos casos necessitaram ser hospitalizados e 16 (89%) dos casos confirmados referiram ter contato com pessoas que tiveram as manifestações clínicas da doença. Trata-se de indivíduos de ambos os sexos (55% do sexo masculino), com mediana de idade de 11 anos (9 meses a 37 anos) e que residem em um mesmo bairro.

Caracterizou-se a ocorrência do surto com predomínio em menores de 15 anos, entre familiares e indivíduos que freqüentavam a mesma rua de um determinado bairro.

Segundo a SVS/MS, também, foi confirmado um caso de sarampo na cidade de Irecê, vizinha a João Dourado, em uma criança de 7 meses, para a qual não houve evidência de vínculo epidemiológico com os casos da cidade limítrofe.

No município de Filadélfia, os casos confirmados apresentaram exantema entre as semanas epidemiológicas 35 e 46 de 2006, no período de 02/09/06 a 25/11/06.

Nesta casuística, três (11%) casos foram hospitalizados e 23 (82%) tiveram contato com casos

suspeitos de sarampo, sendo que 79% eram do sexo masculino e a mediana de idade foi de 24 anos (um a 34 anos).

Não foi constatado vínculo entre os casos, mas o predomínio foi entre maiores de 15 anos do sexo masculino. Há suspeita que o contágio tenha sido durante um evento de "cavalgada", que ocorreu durante 4 dias do mês de setembro, em Filadélfia.

Entretanto, as investigações continuam em andamento e cerca de 20.000 pessoas já foram vacinadas em Filadélfia e Senhor do Bonfim.

Todos os casos descritos foram confirmados ou descartados com base na análise dos resultados da investigação epidemiológica e dos exames laboratoriais. Não foi possível estabelecer vínculo epidemiológico entre os surtos de João Dourado e Filadélfia, apesar da simultaneidade de suas ocorrências.

Conforme a SVS/MS, nos municípios de João Dourado e Filadélfia e nas cidades vizinhas foram realizadas, conjuntamente com as secretarias de estado da saúde e municipais, extensa busca de casos, revisão de prontuários médicos, bloqueio vacinal de todos os contatos, sensibilização de todos os serviços de saúde, exames sorológicos, isolamento viral, além de reavaliação das coberturas vacinais e ações de intensificação da vacinação de rotina.

Até o momento, não foi possível definir como o vírus foi introduzido na região, pois ambas as cidades estão situadas na região noroeste do Estado da Bahia, onde se configura um corredor comercial de exportação de produtos agropecuários, com intenso fluxo de caminhoneiros e de mercadorias para diversos estados brasileiros. Assim como, nessa rota existem cidades que têm minas de pedras preciosas e onde há, também, um fluxo expressivo de população migrante.

Outrossim, nenhum outro caso de sarampo foi confirmado no País e todos os estados permanecem em alerta.

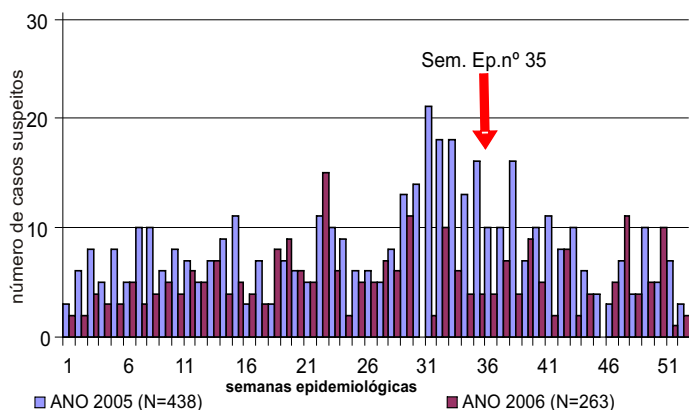
O sarampo é altamente transmissível, facilmente infecta por via respiratória pessoas suscetíveis, que nunca adquiriram a doença ou não foram adequadamente vacinadas.

A Figura 4 ilustra o número de casos suspeitos de sarampo notificados no Estado de São Paulo, por semana epidemiológica em 2005-2006, assinalado o período de alerta indicado pelo surto da Bahia (SE 35/06: 23/08-2/9/06).

Até o momento, nenhum caso de sarampo foi confirmado no Estado de São Paulo em 2006.

A vacina tríplice viral SCR (contra sarampo, caxumba e rubéola) é a medida de prevenção mais eficaz contra o sarampo. No calendário de vacinação

de rotina, a primeira dose deve ser administrada a toda criança de 1 ano de idade e uma segunda dose àquelas de 4 a 6 anos.



Fonte: Sinan/DDTR, até SE 52/06.

Figura 4. Distribuição do número de casos suspeitos de sarampo notificados por semana epidemiológica, Estado de São Paulo, 2005-2006.

Recomenda-se que os adultos nascidos depois de 1960, sem comprovação de nenhuma dose, recebam pelo menos uma dose da vacina tríplice viral (SCR). Esta vacina não é recomendada a gestantes. Os viajantes devem estar com suas vacinas em dia antes de viajar.

A definição de caso suspeito de sarampo é:  
 “Toda pessoa que apresente febre e exantema acompanhados de um ou mais dos seguintes sinais e sintomas: tosse e/ou coriza e/ou conjuntivite, independente da idade e situação vacinal.”

O sarampo é doença de notificação compulsória nacional, as ações relativas à vigilância epidemiológica, como também o protocolo laboratorial de coleta das amostras biológicas encontram-se descritas nos manuais de vigilância estadual e nacional e disponíveis em <http://www.cve.saude.sp.gov.br>

A Secretaria de Estado da Saúde do Estado de São Paulo, frente à situação epidemiológica atual, mantém as estratégias e recomendações já instituídas e divulgadas:

- informação e divulgação sobre a situação epidemiológica do sarampo no Brasil e no Estado de São Paulo aos viajantes e profissionais de vigilância e saúde;
- vacinação com a vacina tríplice viral SCR (sarampo, caxumba e rubéola) de **viajantes não vacinados e nascidos a partir de 1960** com destino à Bahia; para tanto as vacinas encontram-se disponíveis nas Unidades Básicas de Saúde e Terminais Rodoviários (Tietê e Barra Funda),

nesses estão dispostos *folders* e informes sonoros com recomendação da vacinação;

- vacinação dos funcionários dos terminais rodoviários (Tietê e Barra Funda), incluindo comerciários, taxistas, entregadores, motoristas das empresas de ônibus;
- vacinação dos caminhoneiros nos armazéns alfandegários do Estado de São Paulo.

#### Foram incrementadas as seguintes atividades

- Retorno do informe sonoro nos aeroportos do Estado de São Paulo.
- Extensão da vacinação com a vacina SCR a todos os terminais rodoviários do estado.
- Disponibilização da informação e recomendação de vacinação aos que viajam com destino às áreas de risco, assim como o alerta da doença aos viajantes que retornam ao estado, em locais alternativos de trânsito da população.
- Divulgação de informação à sociedade e entidades profissionais de classe.

As medidas de vigilância e controle das doenças exantemáticas no Estado de São Paulo devem seguir intensificadas. A todos os municípios e seus principais equipamentos de saúde públicos e privados recomendam-se a manutenção do alerta quanto à possibilidade de ocorrência de casos de sarampo, o reforço da vacinação de rotina e a manutenção de ações de busca ativa de casos de doença exantemática febril.

Ressalta-se ser importante que os casos de doença exantemática febril sejam **imediatamente** investigados, seguindo **rigorosamente a definição de caso suspeito de sarampo**, com coleta de espécimes clínicos, otimizando o recurso laboratorial.

Caso sejam detectados novos casos suspeitos, as Secretarias Municipais devem proceder:

- **notificação imediata** (por telefone) à Secretaria Estadual de Saúde;
- **coleta de espécimes clínicos** (sangue) para a realização do diagnóstico laboratorial;
- **adotar as medidas de prevenção e controle** de forma oportuna.

#### Viajante fique atento

Se apresentar febre, manchas avermelhadas pelo corpo, acompanhadas de tosse ou coriza ou conjuntivite, até 30 dias após seu regresso da região de risco, estes podem ser sintomas do sarampo.

Recomenda-se que procure imediatamente um serviço de saúde e evite circular em locais públicos.

**ATENÇÃO PROFISSIONAL DE VIGILÂNCIA E DE SAÚDE: NOTIFIQUE TODO CASO SUSPEITO DE SARAMPO**

Todo caso suspeito de sarampo ou surto de doença exantemática deve ser notificado imediatamente à:

- Secretaria Municipal de Saúde ou;
- Central de Vigilância/CVE/CCD/SES-SP, 24 horas, no telefone: 08000- 555466.
- Informações adicionais consultem os seguintes endereços eletrônicos:
- <http://www.cve.saude.sp.gov.br>.

**Correspondência/Correspondence to:**  
Divisão de Doenças de Transmissão Respiratória – CVE  
Av. Dr. Arnaldo, 351 – 6º Andar  
CEP 01246-000 – São Paulo (SP)  
Tels.: (11) 3066-8000, ramais 8236 e 8289, 3082-0957  
FAX: (11) 3082-9359/9395  
E-mail: [dvresp@saude.sp.gov.br](mailto:dvresp@saude.sp.gov.br)

## Nova coordenadora para a CCD

A Coordenadoria de Controle de Doenças (CCD) tem nova coordenadora. Clélia Maria Sarmento de Souza Aranda assumiu no dia 4 de janeiro a direção da organização que é responsável pela saúde coletiva no âmbito do Estado de São Paulo.

Clélia Aranda é médica pediatra especialista em saúde pública, foi responsável pela Divisão de Imunização do Centro de Vigilância Epidemiológica "Prof. Alexandre Vranjac" (CVE). Antes de assumir a CCD, respondia pela Superintendência do Fomento de Educação Sanitária e Imunização em Massa contra Doenças Transmissíveis (Fesima). Atualmente é membro da Comissão Permanente de Assessoramento em Imunizações da Secretaria de Estado da Saúde de São Paulo. A partir dessa edição, Clélia Aranda passa ser a editora geral do Boletim Epidemiológico Paulista (Bepa).

## Instituto Adolfo Lutz tem nova diretora

A médica sanitária Marta Lopes Salomão assumiu no dia 22 de janeiro a direção do Instituto Adolfo

Lutz (IAL). Marta Salomão, na posse, definiu seu primeiro objetivo: manter o nível de excelência da instituição secular e contribuir para a construção do SUS.

A médica sanitária foi superintendente da Superintendência de Controle de Endemias (Sucen), secretária municipal de saúde do Município de São João da Boa Vista e presidente do Conselho Municipal de Secretários Municipais de Saúde (Cosems).

## Médico sanitário assume a Sucen

A Superintendência de Controle de Endemias Sucen passa a ter como superintendente o médico sanitário Affonso Viviane. O novo superintendente foi diretor da Direção Regional de Saúde de Bauru e atuou tecnicamente em várias áreas da Secretaria de Estado da Saúde de São Paulo. Entre suas metas para a instituição está fortalecer o papel da Sucen no apoio técnico aos municípios, principalmente na área de controle de vetores.

### Correspondência/Correspondence to:

Núcleo de Comunicação  
Av. Dr. Arnaldo, 351 – 1º andar – sala 135 – CEP: 01246-902 – São Paulo, SP, Brasil  
Fone/fax: (11) 3066-8823/24/25  
E-mail: [bepa@saude.sp.gov.br](mailto:bepa@saude.sp.gov.br)

## Instruções aos Autores

O **Boletim Epidemiológico Paulista (Bepa)** publicação mensal da Coordenadoria de Controle de Doenças, órgão da Secretaria de Estado da Saúde de São Paulo (CCD/SES-SP) veicula artigos relacionados aos agravos à saúde pública ocorridos nas diversas áreas de controle, assistência e diagnóstico laboratorial do Sistema Único de Saúde de São Paulo (SUS-SP). Além de disseminar informações entre os profissionais de saúde de maneira rápida e precisa, o Bepa tem como objetivo incentivar a produção de trabalhos que subsidiem as ações de prevenção e controle de doenças na rede pública, apoiando, ainda, a atuação dos profissionais do sistema de saúde privado, promovendo a atualização e o aprimoramento de ambos.

Os documentos que podem ser publicados neste boletim estão divididos nas seguintes categorias:

1. **Artigos originais** – destinados à divulgação de resultados de pesquisa original inédita, que possam ser replicados e/ou generalizados. Devem ter de 2.000 a 4.000 palavras, excluindo tabelas, figuras e referências.

2. **Revisão** – Avaliação crítica sistematizada da literatura sobre assunto relevante à saúde pública. Devem ser descritos os procedimentos adotados, esclarecendo a delimitação e limites do tema. Extensão máxima: 5.000 palavras.

3. **Comunicações breves** – São artigos curtos destinados à divulgação de resultados de pesquisa. No máximo 1.500 palavras, uma tabela/figura e cinco referências.

4. **Informe epidemiológico** – Textos que têm por objetivo apresentar ocorrências relevantes para a saúde coletiva, bem como divulgar dados dos sistemas de informação sobre doenças e agravos. Máximo de 3.000 palavras.

5. **Informe técnico** – Trabalhos que têm por objetivo definir procedimentos, condutas e normas técnicas das ações e atividades desenvolvidas no âmbito da saúde coletiva. No máximo 5.000 palavras.

A estrutura dos textos produzidos para a publicação deverá adequar-se ao estilo Vancouver, cujas linhas gerais seguem abaixo.

• **Página de identificação** – Título do artigo, conciso e completo, em Português e Inglês; nome completo de todos os autores; indicação da instituição à qual cada autor está afiliado; indicação do autor responsável pela troca de correspondência; se subvencionado, indicar nome da agência de fomento que concedeu o auxílio e respectivo nome do processo; se foi extraído de dissertação ou tese, indicar título, ano e instituição em que foi apresentada.

• **Resumo** – Todos os textos, à exceção dos

• **Informes técnicos**, deverão ter resumo em Português e em Inglês (*Abstract*), dimensionado entre 150 palavras (**comunicações breves**) e no máximo 250 palavras (**artigos originais, revisões, atualizações e informes epidemiológicos**). Para os artigos originais, o resumo deve destacar os propósitos do estudo, procedimentos básicos adotados (seleção de sujeitos de estudo ou animais de laboratório, métodos analíticos e observacionais), principais descobertas e conclusões. Devem ser enfatizados novos e importantes aspectos do estudo ou das observações. Uma vez que os resumos são a principal parte indexada do artigo em muitos bancos de dados eletrônicos, e a única parte que alguns leitores lêem, os autores precisam lembrar que eles devem refletir, cuidadosamente, o conteúdo do artigo. Para os demais textos, o resumo deve ser narrativo, mas com as mesmas informações.

• **Descritores (unitermos ou palavras-chave)** – Seguindo-se ao resumo, devem ser indicados no mínimo três e no máximo dez descritores do conteúdo, que têm por objetivo facilitar indexações cruzadas dos textos e podem ser publicados juntamente com o resumo. Em Português, os descritores deverão ser extraídos do vocabulário “Descritores em Ciências em Saúde” (DeCS), da Bireme. Em Inglês, do “Medical Subject Headings” (Mesh). Caso não sejam encontrados descritores adequados à temática abordada, termos ou expressões de uso corrente poderão ser empregados.

• **Introdução** – Contextualiza o estudo, a natureza dos problemas tratados e sua significância. A introdução deve ser curta, definir o problema estudado, sintetizar sua importância e destacar as lacunas do conhecimento abordadas.

• **Metodologia (Métodos)** – A metodologia 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.

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

- **Discussão** – Deve enfatizar os novos e importantes aspectos do estudo e as conclusões que dele derivam, sem repetir material colocado nas seções de introdução e resultados. Deve começar com a apreciação das limitações do estudo, seguida da comparação com a literatura e da interpretação dos autores, apresentando, quando for o caso, novas hipóteses.

- **Conclusão** – Traz as conclusões relevantes, considerando os objetivos do trabalho e formas de continuidade. Se tais aspectos já estiverem incluídos na discussão, a conclusão não deve ser escrita.

- **Referências bibliográficas** – A exatidão das referências bibliográficas é de responsabilidade dos autores.

- **Citações bibliográficas no texto, tabelas e figuras:** deverão ser colocadas em ordem numérica, em algarismo arábico, sobrescrito, após a citação, constando da lista de referências bibliográficas. Exemplo:

“Os fatores de risco para a infecção cardiovascular estão relacionados à imunocompetência do hospedeiro<sup>1</sup>.”

- **Referências bibliográficas:** devem ser numeradas consecutivamente, obedecendo à ordem em que aparecem pela primeira vez no texto, de acordo com o estilo Vancouver. A ordem de citação no texto obedecerá esta numeração. Até seis autores, citam-se todos os nomes; acima disso, apenas os seis primeiros, seguidos da expressão em Latim “*et al*”. É recomendável não ultrapassar o número de 30 referências bibliográficas por texto.

- A) Artigos de periódicos** – As abreviaturas dos títulos dos periódicos citados devem estar de acordo com o *Index Medicus*, e marcadas em negrito.

Exemplo:

1. Ponce de Leon P; Valverde J e Zdero M. Preliminary studies on antigenic mimicry of *Ascaris Lumbricoides*. **Rev Lat-amer Microbiol** 1992; 34:33-38.

2. Cunha MCN, Zorzatto JR, Castro LLC. Avaliação do uso de Medicamentos na rede pública municipal de Campo Grande, MS. **Rev Bras Cien Farmacêuticas** 2002; 38:217-27.

- B) Livros** A citação de livros deve seguir o exemplo abaixo:

3. Medronho RA. Geoprocessamento e saúde: uma nova abordagem do espaço no processo saúde-doença. Primeira edição. Rio de Janeiro: Fiocruz/CICT/NECT.

- C) Capítulos de livro** – Já ao referenciar capítulos de livros, os autores deverão adotar o modelo a seguir:

4. Arnau JM, Laporte JR. Promoção do uso racional de medicamentos e preparação de guias farmacológicos. *In*: Laporte JR, Tognoni G, Rozenfeld

S. Epidemiologia do medicamento: princípios gerais. São Paulo: Hucitec; Rio de Janeiro: Abrasco; 1989.

#### **D) Dissertações e teses:**

5. Moreira MMS. Trabalho, qualidade de vida e envelhecimento [dissertação]. Rio de Janeiro: Escola Nacional de Saúde Pública; 2000. p. 100.

#### **E) Trabalhos de congressos, simpósios, encontros, seminários e outros:**

6. Barboza *et al*. Descentralização das políticas públicas em DST/Aids no Estado de São Paulo. *In*: III Encontro do Programa de Pós-Graduação em Infecções e Saúde Pública; 2004 ago; São Paulo: Rev IAL. P. 34 [resumo 32-SC].

#### **F) Periódicos e artigos eletrônicos:**

7. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE). Síntese de indicadores sociais 2000. [Boletim on-line]. Disponível em: <http://www.ibge.gov.br> [2004 mar 5]

#### **G) Publicações e documentos de organizações governamentais:**

8. Brasil. Decreto 793, de 5 de abril de 1993. Altera os Decretos 74.170, de 10 de junho de 1974, e 79.094, de 5 de janeiro de 1977, que regulamentam, respectivamente, as Leis 5991, de 17 de janeiro de 1973, e 6360, de 23 de setembro de 1976, e dá outras providências. Brasília (DF): Diário Oficial da União; 6 abr 1993. Seção 1. p. 4397.

9. Organización Mundial de la Salud (OMS). Como investigar el uso de medicamentos em los servicios de salud. Indicadores seleccionados del uso de medicamentos. Ginebra; 1993. (DAP. 93.1).

Casos não contemplados nesta instrução devem ser citados conforme indicação do Committee of Medical Journals Editors (*Grupo Vancouver*) (<http://www.cmje.org>).

**Tabelas** – Devem ser apresentadas em folhas separadas, numeradas consecutivamente com algarismos arábicos, na ordem em que forem citadas no texto. A cada uma deve ser atribuído um título breve, **NÃO SE UTILIZANDO TRAÇOS INTERNOS HORIZONTAIS OU VERTICAIS**. Notas explicativas devem ser colocadas no rodapé das tabelas e não no cabeçalho ou título.

**Quadros** – São identificados como tabelas, seguindo uma única numeração em todo o texto.

**Figuras** – Fotografias, desenhos, gráficos etc., citados como figuras, devem ser numerados consecutivamente com algarismos arábicos, na ordem em que foram mencionados no texto, por número e título abreviado no trabalho. As legendas devem ser apresentadas em folha à parte; as ilustrações devem ser suficientemente claras para permitir sua reprodução. Não são permitidas figuras que representem os mesmos dados.