

Boletim Epidemiológico Paulista

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

BEPA 126

Volume 11 Número 126 junho/2014

Nesta edição

Hanseníase e laboratório: uma interação desafiadora

Leprosy and the laboratory: a challenging interaction 1

16ª Campanha Nacional de Vacinação contra a Influenza 2014 – 22 de abril a 09 de maio de 2014 (Dia D 26 de abril)

16th National Immunization Against Influenza 2014-22 from april to may 9, 2014 (D-Day April 26) 15

Surto de intoxicação por histamina associado ao consumo de atum em conserva no estado de São Paulo, Brasil

Histamine intoxication outbreak associated to canned tuna intake in the state of São Paulo, Brazil 25

Instruções aos Autores

Author's Instructions 33

Expediente



**COORDENADORIA DE
CONTROLE DE DOENÇAS**

Av. Dr Amaldo, 351

1º andar – sala 133

CEP: 01246-000 – Pacaembu

São Paulo/SP – Brasil

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

E-mail: bepa@saude.sp.gov.br

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

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

Os artigos publicados são de
responsabilidade dos autores.

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

Para republicação deste material,
solicitar autorização dos editores.

Editor Geral: Marcos Boulos

Editor Executivo: Clelia Aranda

Editores Associados:

Aglæe Neri Gambirasio – ICF/CCD/SES-SP

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

Lilian Nunes Schiavon – CTD/CCD/SES-SP

Luciana Hardt – IP/CCD/SES-SP

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

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

Maria Cristina Megid – CVS/CCD/SES-SP

Dalton Pereira Fonseca Junior – SUCEN/SES-SP

Comitê Editorial:

Adriana Bugno – IAL/CCD/SES-SP

Angela Tayra – CRT/Aids/CCD/SES-SP

Cristiano Corrêa de Azevedo Marques – IB/SES-SP

Dalma da Silveira – CVS/CCD/SES-SP

Dalva Marli Valério Wanderley – SUCEN/SES-SP

Juliana Galera Castilho – IP/CCD/SES-SP

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

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

Patrícia Sanmarco Rosa – ILSL/SES-SP

Coordenação Editorial:

Sylia Rehder

Maria de Fátima Costa Pires

Lilian Nunes Schiavon

Constantino José Fernandes Jr

Revisão:

Kátia Rocini

Projeto gráfico/editoração:

Marcos Rosado

Maria Rita Negrão

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

Consultores Científicos:

Alexandre Silva – CDC Atlanta

Eliseu Alves Waldman – FSP/USP-SP

Exedito José de Albuquerque Luna – IMT/USP

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

Gonzalo Vecina Neto – FSP/USP

José Cássio de Moraes – FCM-SC/SP

José da Silva Guedes – IB/SES-SP

Gustavo Romero – UnB/CNPQ

Hiro Goto – IMT/SP

José da Rocha Carvalheiro – Fiocruz-RJ

Myrna Sabino – IAL/CCD/SES-SP

Paulo Roberto Teixeira – OMS

Ricardo Ishak – CNPQ/UF Pará

Roberto Focaccia – IER/SES-SP

Vilma Pinheiro Gawyszewsk – OPAS

Portal de Revistas - SES/Projeto Metodologia Scielo:

Lilian Nunes Schiavon

Eliete Candida de Lima Cortez

Sandra Alves de Moraes

Centro de Documentação – CCD/SES-SP

CTP, Impressão e Acabamento:

Imprensa Oficial do Estado de São Paulo

Disponível em:

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



Acesse a versão eletrônica em:
www.ccd.saude.sp.gov.br

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

Colabore com o BEPA:
bepa@saude.sp.gov.br

Artigo original

Hanseníase e laboratório: uma interação desafiadora *Leprosy and the laboratory: a challenging interaction*

Heloisa da Silveira Paro Pedro^I; Susilene Maria Tonelli Nardi^I; Fernanda Modesto Tolentino^I; Emilaine Ribeiro de Carvalho^I; Janaína Olher Martins Montanha^I; Marcus Alexandre Mendes Luz^{II}; Vania Del'Arco Paschoal^{II}

^IInstituto Adolfo Lutz – Centro de Laboratórios Regionais de São José do Rio Preto.

^{II}Faculdade de Medicina de São José do Rio Preto.

Coordenadoria de Controle de Doenças. Secretaria de Estado da Saúde, São Paulo – Brasil.

RESUMO

O *M. leprae* é o agente da hanseníase. Por ser um bacilo não cultivável em meios definidos, seu diagnóstico é essencialmente clínico. Pesquisas têm sido realizadas para desenvolver novas ferramentas de diagnóstico e consequente detecção precoce da doença. O objetivo deste trabalho é investigar e apresentar o que há de atual nas pesquisas em relação ao diagnóstico laboratorial da hanseníase. Foi realizada revisão bibliográfica, que utilizou 57 artigos provindos da MEDLINE, PUBMED, LILACS, SciELO, PAHO e WHOLIS, com os unitermos: diagnóstico, hanseníase, *Mycobacterium leprae*, PGL-I, biópsia, diagnóstico molecular, PCR, sorologia e transmissão. Foi constatado que exames auxiliam no diagnóstico diferencial, mas não há um exame considerado padrão-ouro. Os testes clássicos como baciloscopia, biópsia e Mitsuda continuam sendo utilizados. O sorodiagnóstico, baseado na detecção de anticorpos IgM ao glicolípido fenólico I (PGLI), foi explorado e vários testes desenvolvidos para diagnóstico. As técnicas moleculares que utilizam genes específicos do *M. leprae* como alvo são utilizadas para auxiliar em casos difíceis e são consideradas técnicas promissoras pela alta sensibilidade e especificidade, mas a maioria, ainda restritas à pesquisa, devido ao alto custo que inviabiliza sua utilização na rotina laboratorial. Novos métodos estão sendo testados, mas ainda são inviáveis pela tecnologia sofisticada e custo elevado ou por oferecerem valor prognóstico e não diagnóstico.

PALAVRAS-CHAVE: Hanseníase. *Mycobacterium leprae*. Diagnóstico laboratorial.

ABSTRACT

Mycobacterium leprae is the etiologic agent of leprosy. As the bacillus cannot be cultivated in artificial media, leprosy diagnosis is essentially clinical. Studies have been performed to develop new diagnostic tools for early disease detection. The objective was report the current research status regarding the laboratory diagnosis of leprosy. Search in the databases MEDLINE, PUBMED, LILACS, SciELO, PAHO and WHOLIS included 57 articles using the keywords: diagnosis, leprosy, *Mycobacterium leprae*, PGL-I, biopsy, molecular diagnosis, PCR, serology and transmission. Tests help in the differential diagnosis, however none of the exams is considered gold standard; the classical slit skin smear, biopsy and Mitsuda tests continue to be used. Serodiagnosis, based on the detection of IgM antibodies against phenolic glycolipid I (PGLI), has been used in several diagnostic tests. Molecular techniques targeting *M. leprae* specific genes have been employed for difficult cases and are considered promising techniques due to their high sensitivity and specificity. However, because of their high cost they are used mostly for research purposes. New methods are being tested but they remain infeasible to be used in the routine diagnosis, either because of their cost and sophisticated setup needed, or because they aim mostly at prognosis of leprosy.

KEYWORDS: Leprosy. *Mycobacterium leprae*. Laboratory diagnosis.

INTRODUÇÃO

Hanseníase é uma doença infectocontagiosa, de evolução lenta, que se manifesta por meio de sinais e sintomas dermatoneurológicos.¹ É considerada um problema de saúde pública por apresentar alto poder incapacitante, decorrente dos processos patológicos e imunológicos que ocorrem diretamente nos nervos periféricos. Os acometimentos neurais podem evoluir para deficiências físicas permanentes, em especial nos olhos, nariz, mãos e pés, além de repercussões sociais e psicológicas, que contribuem significativamente para a sua morbidade.^{2,3} No entanto, em países desenvolvidos, ela foi eliminada e é curável, se tratada.⁴

No ano de 2012, foram diagnosticados no Brasil 33.303 novos casos,⁵ distribuídos de forma heterogênea devido à grande variação do coeficiente de prevalência nas várias regiões do país, o que classifica o Brasil em segundo lugar em número absoluto de casos no cenário mundial.^{6,7}

Apesar de ser uma doença milenar, o fato do *Mycobacterium leprae* não ser cultivável dificulta o entendimento sobre a transmissão, suscetibilidade e acometimento neural.⁸

Muitos estudos utilizando biomarcadores moleculares e imunológicos para o desenvolvimento de técnicas laboratoriais mais seguras e confiáveis quanto à especificidade e

sensibilidade para detecção do *M. leprae* têm sido conduzidos em todo o mundo. Porém, nenhuma técnica oferece ainda resultados com valores efetivos para o diagnóstico, sendo este essencialmente clínico, e os exames laboratoriais apenas colaboram com o diagnóstico.⁹

Para suprir a carência do suporte laboratorial, a Organização Mundial de Saúde recomendou desde 2000, e o Ministério da Saúde do Brasil adotou a partir de 2002, um método simplificado para a classificação da hanseníase, para fins de tratamento, baseado na contagem do número de lesões cutâneas, a qual é necessária para alocação correta do paciente nos dois esquemas terapêuticos existentes, e assim garantir um tratamento eficaz.^{10,2}

Este estudo teve como objetivo investigar e apresentar o que há de atual nas pesquisas em relação ao diagnóstico laboratorial da hanseníase.

METODOLOGIA

A abordagem metodológica empregou como instrumento a pesquisa exploratória de caráter bibliográfico, no período de 1966 a 2013, utilizando como base de dados MEDLINE, PUBMED, LILACS, SciELO, Organização Pan-americana de Saúde (PAHO), Sistema de Informação da Biblioteca da OMS (WHOLIS). Os unitermos selecionados para a pesquisa, associados ou não, foram: diagnóstico; hanseníase; *Mycobacterium leprae*; PGL-I; biópsia; diagnóstico molecular; PCR; sorologia e transmissão.

O processo de busca resultou na inclusão de 57 artigos, leis, portarias, teses, monografias e demais investigações baseadas em evidências científicas e/ou de caráter investigativo epidemiológico/operacional. Livros, artigos

e outros documentos impressos fizeram parte da metodologia com propósito de sustentar teoricamente esta revisão.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Agente Etiológico

O agente etiológico da hanseníase, o *Mycobacterium leprae*, identificado em 1873, foi considerado o primeiro micro-organismo patógeno a ser associado com uma doença em humanos.⁴ É um bacilo gram-positivo, que apresenta parede celular com elevado teor de lipídios estruturais, os quais provocam forte hidrofobicidade, dificultando a ação dos diferenciadores de corantes aquosos, conferindo a característica de bacilo álcool-ácido resistentes (BAAR). Desta forma, na coloração de Ziehl-Neelsen,^{11,2} os bacilos isolados ou em globias¹² coram-se pela fuccina e não descoram-se pelos ácidos e álcoois.

O *M. leprae* é um patógeno intracelular obrigatório, com tropismo por fagócitos, como macrófagos teciduais e células dendríticas e as células de Schwann de nervos periféricos humanos e outros tipos celulares como células epiteliais, endoteliais e fibroblastos. Acomete ainda mucosas, olhos, medula óssea, vísceras abdominais, linfonodos e testículos.¹³

O *Mycobacterium leprae* depende de produtos metabólicos do hospedeiro para sua replicação, o que poderia explicar seu longo período de incubação e sua incapacidade de multiplicação em meios de cultura artificiais.² Esses fatores implicaram em grandes dificuldades nas pesquisas para produção de testes diagnósticos, no período que precedeu o conhecimento do genoma da bactéria.¹⁴

Patologia

A característica principal da doença é o comprometimento dos nervos periféricos. O mecanismo utilizado pelo *M. leprae* para os invadir ainda não é totalmente conhecido. Porém, uma vez dentro do nervo, o bacilo desencadeia alterações patológicas como desmielinização, degeneração axonal e fibrose aumentada.^{15,16}

No Brasil, segundo Araujo,¹⁷ as classificações de Madri e de Ridley e Jopling são as mais utilizadas. A primeira preconiza dois polos estáveis e opostos (virchoviano e tuberculoide) e dois grupos instáveis (indeterminado e dimorfo) que caminham para um dos polos na evolução da doença. Ridley e Jopling propuseram a classificação baseada na imunidade do hospedeiro.¹⁸

Transmissão

As vias aéreas superiores são as principais vias de eliminação e infecção do indivíduo pelo bacilo de Hansen, no entanto, há a possibilidade do indivíduo doente e não tratado eliminar bacilos por meio de lesões da pele, podendo transmiti-lo a indivíduos sadios que não estejam com a pele íntegra.¹⁹

Pacientes com a forma multibacilar, que não iniciaram o tratamento medicamentoso, são considerados fontes de transmissão, devido à eliminação dos bacilos pelas vias aéreas superiores. Os contatos domiciliares de pessoas com hanseníase apresentam significativamente um risco maior de desenvolver a doença do que a população em geral.²⁰

Estudos moleculares, em populações de áreas endêmicas para hanseníase, têm evidenciado a presença de DNA de *M. leprae* na mucosa nasal de indivíduos saudáveis. Este fato mostra

evidências de carreadores temporários, em que pessoas infectadas podem passar por um período de excreção nasal, aventando a possibilidade de ocorrer transmissão pelos portadores sãos e por aqueles com infecção subclínica.²¹

A ideia de que o ser humano era a única fonte de infecção do bacilo foi sustentada até a primeira metade do século XX, porém nos anos de 1960 e, posteriormente, em 1971, ela foi contestada ao observar que esta bactéria tinha capacidade de infectar e se multiplicar em alguns animais, como em coxim de pata de camundongos e em tatus (*Dasypus novemcinctus*).²² Estes últimos, como o homem, também são reservatórios naturais do bacilo, possibilitando um melhor embasamento para estudos bacteriológicos.¹⁵

A partir disso, a possibilidade de novas fontes de infecção pelo bacilo de Hansen tem sido apresentada em outros estudos. Uma possível fonte de infecção do *M. leprae* pelo consumo da carne de tatu, principalmente nas pessoas com hanseníase sem história de contatos com outros pacientes antes do seu diagnóstico, foi descrita por Deps e colaboradores.²³

Mais recentemente, em um estudo ainda experimental, foi aventada a possibilidade de o barbeiro agir como vetor do bacilo, por demonstrar que este pode infectar-se ao fazer seu repasto sanguíneo.²⁴

TESTES LABORATORIAIS PARA O DIAGNÓSTICO DA HANSENÍASE

O laboratório tem a missão de produzir resultados de exames que sejam úteis e com qualidade assegurada para o diagnóstico das doenças de saúde pública. Importante também é o investimento para o desenvolvimento de

novos métodos laboratoriais e melhoria de testes existentes, fatores determinantes para tentar atingir as metas da OMS, em relação à doença, programadas para o período de 2011-2015.^{25,19}

O exame clínico dermatoneurológico e a baciloscopia positiva ainda são considerados soberanos para a definição do diagnóstico da hanseníase, no entanto, testes sorológicos e moleculares têm sido apresentados como importantes ferramentas complementares que podem auxiliar no diagnóstico diferencial e classificação da hanseníase.^{26,4,17}

Baciloscopia

O exame complementar mais utilizado no diagnóstico é a baciloscopia com raspado de tecido dérmico ou linfa dos lóbulos das orelhas direita e esquerda, cotovelo direito e esquerdo e lesão suspeita. A coloração é feita pelo método de Ziehl-Neelsen e o resultado liberado é baseado em uma escala logarítmica que vai de 0 a 6+, proposto por Ridley em 1962.¹⁹

Embora a baciloscopia auxilie no diagnóstico da doença, apresenta baixa sensibilidade, sendo negativa nas formas paucibacilares e pode apresentar também negatividade em alguns pacientes multibacilares devido a procedimentos inadequados de coleta, coloração, leitura, e pelo fato de que nem sempre o bacilo é evidenciado nos sítios de coleta.^{27,19} Há dificuldades em relação a sua padronização devido à quantidade do tecido removido, espessura do esfregaço e profundidade do corte.²⁷

Apesar disso, o exame é considerado, ainda hoje, como o único instrumento rápido e de baixo custo para a confirmação de casos MB atípicos, apresentando boa acurácia para classificar a forma clínica da doença e colaborar na escolha

do esquema de tratamento. Suas vantagens, desvantagens e limitações são discutíveis.²⁵

Biópsia

A biópsia tem papel de grande relevância quando não há condições de se fazer o diagnóstico diferencial da hanseníase e os procedimentos clínicos não são elucidativos, assim como os testes de sensibilidade se mostram inconclusivos por serem realizados em crianças, idosos e portadores de doença mental, entre outros.²⁸

Em casos suspeitos de hanseníase tuberculoide a biópsia é necessária porque a visualização dos bacilos é difícil e nem sempre as alterações da sensibilidade e a avaliação dos troncos nervosos possibilitam diagnosticar a doença. A biópsia também pode ser útil para diagnóstico diferencial entre reação reversa e recidiva.²

O diagnóstico histopatológico obtido a partir de uma biópsia representa uma significativa ferramenta na investigação da hanseníase, estabelecendo bases para a determinação de um diagnóstico confiável e que permita a classificação das lesões dentro da escala de Ridley-Jopling,²⁹ mesmo em alguns casos em que a manifestação clínica da doença seja discreta.

Pinquier³⁰ afirma que a utilização e o valor da contribuição do exame histopatológico dependem de fatores como o grande polimorfismo clínico e histológico associados ao estado imunológico e ao desenvolvimento da imunidade celular do paciente. A classificação das formas tuberculoide e virchoviana baseia-se, na microscopia, na presença de granuloma linfocitário na primeira forma e na presença de macrófagos de Virchow (células espumosas) associadas a poucos linfócitos na segunda forma.

As formas intermediárias podem, de acordo com Shivaswamy et al.,³¹ apresentar sobreposição dessas tipologias, resultando em 15,3% de diagnósticos indeterminados, de acordo com seus estudos, em que não se reconhece padrões morfológicos padronizados nas escalas de classificação.

Do mesmo modo, os autores apontam local, idade e morfologia da lesão, além do estado imunológico do paciente como critérios importantes na viabilidade do diagnóstico.

Velasco et al.³² sugere o diagnóstico pela pesquisa do patógeno em amostras obtidas por aspiração de medula óssea submetidas à histoquímica pela técnica de Ziehl-Nielsen, constituindo uma forma distinta da biópsia de tegumento, que constitui o exame clássico da lesão.

Contudo, o exame histopatológico apresenta limitações e sabe-se, por estudos recentes, que sua associação com a investigação clínica garante precisão e confiabilidade aos resultados^{31,33} diante de quadros morfológicos imprecisos e respostas celulares instáveis. Na investigação das formas de hanseníase neural pura, Medeiros e colaboradores³⁴ descrevem que o exame histopatológico é insuficiente, sendo que a imunomarcagem do lipoarabinomano (LAM) e do glicolípido fenólico 1 (PGL1), presentes na parede do *M. leprae* contribui significativamente para o diagnóstico do patógeno no tecido nervoso.

Para o diagnóstico precoce e nos casos classificados apenas como suspeitos há, contudo, uma carência em ambos os recursos. Natrajan et al.³⁵ aponta que a investigação pelo método da *PCR in situ* permite um diagnóstico de até 70% dos casos em formas precoces e 60% nos casos suspeitos, em pacientes diagnosticados

respectivamente em 32% e 20% empregando-se os recursos de rotina.

Assim sendo, a utilização das alterações morfológicas como recurso independente para a finalização do diagnóstico da hanseníase não garante, portanto, eficiência para todos os pacientes, contemplando toda a casuística. Observando os diversos aspectos da aplicabilidade do exame histopatológico, pode-se inferir que métodos combinados de diagnóstico aliando a clínica, a biologia molecular e a imunohistoquímica, oferecem respostas adequadas ao polimorfismo observado na hanseníase.

Do ponto de vista operacional, dificuldades associadas à realização do procedimento de coleta da amostra, conservação e envio do material coletado das unidades básicas para laboratórios de referência, podem caracterizar um obstáculo para a implantação do serviço anátomo-patológico, dificultando a inclusão desse procedimento como protocolo na rotina diagnóstica.²⁸

Reação de Mitsuda

Trata-se de uma reação intradérmica com 0,1 ml da lepromina humana, realizada na superfície de flexão do antebraço direito, 4 cm abaixo da dobra antecubital, com leitura na 4ª semana. É produzida pelo Instituto Lauro de Souza Lima, em Bauru, São Paulo, com uma suspensão de 6×10^7 bacilos/ml mortos pelo calor e o resultado é medido pelo diâmetro da induração local, registrada em milímetros. A ausência de pápula, ou pápula menor do que 5 mm de diâmetro, confere um resultado negativo a reação de Mitsuda e nódulo maior que 5 mm de diâmetro ou com ulceração, resultado positivo.³⁶

O alto valor prognóstico da reação de Mitsuda deve-se ao fato que na reação negativa há

ausência de resposta imunitária do tipo celular, mostrando a falta de defesa do organismo ao *M. leprae*; assim sendo, ao adquirir a doença, o indivíduo evolui para sua forma mais grave. No entanto, uma reação positiva indica presença de imunidade celular ao *M. leprae*, ou uma capacidade relativa de defesa do organismo, que poderia não evoluir ou evoluir para forma tuberculoide.³⁷

Desde o surgimento do primeiro teste cutâneo em 1919, várias modificações foram realizadas para dar origem à reação de Mitsuda. Testes cutâneos de segunda geração estão sendo pesquisados a partir de proteínas fracionadas e de frações subcelulares do bacilo de Hansen³⁸ ou direcionam na tentativa de produção de um teste cutâneo a partir de peptídeos sintéticos denominados permissíveis ou promíscuos, capazes de ligação em diversas moléculas do complexo principal de histocompatibilidade do tipo HLA (Antígenos Leucocitários Humanos), que poderiam identificar a infecção ao *M. leprae* em diferentes grupos étnicos com diferentes tipos de moléculas HLA.¹⁴

Sorologia

Diversos estudos nacionais e internacionais têm relatado a resposta imune diante do bacilo de Hansen e o uso da sorologia para auxiliar na classificação de pacientes para fins de tratamento, monitoramento de terapia, risco de recidiva e na seleção dos contatos com maior risco de adoecer.^{25,39,40}

Pesquisas mostram que a estreita relação da soropositividade com a carga bacilar torna útil o emprego da sorologia no diagnóstico de casos primariamente neurais, sem lesões de pele visíveis ou baciloscopia positiva, na adequação da poliquimioterapia (PQT) em pacientes

multibacilares (MB), nos casos com altos títulos séricos e pequeno número de lesões cutâneas visíveis, ou seja, pacientes paucibacilares pelo critério de contagem de número de lesões e em casos em que a clínica de MB não corresponde à baciloscopia e/ou biópsia de lesão cutânea.¹⁰

O antígeno glicolípido fenólico-1 (PGL-1) foi descrito na década de 80 como antígeno imunogênico específico do *Mycobacterium leprae*, surgindo assim os primeiros testes sorológicos, sendo o *enzyme linked immunosorbent assay*-ELISA o mais utilizado. O PGL-1 é o principal glicolípido antigênico do bacilo de Hansen produzindo anticorpos das classes IgG (Imunoglobulina do tipo G) e IgM (Imunoglobulina do tipo M), que estão relacionados com a forma clínica e a atividade da doença.^{17,41} A detecção de anticorpos IgM ao glicolípido fenólico I (PGL-I), no sorodiagnóstico é o melhor teste padronizado e o mais avaliado na hanseníase. A molécula PGL-I apresenta um trissacarídeo único, sendo seu principal determinante antigênico a última parte di- e trissacarídeo. Após a descoberta desse antígeno, vários outros foram produzidos, sendo desenvolvidos também diversos ensaios sorológicos para detectar a presença de anticorpos das classes IgM, IgG e IgA.²⁵

O índice baciloscópico baixo ou ausente e presença de resposta imune celular e não resposta imune humoral limita o valor diagnóstico da sorologia anti PGL-I na hanseníase paucibacilar, mas esta é altamente específica nos pacientes multibacilares. Outra limitação está no fato de que parte significativa de indivíduos saudáveis pode apresentar sorologia anti PGL-I positiva em áreas endêmicas.^{42,43}

Os testes anti PGL-I associados à clínica podem colaborar na classificação de hanseníase

multibacilar e paucibacilar e na escolha do tratamento com mais especificidade que a contagem do número de lesões.⁴²

A detecção de anticorpos anti PGL-I ocorre pelos métodos ELISA (*Enzyme-Linked Immunosorbent Assay*), aglutinação de partículas e testes imunocromatográficos – *dipstick* e *ML Flow*.⁴²

A padronização da técnica ELISA *in house* apresenta as vantagens de ampla disponibilidade dos equipamentos necessários, visto que é quase universalmente aplicável,^{44,45} sendo facilmente adaptável aos analisadores automáticos. São ensaios rápidos, simples, e seu baixo custo e resultados quantitativos fazem com que o teste seja preferível para estudos epidemiológicos de grande escala e acompanhamento dos pacientes e, ainda, durante o tratamento de pacientes MB, a repetição do teste de ELISA pode ser uma maneira de verificar se o tratamento está surtindo efeito.^{25,46}

Já o Teste de Aglutinação de Partículas (MPLA) é considerado prático para ser utilizado em grandes inquéritos epidemiológicos e em laboratórios pouco equipados. A aglutinação de glóbulos de gelatina recobertos por uma camada de trissacarídeo sintético pelos anticorpos anti PGL-I são utilizados na metodologia.⁴⁶

Os testes imunocromatográficos *dipstick* e *ML Flow* são utilizados para detecção de anticorpos IgM contra o glicolípido fenólico específico do *M. leprae* (PGL-I) presente em amostras de soro e sangue total humano, sendo considerados os ensaios mais rápidos e facilmente aplicáveis dentre os testes sorológicos disponíveis. Estes testes utilizam o PGL-I impregnado em uma base de nitrocelulose, a qual é submetida a etapas de incubação com a amostra e de lavagens, fornecendo resultados de fácil interpretação da

presença ou ausência de anticorpos anti-pGL-I na amostra do paciente.^{25,46-48}

A identificação de novas proteínas específicas ou peptídeos do *Mycobacterium leprae*, adequados para o diagnóstico sorológico da hanseníase, são alvos de estudos baseados em sequências genômicas. A exemplo disto, a técnica dos micro arranjos estuda arranjos com proteínas isoladas da parede celular ou membrana do bacilo ou ainda com proteínas recombinantes, que associadas ao antígeno PGL-I parecem melhorar o diagnóstico de pacientes pauci e multibacilares. Outra ferramenta utilizada nas pesquisas para aprimorar a seleção de antígenos é a bioinformática, principalmente para reduzir as chances de reação cruzada e detectar epítomos promíscuos imunodominantes para células T nas proteínas do *Mycobacterium leprae*.⁴⁹

Ferramentas moleculares

O sequenciamento completo do genoma do *M. leprae* abriu portas no entendimento do complicado mecanismo da doença e nas pesquisas relativas à busca de novos testes para o diagnóstico. Esse sequenciamento mostrou, por exemplo, a drástica redução gênica desse patógeno em relação ao *M. tuberculosis* e outras micobactérias, o que poderia explicar a impossibilidade de cultivo em meios de cultura devido à falta de vias biossintéticas essenciais para tanto.⁵⁰

A reação em cadeia da polimerase (PCR – *Polymerase Chain Reaction*) passou a ser utilizada como método de suporte alternativo às metodologias tradicionais para o diagnóstico da hanseníase na década de 90. Sua utilização tornou-se possível com a descoberta de sequências espécie-específicas no genoma do *M. leprae*, o que forneceu a possibilidade de

detecção específica, sensível e rápida do DNA do *M. leprae* em espécimes clínicos.^{51,46}

A alta sensibilidade da PCR possibilita a amplificação enzimática de sequências específicas, a partir de uma quantidade mínima de DNA. Com isso, antígenos e regiões-alvo têm sido utilizados em diversos estudos.⁵² Entretanto, em paciente paubacilar, a sensibilidade da reação para *M. leprae* embora tenha aumentado, ainda encontra-se abaixo de 80%.^{53,42}

Estudos conduzidos com diferentes espécimes clínicos têm demonstrado grandes variações na sensibilidade da PCR. Análises comparativas, realizadas para a detecção do DNA do *M. leprae* em amostras de sangue, linfa e secreções nasais para todas as formas clínicas da doença, mostraram que a amplificação a partir de amostras de sangue apresenta sensibilidade inferior quando comparada à sensibilidade apresentada pelas outras amostras clínicas.¹⁰

Análises utilizando biópsias de pele de pacientes com hanseníase mostram que a técnica de PCR aumenta a sensibilidade da detecção do *M. leprae* se comparada à histopatologia e baciloscopia convencionais.¹⁴

De acordo com Stefani,⁴² em estudo para casos de hanseníase paubacilar com lesão única foi observada uma positividade de 43% para *M. leprae* em biópsias de pele, resultado promissor se comparado com as baixas taxas de detecção do bacilo em tecidos e com a impossibilidade de cultivo em meios artificiais.

Martinez e colaboradores⁵⁴ conduziram um estudo utilizando amostras de secreção nasal, considerando que o trato respiratório superior é a principal porta de entrada do bacilo. No entanto, nenhuma correlação direta da positividade da PCR com o desenvolvimento

de hanseníase foi observado. Corroborando com outros trabalhos, a positividade nessas amostras evidencia o carreamento bacilar, mas não necessariamente doença.⁵⁵

A PCR em tempo real demonstrou ser mais sensível que a PCR convencional para detectar DNA do *M. leprae* em amostras clínicas, nas quais os bacilos não foram detectáveis por coloração de histologia. Para o diagnóstico de hanseníase e para a determinação da viabilidade do bacilo a PCR baseada em transcrito reverso do RNA ribossomal do *M. leprae* também tem sido utilizada.^{56,42}

Em centros de referência, a técnica de PCR para DNA de *M. leprae* auxilia o diagnóstico de casos mais difíceis. Entretanto, seu alto custo, sofisticada tecnologia e a limitada sensibilidade para os casos paubacilares inviabilizam sua incorporação no diagnóstico de rotina na hanseníase. Contudo, na pesquisa auxilia a compreensão da epidemiologia da doença na comunidade.^{12,14,42}

O desenvolvimento de testes de DNA “*fingerprunte*” para distinção de casos de reativação e transmissão recente, como os utilizados para o *M. tuberculosis* também tem sido aventados na era da biologia molecular.^{57,14}

CONCLUSÃO

Existem ainda desafios a serem enfrentados quando se trata do diagnóstico da hanseníase, visto que ainda não há um exame considerado “padrão ouro” para o diagnóstico da doença. Novos métodos estão sendo estudados e testados, mas nem todos são viáveis do ponto de vista da saúde pública, por possuírem tecnologia sofisticada e alto custo. Outros, apesar de serem de simples execução, não

oferecem valor efetivo para o diagnóstico, sendo apenas importantes quando se trata do prognóstico da doença.

Grande parte dos estudos citados nessa revisão conclui que diversos testes laboratoriais são eficazes para os casos multibacilares da doença, mas há dificuldade de estabelecimento de um teste diagnóstico para os casos

paucibacilares, requerendo ainda investimentos em pesquisas.

Certamente outros estudos não citados nessa revisão estão em desenvolvimento, à luz dos novos conhecimentos nas áreas da imunologia, da biologia molecular e da bioinformática, em busca de um teste laboratorial efetivo para o diagnóstico precoce da doença.

REFERÊNCIAS

1. Ministério da Saúde. Guia para o controle de hanseníase. 3. ed. Brasília (DF): Departamento de Atenção Básica; 2002.
2. Sales AM, Ponce de Leon A, Duppre NC, Hacker MA, Nery JAC, Sarno EN et al. Leprosy among patient contacts: a multilevel study of risk factors. *PLoS Negl Trop Dis*. 2011;5(3):e1013.
3. Martins MA. Qualidade de vida em portadores de hanseníase [dissertação de mestrado na Internet]. Campo Grande: Universidade Católica Dom Bosco; 2009. [acesso em 06 ago 2014]; Disponível em: http://www.livrosgratis.com.br/arquivos_livros/cp090508.pdf
4. Araújo S. Epidemiologia molecular da hanseníase: sorologia anti PGL-I e PCR em swab nasal de pacientes com hanseníase e contatos domiciliares [dissertação de mestrado na Internet]. Uberlândia: Faculdade de Medicina da Universidade Federal; 2012 [citado 2012 set 3]. Disponível em: http://www.btdt.ufu.br/tde_arquivos/7/TDE-2012-02-02T151726Z-2779/Publico/d.pdf
5. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Situação epidemiológica da hanseníase no Brasil: análise de indicadores selecionados na última década e desafios para eliminação. *Bol Epidem*. 2013;44(11):1-12.
6. World Health Organization (WHO). Global leprosy situation. *Wkly Epidemiol Rec*. 2012;87(34):317-28.
7. Sobrinho RAS, Mathias TAF. Perspectivas de eliminação da hanseníase como problema de saúde pública no Estado do Paraná, Brasil. *Cad Saúde Pública*. 2008;24(2):303-14.
8. Sarno EN. A hanseníase no laboratório. *Hist Ciênc Saúde - Manguinhos*. 2003;10(Suppl 1):277-90.
9. Ministério da Saúde. Portaria nº 3.125, de 07 de outubro de 2010. Aprova as diretrizes para vigilância, atenção e controle da hanseníase. 198. *Diário Oficial da União*. 15 out 2010;Seção 1:55.
10. Barreto JA. Avaliação de pacientes com hanseníase na faixa virchowiana diagnosticados entre 1990 e 2000 tratados com poliquimioterapia 24 doses e seus comunicantes na fase de pós-eliminação em municípios de Santa Catarina [tese de doutorado na internet]. São Paulo: Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo; 2011.
11. Scollard DM, Adams LB, Gillis TP, Krahenbuhl JL, Truman RW, Williams DL. The continuing challenges of leprosy. *Clin Microbiol*. 2006;19(2):338-81.

12. Eichelmann K, González González SE, Salas-Alanis JC, Ocampo-Candiani J. Leprosy. An Update: definition, pathogenesis, classification, diagnosis, and treatment. *Actas dermo-sifiliogr.* 2013;104(7):554-63.
13. Macieira S. Aspectos microbiológicos do *Mycobacterium leprae*. In: Opromolla DVA. *Noções de Hansenologia*. Bauru: Centro de Estudos Dr. Reynaldo Quagliato; 2000. p.13-8.
14. Martelli CMT et al. Endemias e epidemias brasileiras, desafios e perspectivas de investigação científica: hanseníase [periódico na Internet]. *Rev Bras Epidemiol.* 2002 [acesso em 15 out 2012]; 5(3):273-85. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S1415-790X2002000300006&script=sci_arttext
15. Trabulsi LR, Althertum F. *Microbiologia*. 5. ed. Rio de Janeiro: Atheneu; 2008.
16. Mendonça VA, Costa RD, Brito-Melo GE, Antunes CM, Teixeira AL. Imunologia da hanseníase. *An. Bras. Dermatol.* 2008;83(4):343-50.
17. Araújo MG. Hanseníase no Brasil [periódico na Internet]. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.*; 2003 [acesso em 19 set 2012]; 36(3):373-82. Disponível em: <http://www.scielo.br/pdf/rsbmt/v36n3/16339.pdf>
18. Ridley DS, Jopling WH. Classification of leprosy according to immunity. A five-group system. *Int J Lepr Other Mycobact Dis.* 1966;34(3):255-73.
19. Ministério da Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. *Guia de procedimentos técnicos: baciloscopia em hanseníase*. Brasília: Ministério da Saúde; 2010.
20. Bakker MI, Hatta M, Kwenang A, Faber WR, Van Beers SM, Klatser PR et al. Population survey to determine risk factors for *Mycobacterium leprae* transmission and infection. *Int J Epidemiol.* 2004;33(6):1329-36.
21. Boechat N, Pinheiro LCS. A hanseníase e sua quimioterapia [periódico na Internet]. *Rev Virtual Quim.*; 2012 [acesso em 14 out 2012];4(3):247-56. Disponível em: <http://www.uff.br/RVQ/index.php/rvq/article/viewFile/236/243>
22. Opromolla DVA, Arruda OS, Fleury RN. Manutenção de tatus em cativeiro e resultados de inoculação do *Mycobacterium leprae*. *Hansen Int.* 1980;5(1):28-36.
23. Deps PD, Faria LV, Gonçalves VC, Silva DA, Ventura CG, Zandonade E. Aspectos epidemiológicos da transmissão da hanseníase em relação a exposição ao tatu [periódico na Internet]. *Hansen Int.*; 2003 [acesso em 15 out 2012];28(2):138-44. Disponível em: http://www.ilsl.br/revista/detalhe_artigo.php?id=10638
24. Macedo RE, Ferreira ABR, De Oliveira JHMC, Neumann AS, Britto CPC, Levy CMDA et al. Triatomíneos possuem potencial como vetores da hanseníase [periódico na Internet]. *Hansen Int.*; 2011 [acesso em 20 out 2012];36(1):44. Disponível em: http://www.ilsl.br/revista/detalhe_artigo.php?id=11347
25. Buhner-Sékula S. Sorologia PGL-I na hanseníase. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.* 2008;41(Supl.2):3-5.
26. Barreto JA, Nogueira MES, Diorio SM, Buhner-Sékula S. Sorologia rápida para hanseníase (teste ML Flow) em pacientes dimorfos classificados como paucibacilares pelo número de lesões cutâneas: uma ferramenta útil. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.* 2008;41(Supl.2):45-7.

27. Opromolla DVA. Noções de hansenologia. São Paulo: Centro de Estudos Dr. Reynaldo Quagliato; 2000.
28. Ura S, Barreto JA. Papel da biópsia cutânea no diagnóstico de hanseníase [periódico na internet]. *Hansen Int.*; 2004 [acesso em 06/08/2014];29(2):141-4. Disponível em: http://www.ilsl.br/revista/detalhe_artigo.php?id=10689#
29. Pardillo FE, Fajardo TT, Abalos RM, Scollard D, Gelber RH. Methods for the classification of leprosy for treatment purposes. *Clin Infect Dis.* 2007;15;44(8):1096-9.
30. Pinquier L. Histopathology of leprosy. *Ann Dermatol Venereol.* 2011;138 (11):777-81.
31. Shivaswamy KN, Shyamprasad AL, Sumathy TK, Ranganathan C, Agarwal V. Clinico histopathological correlation in leprosy. *Dermatol online j.* 2012;18(9):2.
32. Velasco D, Lozano S, Villarrubia J. Leprosy diagnosed by bone marrow aspiration. *Br. J. haematol.* 2012;160(2):121.
33. Giridhar M, Arora G, Lajpal K, Singh Chahal K. Clinicohistopathological concordance in leprosy - a clinical, histopathological and bacteriological study of 100 cases. *Indian J Lepr.* 2012;84(3):217-25.
34. Medeiros MF, Jardim MR, Vital RT, Costa Nery JA, Sales AM, Moraes MO et al. An attempt to improve pure neural leprosy diagnosis using immunohistochemistry tests in peripheral nerve biopsy specimens. *Appl Immunohistochem Mol Morphol.* 2013 May 22. [Epub ahead of print]
35. Natrajan M, Katoch K, Katoch VM, Das R, Sharma VD. Histological diagnosis of early and suspicious leprosy by in situ PCR. *Indian J Lepr.* 2012;84(3):185-94.
36. Garbino JA, Jardim MR, Marques JR W, Antunes SL, Soares CT, Heise CO et al. Projeto Diretrizes. Associação Médica Brasileira e Conselho Federal de Medicina. Hanseníase Neural Primária. Fundação Oswaldo Cruz – Rio de Janeiro, Instituto Lauro de Souza Lima – Bauru – São Paulo. Fevereiro de 2011.
37. Lastória JC. A reação de Mitsuda seriada na identificação das formas reacionais tuberculoide e dimorfa da hanseníase [tese de doutorado na internet]. Botucatu: Faculdade de Medicina UNESP; 1990 [acesso em 20 set 2012]. Disponível em: http://hansen.bvs.ilsl.br/textoc/teses/LASTORIA_JOEL_1/PDF/LASTORIA_JOEL.pdf
38. Brenan PJ. Skin test development in leprosy: progress with first-generation skin test antigens, and an approach to the second generation. *Lepr. Rev.* 2000; 71(Supl):S50-4.
39. Bazan-Furini R, Motta AC, Simão JC, Tarquinio DC, Marques Junior W, Barbosa MH et al. Early detection of leprosy by examination of household contacts, determination of serum anti-PGL-1 antibodies and consanguinity. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz.* 2011;106(5):536-40.
40. Amador MPSC, Cunha MHCM, Cruz CAV. Análise imunodiagnóstica do teste anti-PGL-I na diferenciação entre hanseníase clínica e reação hansênica pós-cura. *Cad. Saúde Colet.* 2007;15(3):357-68.
41. Geluk A, Van der Ploeg J, Teles RO, Franken KL, Prins C, Drijfhout JW et al. Rational combination of peptides derived from different Mycobacterium leprae proteins improves sensitivity for immunodiagnosis of M. leprae infection. *Clin. Vaccine Immunol.* 2008;15(3):522-33.

42. Stefani MMA. Desafios na era pós genômica para o desenvolvimento de testes laboratoriais para o diagnóstico da hanseníase. *Rev Soc Bras Med.* [periódico na Internet]. 2008 [acesso em 19 set 2013];41(Supl.2):89-94. Disponível em: <http://www.scielo.br/pdf/rsbmt/v41s2/v41s2a18.pdf>
43. Hungria EM, Oliveira RM, Souza AL, Costa MB, Souza VN, Silva EA et al. Seroreactivity to new *Mycobacterium leprae* protein antigens in different leprosy-endemic regions in Brazil. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz.* 2012;107(Supl. 1):104-11.
44. Moura RS, Calado KL, Oliveira MLW, Bühner-Sékula S. Leprosy serology using PGL-I: a systematic review. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.* 2008;41(Supl. 2):11-8.
45. Duthie MS, Truman RW, Goto W, O'Donnell J, Hay MN, Spencer JS et al. Insight toward early diagnosis of leprosy through analysis of the developing antibody responses of *Mycobacterium leprae*-infected armadillos. *Clin. Vaccine Immunol.* 2011;18(2):254-9.
46. Silva RC. Estudo do comportamento dos testes sorológicos ML FLOW e ELISA (PGL-I) em áreas endêmicas e não endêmicas de hanseníase [tese de doutorado na internet]. Belo Horizonte: Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Minas Gerais; 2008 [acesso em 22 nov 2012]. Disponível em: http://www.bibliotecadigital.ufmg.br/dspace/bitstream/handle/1843/ECJS-7F3N7T/rozana_castorina_silva.pdf?sequence=1
47. Oliveira MLW, Cavalière FAM, Maceira JMP, Bühner-Sékula S. O uso da sorologia como ferramenta adicional no apoio ao diagnóstico de casos difíceis de hanseníase multibacilar: lições de uma unidade de referência. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.* 2008;41(Supl.2):27-33.
48. Lobato J, Costa MP, Reis EM, Gonçalves MA, Spencer JS, Brennan PJ et al. Comparison of three immunological tests for leprosy diagnosis and detection of subclinical infection. *Lepr. Rev.* 2011;82(4):389-401.
49. Groathouse NA, Amin A, Marques MA, Spencer JS, Gelber R, Knudson DL et al. Use of protein microarrays to define the humoral immune response in leprosy patients and identification of disease-state-specific antigenic profiles. *Infect. Immun.* 2006;74(11):6458-66.
50. Cole ST, Eiglmeier K, Parkhill J, James KD, Thomson NR, Wheeler PR et al. Massive gene decay in the leprosy bacillus. *Nature* 2001;409(6823):1007-11.
51. Katoch VM, Lavania M, Chauhan DS, Sharma R, Hirawati, Katoch K. Recent advances in molecular biology of leprosy. *Indian J Lepr.* 2007;79(2-3):151-66.
52. Martinez AN, Ribeiro-Alves M, Sarno EN, Moraes MO. Evaluation of qPCR-based assays for leprosy diagnosis directly in clinical specimens. *PLoS Negl Trop Dis.* 2011;5(10):e1354. doi: 10.1371/journal.pntd.0001354. Epub 2011 Oct 11.
53. Goulart IM, Cardoso AM, Santos MS, Gonçalves MA, Pereira JE, Goulart LR. Detection of *Mycobacterium leprae* DNA in skin lesions of leprosy patients by PCR may be affected by amplicon size. *Arch. Dermatol. Res.* 2007; 299(5-6):267-71.
54. Martinez TS, Figueira MM, Costa AV, Gonçalves MA, Goulart LR, Goulart IMB. Oral mucosa as a source of *Mycobacterium leprae* infection and transmission, and implications of bacterial DNA

- detection and the immunological status. *Clin. microbiol. infect.* 2011;11(17):1653-8.
55. Almeida EC, Martinez AN, Maniero VC, Sales AM, Duppre NC, Sarno EN et al. Detection of *Mycobacterium leprae* DNA by polymerase chain reaction in the blood and nasal secretion of brazilian household contacts. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz.* 2004;99(5):509-11.
56. Li W, Matsuoka M, Kai M, Thapa P, Khadge S, Hagge DA et al. Real-time Real-time PCR and high-resolution melt analysis for rapid detection of *Mycobacterium leprae* drug resistance mutations and strain types. *J. Clin Microbiol.* 2012; 50(3):742-53. doi: 10.1128/JCM.05183-11.
57. Young D. Leprosy: a post-elimination research agenda. *Trends Micobiol.* 1998;6(6):217-8.

Correspondência/corresponde to:

Heloisa da Silveira Paro Pedro
Instituto Adolfo Lutz CLR, São José do Rio Preto
Rua Alberto Sufredine Bertoni, 2325, Maceno,
CEP 15060-020
São José do Rio Preto, SP – Brasil
E-mail: hsp Pedro@ial.sp.gov.br

16ª Campanha Nacional de Vacinação contra a Influenza 2014 – 22 de abril a 09 de maio de 2014 (Dia D 26 de abril)
16th National Immunization Against Influenza 2014 – 22 from april to may 9, 2014 (D-Day April 26)

Divisão de Imunização; Divisão de Doenças de Transmissão Respiratória; Instituto Adolfo Lutz
Coordenadoria de Controle de Doenças. Secretaria de Estado da Saúde, São Paulo – Brasil.

INTRODUÇÃO

A influenza é uma infecção viral aguda que afeta o sistema respiratório. É de elevada transmissibilidade e distribuição global, com tendência a se disseminar facilmente em epidemias sazonais. A transmissão ocorre por meio de secreções das vias respiratórias da pessoa contaminada ao falar, tossir, espirrar, ou pelas mãos, que após contato com superfícies recém-contaminadas por secreções respiratórias pode levar o agente infeccioso direto à boca, olhos e nariz.

Os vírus influenza são da família dos Ortomixovírus e subdividem-se em três tipos: A, B e C, de acordo com sua diversidade antigênica, podendo sofrer mutações. Os vírus A e B são responsáveis por epidemias de doenças respiratórias que ocorrem em quase todos os invernos, com duração de quatro a seis semanas, e frequentemente associadas com o aumento das taxas de hospitalização e morte.

O período de incubação dos vírus influenza varia entre um e quatro dias. A maioria das pessoas infectadas se recupera dentro de uma a duas semanas sem a necessidade de tratamento médico. No entanto, nas crianças, gestantes, puérperas, idosos e pessoas com doenças crônicas, a infecção pelo vírus influenza pode levar a formas clinicamente graves, como a pneumonia e morte.

É importante esclarecer que as manifestações clínicas envolvendo o trato respiratório muitas vezes são causadas por numerosos outros tipos de vírus, como o rinovírus (resfriado comum) e o vírus sincicial respiratório. A circulação desses vírus também é frequente durante o período de circulação do vírus influenza (inverno), mas eles não são prevenidos pela vacina, que é específica para as cepas do vírus influenza incluídas na sua composição.

Em consonância com o Protocolo de Tratamento de Influenza estabelecido pelo Ministério da Saúde (MS) em 2013, considera-se caso suspeito de Síndrome Respiratória Aguda Grave (SRAG): indivíduo de qualquer idade com Síndrome Gripal (SG) caracterizada por febre de início súbito, mesmo que referida, acompanhada de tosse ou dor de garganta e pelo menos um dos seguintes sintomas: cefaleia, mialgia ou artralgia, na ausência de outro diagnóstico específico; e que apresente dispneia, ou os seguintes sinais de gravidade: saturação de O₂ < 95% em ar ambiente; sinais de desconforto respiratório ou aumento da frequência respiratória avaliada de acordo com a idade; piora nas condições clínicas da doença de base; hipotensão em relação à pressão arterial habitual do paciente.

No Estado de São Paulo, até 29 de dezembro de 2013 (SE 52), foram notificados 14.333 casos de SRAG hospitalizados, sendo que 19,3% (2.763)

foram casos confirmados para o vírus influenza, 71,4% (1.973) confirmados para o vírus influenza A (H1N1) pdm 09, 5,6% (154) confirmados para o vírus influenza A sazonal e 21,3% (588) confirmados para o vírus influenza B.

Foram registrados 1.797 óbitos por SRAG hospitalizados, destes 477 (26,5%) identificados para o vírus influenza, sendo que 84,9% (405) foram confirmados para o vírus influenza A (H1N1) pdm09; 3,8% (18) para o A (H3) sazonal; 9,0% (43) para o B sazonal e 2,3% (11) para o A não subtipado.

Dentre todos os óbitos por SRAG hospitalizados por influenza A (H1N1) pdm09, 285 (70,4%) apresentavam pelo menos uma comorbidade, incluindo cinco gestantes, além de quatro gestantes sem comorbidade.

Ainda dentre todos os óbitos por SRAG hospitalizados por influenza A (H1N1), quanto à situação vacinal, 286 (71%) óbitos possuíam informação, sendo 257 (90%) não vacinados, 29 (10%) vacinados. Dentre os vacinados, 5 (17,2%) apresentaram data de vacinação inferior a 15 dias, 11 (37,9%) sem registro de data, 10 (34%) adequadamente vacinados, 3 (10,2%) vacinados em 2012.

A vacinação dos grupos prioritários é fundamental como uma estratégia de prevenção, para a redução da ocorrência da doença, internações e óbitos.

CAMPANHA DE VACINAÇÃO CONTRA A INFLUENZA

As Campanhas Nacionais de vacinação com a vacina influenza são realizadas no país desde o ano de 1999. No primeiro ano foi contemplada apenas a população de idosos a partir de 65 anos de idade, estendendo-se, já no ano seguinte, para idosos a partir de 60 anos de idade.

Em 2014, em todo o país, o público-alvo será cerca de 49,6 milhões de pessoas, e está prevista a distribuição de 53,5 milhões de doses da vacina influenza, considerando-se a perda técnica e os ajustes para distribuição que visam garantir o abastecimento de mais de 65 mil postos de vacinação, representando um custo de R\$ 469,2 milhões.

Em São Paulo, a população-alvo será de 11.842.222 pessoas:

- Crianças de 6 meses a menores de 2 anos de idade: 915.315
- Crianças de 2 anos a menores de 5 anos de idade: 1.602.767
- Trabalhadores de saúde: 1.065.556
- Gestantes: 457.658
- Puérperas: 75.231
- Indígenas: 4.688
- Pessoas com 60 anos ou mais de idade: 4.841.080
- Comorbidades: 2.637.169
- Privados de liberdade e funcionários do sistema prisional: 242.759
- Total: 11.842.222 pessoas

Durante a campanha de vacinação contra a influenza, em 2013, foram vacinadas 9.007.349 pessoas. Foram administradas 6.609.923 doses da vacina influenza nos grupos prioritários (crianças, gestantes, trabalhadores de saúde, puérperas, idosos, indígenas e população privada de liberdade) e 2.397.426 doses nos grupos com comorbidades.

A cobertura vacinal, de acordo com o grupo populacional vacinado, está demonstrada na tabela 1 e a de doses da vacina influenza, segundo o grupo de comorbidade, na tabela 2.

Tabela 1. Distribuição da população, doses e cobertura vacinal na Campanha Nacional de Vacinação contra a influenza, segundo grupos prioritários. ESP, 2013

Grupos Prioritários*	População	Doses	Cobertura vacinal
Crianças	915.493	905.684	98,93
Trabalhadores da Saúde	800.468	968.687	121,02
Gestantes	457.751	409.111	89,37
Puérperas	75.225	86.495	114,98
Indígenas	4.628	5.763	124,52
Idosos	4.841.080	4.234.183	87,46
Total	7.094.645	6.609.923	93,17

*Exceto população privada de liberdade (127.563 doses da vacina influenza)

Disponível em:

http://pni.datasus.gov.br/consulta_Influenza_13_selecao.asp?naofechar=N&enviar=ok&grupo=todos&faixa=todos&sel=coberturas

Fonte: PNI Sistema de Informação do Programa Nacional de Imunizações

Tabela 2. Distribuição das doses da vacina influenza na Campanha Nacional de Vacinação contra a influenza, segundo grupos com comorbidades. ESP, 2013

Grupos com Comorbidades	Doses aplicadas
Doença respiratória crônica	1.412.492
Doença cardíaca crônica	306.957
Doença renal crônica	41.303
Doença hepática crônica	28.522
Doença neurológica crônica	98.655
Diabetes	324.046
Obesos	51.915
Imunossupressão	123.621
Transplantados	9.915
Total	2.397.426

Disponível em: http://pni.datasus.gov.br/consulta_Influenza_13_selecao.asp?naofechar=N&enviar=ok&grupo=todos&faixa=todos&sel=doses02

Fonte: PNI Sistema de Informação do Programa Nacional de Imunizações.

A Campanha Nacional de Vacinação será realizada no período de 22 de abril a 09 de maio, sendo o dia 26 de abril (sábado) o “Dia D”.

Vacina Influenza

Para 2014, a vacina influenza (fragmentada e inativada) a ser utilizada é trivalente e tem a seguinte composição:

- Vírus similar ao vírus influenza A/California/7/2009 (H1N1)pdm09

- Vírus similar ao vírus influenza A/Texas/50/2012 (H3N2)
- Vírus similar ao influenza B/Massachusetts/2/2012

Grupos prioritários a serem vacinados

- Crianças de 6 meses a menores de 5 anos de idade. Deve ser considerado o esquema de duas doses para as crianças menores de 5 anos de idade que serão vacinadas pela primeira vez ou que desconhecem estado vacinal, devendo-se agendar a segunda dose para 30 dias após a 1ª dose. Todas as crianças que receberam uma ou duas doses da vacina da influenza sazonal anteriormente devem receber apenas uma dose em 2014.
- Gestantes em qualquer período da gestação;
- Puérperas: mulheres no período até 45 dias após o parto;
- Indivíduos com 60 anos ou mais de idade;

- Trabalhadores da saúde dos serviços públicos e privados;
- Indígenas; a vacinação será indiscriminada para toda a população indígena a partir de 6 meses de idade;
- Pessoas portadoras de doenças crônicas (conforme listagem definida pelo Ministério da Saúde em conjunto com sociedades científicas). As pessoas com doença crônica poderão ser vacinadas mediante indicação ou receita médica;
- População privada de liberdade e funcionários do sistema prisional das penitenciárias vinculadas

à Secretaria da Administração Penitenciária (SAP/ESP).

Esquema de vacinação

A vacinação é anual. A tabela abaixo detalha o esquema de vacinação para as crianças que estarão recebendo a vacina pela primeira vez (Tabela 3).

Vias de administração

A vacina deve ser aplicada pela via intramuscular.

Conservação

A vacina deve ser armazenada e transportada entre +20C e +80C. Não deve ser congelada.

Tabela 3 Esquema vacinal, número de doses e volume

Idade	Número de doses	Volume por dose	Intervalo
Crianças de 6 meses a 2 anos de idade	2 doses	0,25 ml	Intervalo mínimo de 4 semanas.
Crianças de 3 a 8 anos de idade	2 doses	0,5 ml	Intervalo mínimo de 4 semanas.
Crianças a partir de 9 anos de idade e adultos	Dose única	0,5 ml	–

Fonte: CGPNI/DEVEP/SVS/MS

Quadro 1. Composição, apresentação, dose, utilização após abertura do frasco

Laboratório Produtor	Apresentação	Composição/dose de 0,5 MI	Utilização após abertura do frasco	Imunobiológico/ ilustração
Butantan/Sanofi Pasteur	Frasco - ampola multidose/10 doses de 0,5 mL (Fabricada pela Sanofi Pasteur – França, importada pelo Instituto Butantan). Suspensão injetável.	A/Califórnia/7/2009(H1N1) pdm 09, A/Texas/50/2012, B/Massachusetts/2/ 2012, timerosal, solução tampão (cloreto de sódio, cloreto de potássio, fosfato de sódio dibásico, fosfato de potássio monobásico e água para injeção), traços de neomicina, de triton X-100 e de formaldeído.	Pode ser utilizada no máximo até 7 (sete) dias desde que mantidas as condições assépticas e a temperatura entre +2°C e +8°C.	
Butantan/Sanofi Pasteur	Frasco - ampola multidose/ 10 doses de 0,5 mL (Produzida pela Sanofi Pasteur – EUA, importada pelo Instituto Butantan). Suspensão injetável.	A/Califórnia/7/2009(H1N1) pdm 09, A/Texas/50/2012(H3N2), B/Massachusetts/2/ 2012, timerosal, gelatina, solução tampão fosfato (cloreto de sódio, fosfato de sódio dibásico anidro, fosfato de sódio monobásico anidro e água para injeção), traços de sacarose, de triton X-100 e de formaldeído.	Pode ser utilizado até a data de validade impressa na embalagem, desde que mantidas as condições assépticas e a temperatura entre +2°C e +8°C.	
Instituto Butantan	Frasco - ampola multidose/ 10 doses de 0,5 mL Suspensão injetável.	A/Califórnia/7/2009(H1N1) pdm 09, A/Texas/50/2012(H3N2), B/Massachusetts/2/ 2012, timerosal, solução fisiológica tamponada (cloreto de sódio, cloreto de potássio, fosfato de sódio dibásico di-hidratado, fosfato de potássio monohidratado, água para injetáveis), formaldeído, traços neomicina e de triton X-100.	Pode ser utilizado até a data de validade impressa na embalagem, desde que mantidas as condições assépticas e a temperatura entre +2°C e +8°C.	

Administração simultânea com outras vacinas ou medicamentos

A vacina influenza pode ser administrada simultaneamente com outras vacinas ou medicamentos.

Nota aos doadores de sangue

De acordo com a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa, que aprova o regulamento técnico de procedimentos hemoterápicos, é orientado que sejam tornados inaptos temporariamente, pelo período de 48 horas, os candidatos elegíveis à doação que tiverem sido vacinados contra influenza.

Eficácia e duração da proteção

Em adultos jovens saudáveis, a proteção da vacina influenza é cerca de 70 a 90%. A detecção de anticorpos protetores ocorre geralmente cerca duas semanas após a vacinação, e o pico máximo de anticorpos 4 a 6 semanas. A proteção conferida pela vacinação é de aproximadamente 6 a 12 meses.

Em estudo controlado randomizado, a eficácia vacinal na prevenção de doença respiratória aguda confirmada por laboratório, para as pessoas com 60 anos ou mais de idade, é de 58% (IC95%; 26 a 77%). No entanto, os reais benefícios da vacina estão na capacidade de prevenir a pneumonia viral primária ou bacteriana secundária, a hospitalização e a morte, principalmente em pessoas com doenças crônicas cardiovasculares e pulmonares. Nessas situações a proteção é cerca de 70%.

Em um estudo randomizado realizado nos EUA, no período de 1985-1990, entre crianças

e adolescentes entre 1 e 15 anos de idade, observou-se uma efetividade para o vírus influenza A, que variou entre 77 a 91%. Um estudo caso-controlado realizado no período de 2003 a 2004, em crianças entre 6 e 59 meses de idade, a efetividade foi de 49%. Em uma revisão sistemática da literatura, a efetividade para as crianças maiores de 2 anos de idade, foi de 59%.

A vacinação contra o vírus influenza em gestantes é uma estratégia eficaz de proteção para a mãe e o lactente. Em estudo randomizado controlado, entre as gestantes vacinadas no primeiro trimestre, observou-se uma redução de 29% de doença respiratória aguda. Os lactentes de mães vacinadas, em comparação com um grupo controle, apresentaram uma redução de 63% (IC 95%: 5-85%) de doença respiratória aguda, confirmado por laboratório. Todas as mães estavam amamentando os seus filhos (duração média de 14 semanas).

A duração da proteção após a vacinação é cerca de 6 a 12 meses.

Contraindicações

- A vacina influenza está contraindicada nas seguintes situações:
- Pessoas com história de reação anafilática prévia ou alergia grave relacionada a ovo de galinha e seus derivados, assim como a qualquer componente da vacina;
- Pessoas que apresentaram reações anafiláticas graves a doses anteriores também contraindicam doses subsequentes.

Precauções

- Em doenças agudas febris moderadas ou graves, recomenda-se adiar a vacinação até a resolução do quadro;
- Para pessoas com história pregressa de Síndrome de Guillain Barré (SGB) recomenda-se avaliação médica criteriosa, observando-se o risco-benefício da vacina.

Vigilância dos eventos adversos pós-vacinação

A vacina influenza tem um perfil de segurança excelente e é bem tolerada. É constituída por vírus inativados, o que significa que contém somente vírus mortos que não causam a doença. Os processos agudos respiratórios (gripe e resfriado) após a administração da vacina, significam processos coincidentes e não estão relacionados com a vacina. Entende-se por evento adverso pós-vacinação (EAPV) todo agravo à saúde relacionado temporalmente à vacinação, causado ou não pela vacina administrada. Esses eventos podem ser relacionados à composição da vacina, aos indivíduos vacinados, à técnica de aplicação ou à coincidência com outros agravos.

Manifestações locais: as manifestações locais como dor e sensibilidade no local da injeção, eritema e endureção ocorrem em 10% a 64% dos pacientes, sendo benignas e autolimitadas geralmente resolvidas em 48 horas. Em quase todos os casos há uma recuperação espontânea, não requerendo atenção médica. Os abscessos normalmente encontram-se associados com infecção secundária ou erros na técnica de aplicação.

Manifestações sistêmicas: é possível também que apareçam manifestações gerais leves como febre, mal estar e mialgia que podem começar

entre 6 e 12 horas após a vacinação e persistir por um a dois dias. As reações anafiláticas são raras e podem ser devidas à hipersensibilidade a qualquer componente da vacina. As reações anafiláticas graves relacionadas a doses anteriores também contraindicam doses subsequentes.

Manifestações neurológicas: raramente algumas vacinas de vírus vivos atenuados ou mortos podem anteceder a Síndrome de Guillain Barré (SGB), que se manifesta clinicamente como polirradiculoneurite inflamatória com lesão de desmielinização, parestesias e déficit motor ascendente de intensidade variável. Geralmente, os sintomas aparecem entre 1 a 21 dias, no máximo até 6 semanas após a exposição ao possível agente desencadeante. Observou-se associação da SGB, após a utilização da vacina contra influenza suína, que não é mais utilizada. A vacinação de pessoas com antecedente de SGB deve ser discutida com o médico do paciente, observando-se o risco-benefício da vacina.

Notificação: notificar os eventos adversos graves em até 24 horas:

- reação anafilática;
- manifestações neurológicas.

A exemplo do que já é orientado para as outras vacinas, na ocorrência das seguintes situações abaixo, com o objetivo de afastar qualquer associação com a vacina, a notificação também deverá ser realizada em 24 horas:

- hospitalização por 24 horas;
- disfunção ou incapacidade significativa e/ou persistente (sequela);
- evento que resulte em anomalia congênita;
- risco de morte;
- óbito.

A notificação deverá ser realizada para a Central/CVE/CCD/SES-SP, pelo telefone 0800555466 ou pela notificação online: www.cve.saude.sp.gov.br/htm/notifica_rapi.htm

VACINA PNEUMOCÓCICA

Composição, apresentação, dose e conservação

- A vacina é 23-valente contendo em cada dose 25µg de antígeno polissacarídico purificado de cada um dos seguintes sorotipos do pneumococo: 1, 2, 3, 4, 5, 6B, 7F, 8, 9N, 10A, 11A, 12F, 14, 15B, 17F, 18C, 19A, 19F, 20, 22F, 23F, 33F;
- Contém fenol como conservante e solução tampão isotônico;
- É apresentada em embalagem com seringa agulhada, contendo uma dose de 0,5 ml, pronta para aplicação;
- Deve ser conservada entre 2 a 8° C e não pode ser congelada.

Imunogenicidade de duração da proteção

Cerca de 2 a 3 semanas após a vacinação é detectado aumento de anticorpos séricos em 80% dos adultos jovens, podendo esta resposta não ser consistente para todos os 23 sorotipos da vacina. Em idosos essas concentrações de anticorpos são inferiores, observando-se proteção de cerca de 75% para as doenças

invasivas causadas pelos sorotipos incluídos na vacina.

Esquema de administração e via de aplicação

Durante a Campanha de Vacinação, a vacina contra o pneumococo será administrada nas seguintes indicações:

- Pessoas com 60 anos ou mais de idade, hospitalizados e ou residentes em instituições (asilos, casas de repouso);
- doenças crônicas cardiovasculares, pulmonares, renais, metabólicas (*diabetes mellitus*), hepáticas e hemoglobinopatias;
- imunodeprimidos: transplantados, com neoplasias, infectados pelo HIV.

Nesse momento, não se recomenda a revacinação para as pessoas imunocompetentes que recebam esta vacina pela primeira vez com 65 anos e mais de idade.

Cada dose da vacina corresponde a 0,5 ml e a via de administração é a intramuscular ou subcutânea.

Contraindicações e precauções

- Reação anafilática em doses anteriores ou a qualquer componente da vacina.
- Pessoas que atualmente estejam com 60 anos e mais e que receberam esta vacina há menos de 3 anos, não deverão ser revacinadas pela possibilidade de eventos adversos.

Situações em que se recomenda o adiamento da vacinação

- doenças agudas febris graves, recomenda-se adiar a vacinação até a resolução do quadro

Eventos adversos

- Manifestações locais 1 a 2 dias após a aplicação.
- Manifestações sistêmicas como febre, geralmente baixa, astenia, cefaleia, mialgia podem ocorrer em 1% dos casos. Há relatos de raros casos de celulite no local da aplicação. Na revacinação, as reações são mais importantes, sendo relatadas em até 50% dos casos.
- Manifestações graves, como anafilaxia, são extremamente raras.

VACINA DIFTERIA E TÉTANO (dT)

Composição, apresentação, dose e conservação

- Cada dose da vacina é composta dos toxoides diftérico e tetânico, contendo timerosal como conservante e hidróxido ou fosfato de alumínio como adjuvante.
- A concentração do toxoide tetânico é a mesma das vacinas DPT ou DT (dupla tipo infantil), porém a concentração do toxoide diftérico é menor em relação a estas vacinas.
- A vacina deve ser conservada sob temperaturas de +2 a +8° C e não pode ser congelada.

- A apresentação é em frascos contendo 10 doses, cada dose corresponde a 0,5 ml.

Imunogenicidade e duração da proteção

A vacina dupla adulto é altamente eficaz após a série primária de três doses, apresentando proteção superior a 95% nos indivíduos vacinados. No entanto, essa imunidade não é permanente, sendo necessária uma dose de reforço a cada 10 anos.

Esquema de administração e via de aplicação

O esquema completo consiste de três doses administradas com dois meses de intervalo entre elas (mínimo de 30 dias), ou duas doses com intervalo de dois meses (mínimo de 30 dias) e a 3ª dose de 4 a 6 meses após a 2ª dose. Recomenda-se uma dose de reforço a cada dez anos a partir da 3ª dose, salvo situações de ferimentos profundos e/ou contaminados, quando o intervalo é de cinco anos.

Não haverá necessidade de reiniciar o esquema para as pessoas que apresentarem comprovação de uma ou duas doses de vacinação contra o tétano.

Deve-se apenas completar o esquema. A via de administração é intramuscular profunda.

Contraindicações e precauções

- Nas raras situações de anafilaxia em dose anterior.
- Esta vacina não está contraindicada aos portadores de imunodeficiência ou neoplasias malignas, por não conter microrganismos vivos.

Situações em que se recomenda o adiamento da vacinação

- doenças agudas febris graves, recomenda-se adiar a vacinação até a resolução do quadro.

Eventos adversos

- manifestações locais como discreta dor local, eritema e edema são frequentes. Reações locais mais significativas, tais como edema acentuado, são encontradas

em menos de 2% dos vacinados e podem estar relacionadas a altas concentrações de anticorpos circulantes decorrentes de doses anteriormente aplicadas.

- manifestações sistêmicas como febre podem ocorrer em menos de 1% dos vacinados, raramente observando-se temperaturas elevadas. Cefaleia, mal-estar e mialgia ocorrem com menor frequência.
- anafilaxia e manifestações neurológicas são extremamente raras.

Quadro 2. Comorbidades com indicações para aplicação da vacina influenza

Categoria de risco clínico	Indicações
Doença respiratória crônica	Asma em uso de corticoide inalatório ou sistêmico (Moderada ou Grave); DPOC; Bronquioectasia; Fibrose Cística; Doenças Intersticiais do pulmão; Displasia broncopulmonar; Hipertensão arterial Pulmonar; Crianças com doença pulmonar crônica da prematuridade.
Doença cardíaca crônica	Doença cardíaca congênita; Hipertensão arterial sistêmica com comorbidade; Doença cardíaca isquêmica; Insuficiência cardíaca.
Doença renal crônica	Insuficiência Renal Crônica Grave; Síndrome nefrótica; Paciente em diálise.
Doença hepática crônica	Atresia biliar; Hepatites crônicas; Cirrose.
Doença neurológica crônica	Condições em que a função respiratória pode estar comprometida pela doença neurológica; Considerar as necessidades clínicas individuais dos pacientes incluindo: AVC, Indivíduos com paralisia cerebral, esclerose múltipla e condições similares; Doenças hereditárias e degenerativas do sistema nervoso ou muscular; Deficiência neurológica grave.
Diabetes	<i>Diabetes Mellitus</i> tipo I e tipo II em uso de medicamentos.
Imunossupressão	Imunodeficiência congênita ou adquirida Imunossupressão por doenças ou medicamentos
Obesos	Obesidade grau III (IMC > 40 para adultos; IMC ≥ 35 de 10 a 18 anos; IMC ≥ 25 para menores de 10 anos)
Transplantados	Órgãos sólidos; Medula óssea.
Portadores de trissomias	Síndrome de Down e outras síndromes

Fonte: Ministério da Saúde

Referências

1. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Programa Nacional de Imunizações. Informe Técnico “Campanha Nacional de Vacinação contra Influenza 2014”.
2. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Programa Nacional de Imunizações. Manual dos Centros de Referência para Imunobiológicos Especiais. 3. ed. Brasília, 2007.
3. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Programa Nacional de Imunizações. Manual de Eventos Adversos Pós-Vacinação. 2. Ed. Brasília, 2008.
4. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância das Doenças Transmissíveis. Protocolo de tratamento de influenza 2013. Brasília, 2013.
5. CDC. Prevention and control of influenza with vaccines. Recommendations of the Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP), 2013. MMWR 2010;59(RR-8):1-63.
6. CDC. Prevention and control of seasonal influenza with vaccines: recommendations of the advisory committee on immunization practices (ACIP), 2013. MMWR 2013;62(RR-07):1-43.
7. Daufenbach LZ et al. Morbidade hospitalar por causas relacionadas à influenza em idosos no Brasil, 1992 a 2006. Epidemiol Serv Saúde 2009;18(1):29-44.
8. Englund JA, Walter EB, Fairchock MP, Monto AS, Neuzil KM. A comparison of 2 influenza vaccine schedule in 6 to 23 month old children. Pediatrics 2005;115:1039-47.
9. Jefferson T, Rivetti A, Harnden A et al. Vaccines for preventing influenza in healthy children. Cochrane Database Syst Rev 2008:CD004879.
10. Negri et al. Influenza vaccine in healthy children: a meta-analysis. Vaccine 2005;23:2851-61.
11. Neuzil KM, Dupont WD, Wright PF et al. Efficacy of inactivated and cold-adapted vaccine against influenza A infection, 1985 to 1990: the pediatric experience. Pediatr Infect Dis J 2001;20:733-40.
12. Nichol KL et al. Influenza vaccination and reduction in hospitalizations for cardiac disease and stroke among the elderly. N Engl J Med 2003;348:1322-32.
13. Mullooly JP et al. Influenza vaccination programs for elderly persons: cost-effectiveness in a health maintenance organization. Ann Intern Med 1994;121:947-52.
14. Osterholm M, Kelly NS, Sommer A, Belongia E. Efficacy and effectiveness of influenza vaccines: a systematic review and meta-analysis. Lancet Infectious Dis. 2012;12:36-44.
15. São Paulo. Secretaria de Estado da Saúde de São Paulo. Centro de Vigilância Epidemiológica “Prof. Alexandre Vranjac”. Informe técnico: 16a campanha nacional de vacinação contra a influenza, 2014. [acesso em 8 de fevereiro de 2014]. Disponível em: ftp://ftp.cve.saude.sp.gov.br/doc_tec/imuni/INFLUENZA14_IF_TECNICO.pdf
16. Steinhoff MC et al. Influenza immunization in pregnancy-antibody responses in mothers and infants. N England J Med 2010;362:1644-6.
17. Shuler CM, Iwamoto M, Bridges CB et al. Vaccine effectiveness against medically attended, laboratory-confirmed influenza among children aged 6 to 59 months, 2003-2004. Pediatrics 2007;119:e587-95.
18. Zaman K et al. Effectiveness of maternal influenza immunization in mothers and infants. N Engl J Med 2008;359:155-64.

Correspondência/Correspondence to:

Divisão de Imunizações – Av. Dr. Arnaldo, 351 – 6º andar – CEP: 01246-000 – Pacaembu
Tel: 55 11 3066-8781 – E-mail: dvimuni@saude.sp.gov.br

Surto de intoxicação por histamina associado ao consumo de atum em conserva no Estado de São Paulo, Brasil

Emy Takemoto¹; Warley Pinheiro Evangelista^{II}; Regina S. Minazzi-Rodrigues¹; Deise Aparecida Pinati Marsiglia¹; Carlos Augusto Fernandes de Oliveira^{III}; Maria Beatriz Abreu Glória^{II}

¹Instituto Adolfo Lutz/Laboratório Central. Coordenadoria de Controle de Doenças. Secretaria de Estado da Saúde, São Paulo – SP, Brasil; ^{II}Laboratório de Bioquímica de Alimentos, Faculdade de Farmácia da Universidade Federal de Minas Gerais – UFMG, Belo Horizonte – MG, Brasil; ^{III}Laboratório de Microbiologia e Micotoxicologia de Alimentos, Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos da Universidade de São Paulo – FZEA/USP, Pirassununga – SP, Brasil.

RESUMO

Atuns e afins da família *Scombridae* são particularmente susceptíveis à formação de histamina por conterem grandes quantidades de histidina livre no tecido muscular. Esses peixes estão frequentemente associados a surtos de intoxicação histamínica em diversos países. Considerando que a presença de histamina representa um risco à saúde humana, o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), pela Instrução normativa nº 46/2011, estabeleceu um nível de tolerância para histamina em conservas de atuns e bonitos (100 mg/kg). Neste trabalho relata-se um surto de intoxicação histamínica causado por atum (em conserva) ocorrido em abril de 2013, em uma escola do município de São Paulo, SP (Brasil) que acometeu diversas crianças após a ingestão da refeição do dia (almoço). Foram analisadas quanto ao teor de histamina as seguintes amostras: atum ralado com óleo comestível e caldo vegetal em conserva refogado com temperos (preparado na escola), uma embalagem original fechada de atum ralado com óleo comestível e caldo vegetal em conserva, do mesmo lote utilizado no refogado, e uma embalagem original de atum ralado com óleo comestível e caldo vegetal em conserva violada contendo fragmentos de atum. Não foi detectada histamina no produto com embalagem original fechada. Já no atum preparado e nos fragmentos de atum da embalagem, os teores foram de 1076,5 e 1534,7 mg/kg, respectivamente. Esses resultados são coerentes com os sintomas relatados na investigação do surto (manchas vermelhas ao redor da boca e face, edema ao redor dos olhos). Os dados sugerem que pode ter ocorrido uma contaminação cruzada e/ou estocagem em temperatura abusiva após o preparo, uma vez que a amostra do mesmo lote que estava intacta não continha histamina. Com este trabalho, pôde-se confirmar a intoxicação histamínica das pessoas acometidas devido ao consumo de altos teores de histamina presente no alimento preparado à base de atum em conserva.

PALAVRAS-CHAVE: Histamina. Intoxicação. Peixe.

INTRODUÇÃO

Atuns e afins da família *Scombridae* são particularmente susceptíveis à formação de histamina por conterem grandes quantidades de histidina livre no tecido muscular. Esses peixes estão frequentemente associados a surtos de intoxicação histamínica em diversos países. No Brasil, os casos de intoxicação histamínica são pouco relatados, provavelmente devido à dificuldade de associar os sintomas à intoxicação histamínica, ou também pelo fato das pessoas acometidas não procurarem atendimento médico. Mundialmente têm-se tomado medidas ou procedimentos para evitar a formação de histamina em pescado a fim de assegurar a proteção à saúde do consumidor e a qualidade do alimento.¹ A formação de histamina nos alimentos está condicionada à disponibilidade de aminoácidos livres, à presença de microrganismos descarboxilase positivos e, também, às condições de temperatura e higiênico-sanitárias favoráveis para o crescimento bacteriano e síntese e ação de enzimas descarboxilantes.² Considerando que a presença de histamina representa um risco à saúde humana, o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA),³ pela Instrução normativa nº 46/2011, estabeleceu um nível de tolerância para histamina em conservas de atuns e bonitos (100 mg/kg). Em abril de 2013, houve um surto de intoxicação alimentar em uma escola do município de São Paulo, que acometeu diversas crianças após a ingestão da refeição do dia (almoço), com sintomas que sugeriam uma intoxicação histamínica. O objetivo deste trabalho foi buscar informações sobre o surto e investigar os alimentos suspeitos, bem como se os níveis de histamina encontrados seriam capazes de causar intoxicação histamínica.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram analisadas três amostras, todas coletadas pela Vigilância Sanitária do município onde ocorreu o surto: (i) amostra proveniente de embalagem original fechada de atum ralado com óleo comestível e caldo vegetal em conserva, (ii) amostra do atum preparado (atum ralado com óleo comestível e caldo vegetal temperado) e (iii) embalagem original violada contendo fragmentos de atum.

A determinação dos teores de histamina foi realizada por cromatografia líquida de alta eficiência por par iônico em coluna de fase reversa C18, derivação pós coluna com *o*-ftalaldeído e detecção fluorimétrica no Laboratório de Bioquímica de Alimentos, UFMG, segundo Silva.⁴

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Das 77 crianças que ingeriram a merenda na escola, 18 (23%) apresentaram, imediatamente após o consumo, manchas vermelhas ao redor da boca e face, sendo que uma das crianças apresentou edema ao redor dos olhos. Esses sintomas são compatíveis com a intoxicação histamínica.⁵

Além das crianças, 8 adultos almoçaram, porém somente uma professora referiu sentir um gosto “picante” associado ao refogado de atum. Dentre as amostras encaminhadas para análise, que fizeram parte da refeição, foram analisadas quanto ao teor de histamina: atum ralado com óleo comestível e caldo vegetal em conserva refogado com temperos (preparado na escola), uma embalagem original fechada de atum ralado com óleo comestível e caldo vegetal em

conserva, do mesmo lote utilizado no refogado, e uma embalagem original de atum ralado com óleo comestível e caldo vegetal em conserva violada contendo fragmentos de atum.

Não foi detectada histamina na embalagem original fechada. Já no atum preparado e nos fragmentos de atum os teores foram de 1.076,5 e 1.534,7 mg/kg, respectivamente (Tabela 1). Esses teores de histamina encontrados nas amostras estão muito acima – cerca de 10 a 15 vezes – do limite máximo estabelecido pelo MAPA, de 100 mg/kg, para atum em conserva.³ Esses resultados são coerentes com a descrição dos sintomas relatados na investigação do surto – edema na face – e sugerem que pode ter ocorrido uma contaminação cruzada e/ou estocagem em temperatura abusiva após o preparo, uma vez que a amostra do mesmo lote que estava intacta não continha histamina.

Em 2010, Evangelista⁵ relatou três surtos de intoxicação histamínica na região nordeste do Brasil, entre janeiro de 2007 e dezembro de 2009. Nos três casos, o peixe envolvido era atum. Tais amostras eram provenientes de diferentes estabelecimentos comerciais da cidade de Natal/RN e suspeitas de causarem surtos de intoxicação por histamina. As amostras incriminadas continham histamina em teores de 3.701,8; 750,4 e 1.565,5 mg/kg. Nesses surtos, um total de 25 pessoas foram acometidas e apresentaram os seguintes sintomas: febre, cefaleia, diarreia,

cólica, manchas vermelhas na pele, náuseas, dispneia e taquicardia. Os sintomas começaram a aparecer cerca de uma hora após a ingestão do alimento. De acordo com Mclauchlin et al.,⁶ os sintomas aparecem a partir de 10 minutos a 2 horas após a ingestão de peixes. No caso do surto relatado neste trabalho, as crianças apresentaram os sintomas imediatamente após a ingestão do referido alimento, incluindo dentre os sintomas forte ardência na mucosa bucal, lábios e garganta.

Os relatos de casos de surto de intoxicação por histamina associado ao consumo de peixes são pouco elucidados no Brasil, sendo este o quarto caso apresentado. Esse caso ocorreu pelo consumo de atum ralado com óleo comestível e caldo vegetal em conserva temperado, com a confirmação da determinação analítica dos teores de histamina nas amostras. O elevado teor de histamina nas amostras reforça a importância de uma inspeção no estabelecimento implicado no surto para verificar as condições higiênic-sanitárias e práticas de manipulação.

CONCLUSÃO

Com a realização deste trabalho pôde-se detectar a presença de elevados níveis de histamina no alimento preparado à base de atum, confirmando a intoxicação histamínica das pessoas acometidas no surto.

Tabela 1. Nível de histamina nas amostras analisadas

Amostras analisadas	Nível de histamina (mg.kg ⁻¹)	Limite máximo estabelecido pelo MAPA para conserva de atum (mg.kg ⁻¹)
Embalagem original fechada	Não detectado	
Atum preparado	1076,5	100
Fragmentos de atum	1534,7	

REFERÊNCIAS

1. European Food Safety Authority. Manual for Reporting on zoonoses, zoonotic agents and antimicrobial resistance in the framework of Directive 2003/99/EC and of some other pathogenic microbiological agents for information derived from the reporting year 2009. EFSA Journal [periódico na internet]. 2010; 8(4):1579. [97 pp.]. doi:10.2903/j.efsa.2010.1579. [acesso em 20 jun 2013]; Disponível em: www.efsa.europa.eu/em/efsajournal/doc/1579.pdf
2. Shalaby AR. Significance of biogenic amines to food safety and human health. Food Res. Int. 1996; 29:675-90.
3. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. MAPA. Instrução Normativa n. 46, de 15 de dezembro de 2011. Aprova o regulamento técnico de identidade e qualidade para conservas de atuns e de bonitos. [acesso 25 fev 2011]. Disponível em: <http://www.agricultura.gov.br>
4. Silva TM. Otimização e validação de método para determinação de histamina em pescado [Mestrado em Ciência de Alimentos]. Belo Horizonte (MG): Universidade Federal de Minas Gerais, 2008.
5. Evangelista WP. Prevalência de histamina em peixes escombrídeos e intoxicação histamínica no Brasil de 2007 a 2009 [dissertação de mestrado]. Belo Horizonte: Universidade Federal de Minas Gerais, 2010.
6. Mclauchlin J, Little CL, Grant KA, Mithani V. Scombrototoxic fish poisoning. J. Public Health. 2005; 28(1):61-2.

Correspondência/Correspondence to:
Emy Takemoto
Av. Dr. Arnaldo, 355, Pacaembu,
cep: 01246-000
São Paulo, SP – Fax: (11) 3062-5363
Email: etakemot@ial.sp.gov.br

Histamine intoxication outbreak associated to canned tuna intake in the State of São Paulo, Brazil

Emy Takemoto¹; Warley Pinheiro Evangelista^{II}; Regina S. Minazzi-Rodrigues¹; Deise Aparecida Pinati Marsiglia¹; Carlos Augusto Fernandes de Oliveira^{III}; Maria Beatriz Abreu Glória^{II}

¹Instituto Adolfo Lutz/Laboratório Central. Coordenadoria de Controle de Doenças. Secretaria de Estado da Saúde, São Paulo – SP, Brasil; ^{II}Laboratório de Bioquímica de Alimentos, Faculdade de Farmácia da Universidade Federal de Minas Gerais – UFMG, Belo Horizonte – MG, Brasil; ^{III}Laboratório de Microbiologia e Micotoxicologia de Alimentos, Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos da Universidade de São Paulo – FZEA/USP, Pirassununga – SP, Brasil.

ABSTRACT

Tuna fish and related Scombroid fish are particularly susceptible to the formation of histamine, as they contain large amounts of free histidine in the muscle tissue. These fish are frequently associated with outbreaks of histamine poisoning in many countries. Taking into account that the presence of histamine represents a risk to human health, the Brazilian Ministry of Agriculture, Livestock and Supply (MAPA) by Normative Instruction No. 46/2011 established a tolerance level for histamine in canned tuna (100 mg.kg⁻¹). In this work, we report an outbreak of histamine poisoning caused by tuna (canned) occurred on April 2013 in a school in São Paulo, SP (Brazil), which affected several children after ingestion of the lunch meal. The following samples were analyzed for histamine content: grated tuna in edible oil and vegetable broth stir fried with seasonings (prepared at school), one original closed packaging of grated tuna in edible oil and vegetable broth, and an opened packaging with tuna fragments. Histamine was not detected in the original package closed. However, in the prepared tuna and in the fragments of tuna, the levels were 1076.5 and 1534.7 mg.kg⁻¹, respectively. These results are in accordance with the symptoms reported in the outbreak investigation (flushing around the mouth and face, edema around the eyes). The data also suggest that a cross-contamination and/or improper storage after preparation may have occurred, since the sample of the same intact batch did not contain histamine. Therefore, it was possible to confirm the histamine poisoning of the affected people was due to the consumption of high levels of histamine present in the food prepared with canned tuna fish.

KEYWORDS: Histamine. Scombroid poisoning. Fish.

INTRODUCTION

Tuna and tuna like fishes, from the *Scombridae* family, are particularly susceptible to histamine formation mainly because they contain high free-histidine levels in the muscular tissue. These fishes are often related to outbreaks of histamine intoxication in several countries. In Brazil, the cases of histamine intoxication are scarcely reported, probably due to the difficulty to associate the symptoms to histamine intoxication, or because the affected ones do not look for medical assistance. Worldwide, measures have been undertaken to avoid histamine formation in fish in order to protect the consumer's health and the quality of the food.¹ Histamine formation in foods depends on the availability of free aminoacids, decarboxilase-positive microorganisms, as well as favorable temperature and overall conditions for bacterial growth and decarboxilating enzymes' activity.²

Since histamine represents a risk to human health, the Brazilian Government (Regulation 46/2011, MAPA)³ established a tolerance level for histamine in canned tuna and tuna like fish of 100 mg/kg.

On April 2013, there was an outbreak of food poisoning in a school of São Paulo, SP, which affected several children after the daily meal (lunch), with symptoms suggesting histamine intoxication. The purpose of this work was to investigate this outbreak and to analyze the suspected foods, in order to ascertain whether histamine was the causative agent.

MATERIAL AND METHODS

Three samples were collected by the Sanitary Surveillance Service of São Paulo where the epidemics took place: (i) one grated tuna in edible oil and vegetable broth stir fried with seasonings (prepared at school), (ii) another one original closed packaging of grated tuna in edible oil and vegetable broth, and (iii) an opened packaging with tuna fragments.

The samples were analyzed for histamine levels by ion pair high performance liquid chromatography (HPLC) in a C18 reverse-phase column, post-column derivatization with *o*-phthalaldehyde and fluorimetric detection at the Laboratório de Bioquímica de Alimentos from UFMG, in accordance to Silva.⁴

RESULTS AND DISCUSSION

Out of the 77 children that had lunch at the school, 18 (23%) showed, immediately after ingestion, rash around the mouth and the face, and one of them presented additional rash around the eyes. These symptoms are compatible with histamine intoxication.⁵ Besides the children, eight adults also had lunch. However, only one female teacher mentioned to a spicy taste related to the tuna dish.

The suspected food samples were analyzed for histamine levels. No histamine was detected in the original, sealed sample. In the tuna dish, on the other hand, as well as in the tuna fragments, histamine levels were 1076.5 and 1534.7 mg.kg.⁻¹ respectively (Table 1). These

levels of histamine found in the samples are about 10 to 15 times higher than the maximum limit established by MAPA – 100 mg.kg⁻¹ for canned tuna.³ These results indicate that the levels of histamine detected and the reported symptoms are related to histamine intoxication.

The fact that the closed package from the same lot did not have histamine, suggested a possible cross-contamination of the tuna fish during preparation of the dish or storage under high temperatures after cooking.

In 2010, Evangelista⁶ reported three histamine poisoning, in Brazil's Northeast Region, which took place from 2007 to 2009. In all cases, the fish involved was tuna. The samples suspected of causing histamine intoxication outbreak came from different commercial establishments in Natal, RN. The samples contained 3701.8, 750.4, and 1565.5 mg.kg⁻¹ of histamine. Altogether, in these outbreaks, 25 people were affected and

presented the symptoms: fever, headache, diarrhea, colics, red blots on the skin, nausea, breathing troubles, and tachycardia. The symptoms began one hour after the ingestion of the food. According to Mclauchlin et al.,⁷ the symptoms from histamine poisoning appear from 10 min to 2h after fish intake. The reports of histamine intoxication outbreaks associated to fish consumption are hardly elucidated in Brazil, and this is only the fourth case presented and confirmed. It happened after the intake of seasoned, canned tuna. The symptoms were typical of histamine poisoning and laboratory results confirmed the high levels of histamine in the samples.

CONCLUSION

It was possible to detect the presence of high levels of histamine in the tuna dish incriminated, confirming the outbreak of histamine.

Table 1. Histamine levels in the samples analyzed

Samples analyzed	Histamine level (mg.kg ⁻¹)	Maximum limit established by the MAPA for canned tuna (mg.kg ⁻¹)
Original sealed sample	No detected	
Tuna dish	1076.5	100
Tuna fragments	1534.7	

REFERENCES

1. European Food Safety Authority. Manual for Reporting on zoonoses, zoonotic agents and antimicrobial resistance in the framework of Directive 2003/99/EC and of some other pathogenic microbiological agents for information derived from the reporting year 2009. EFSA Journal [electronic resources]. 2010; 8(4):1579. [97 pp.]. doi:10.2903/j.

- efsa.2010.1579.<<http://www.efsa.europa.eu/em/efsajournal/doc/1579.pdf>>accessed 20 June 2013.
2. Shalaby AR. Significance of biogenic amines to food safety and human health. *Food Res. Int.* 1996; 29:675-90.
 3. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. MAPA. Instrução Normativa n. 46, de 15 de dezembro de 2011. Aprova o regulamento técnico de identidade e qualidade para conservas de atuns e de bonitos. <<http://www.agricultura.gov.br>>accessed 25 February 2011.
 4. Silva TM. Otimização e validação de método para determinação de histamina em pescado [Mestrado em Ciência de Alimentos]. Belo Horizonte (MG): Universidade Federal de Minas Gerais, 2008.
 5. Glória MBA. Bioactive amines. In: Hui H, Nollet LL. Eds. *Handbook of Food Science, Technology and Engineering*. New York: Ed. Marcel Dekker; 2005. p. 1-38.
 6. Evangelista WP. Prevalência de histamina em peixes escombrídeos e intoxicação histamínica no Brasil de 2007 a 2009 [Mestrado em Ciência de Alimentos]. Belo Horizonte (MG): Universidade Federal de Minas Gerais, 2010.
 7. Mclauchlin J, Little CL, Grant KA, Mithani V. Scombrototoxic fish poisoning. *Journal of Public Health*. 2005; 28(1); 61-2.

Correspondência/Correspondence to:
Emy Takemoto
Av. Dr. Arnaldo, 355, Pacaembu,
São Paulo, SP – Fax: (11) 3062-5363
Email: etakemot@ial.sp.gov.br

INSTRUÇÕES AOS AUTORES

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

Missão

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

Arbitragem

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

Processo de revisão

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

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

Tipos de artigo

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

11. Republicação de artigos – são artigos publicados em outros periódicos de relevância, nacionais ou internacionais, abordando temas importantes cuja veiculação seja considerada, pelos Editores, de grande interesse à saúde.

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

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

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

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

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

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

Apresentação dos trabalhos

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

Os critérios éticos da pesquisa devem ser respeitados. Nesse sentido, os autores devem explicitar, em MÉTODOS, que a pesquisa foi concluída de acordo com os padrões exigidos pela Declaração de Helsinki e aprovada por comissão de ética reconhecida pela Comissão Nacional de Ética em Pesquisa (Conep), vinculada ao Conselho Nacional de Saúde (CNS).

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

Boletim Epidemiológico Paulista

Av. Dr. Arnaldo, 351, 1º andar, sala 133
Pacaembu – São Paulo/SP – Brasil
CEP: 01246-000
E-mail: bepa@saude.sp.gov.br

Estrutura dos textos

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Citações bibliográficas – A exatidão das referências bibliográficas é de responsabilidade dos autores. Ao longo

do artigo, o número de cada referência deve corresponder ao número sobrescrito, **colocado sem parênteses e imediatamente após a respectiva citação**. Devem ser numeradas, a partir daí, consecutivamente.

Exemplo:

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

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

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

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

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

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

Exemplos de Referências:

a) Artigos de periódicos:

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

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

b) Livros:

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

A indicação da edição é necessária a partir da segunda.

c) Capítulos de livro:

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

d) Autoria corporativa:

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

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

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

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

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

g) Documentos eletrônicos:

1. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística – IBGE [boletim na internet]. Síntese de indicadores sociais 2000 [acesso em 5 mar. 2004]. Disponível em: <http://www.ibge.gov.br>
2. Sociedade Brasileira de Pediatria. Calendário de vacinas para crianças/2008 [base de dados na internet]. Disponível em: http://www.sbp.com.br/show_item2.cfm?id_categoria=21&id_detalhe=2619&tipo_detalhe=s&print=1
3. Carvalho MLO, Pirotta KCM, Schor N. Participação masculina na contracepção pela ótica feminina. Rev Saúde Pública [periódico na internet]. 2001 [acesso em 25 maio 2004];35:23-31. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-9102001000100004&lng=pt&nrm=iso&tlng=pt

h) Legislação:

1. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. Instrução Normativa n. 62, de 26 de agosto de 2003. Oficializa os métodos analíticos oficiais para análises microbiológicas para o controle de produtos de origem animal e água. Diário Oficial da União. 18 set. 2003; Seção 1:14.

2. São Paulo (Estado). Lei n. 10.241, de 17 de março de 1999. Dispõe sobre os direitos dos usuários dos serviços e das ações de saúde no Estado e dá outras providências. Diário Oficial do Estado de São Paulo. 18 mar. 1999; Seção 1:1.

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

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

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

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

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

Instruções aos Autores atualizada em janeiro de 2014

Instruções na íntegra em /resources/ccd/homepage/bepa/instrucoes_aos_autores_2013.pdf



Acesse a versão eletrônica em:
www.ccd.saude.sp.gov.br

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

Colabore com o BEPA:
bepa@saude.sp.gov.br

