Rev Saúde Pública 2013;47(5):881-9

DOI:10.1590/S0034-8910.2013047004341

Melissa Mascheretti[I]

Ciléa H Tengan[I]

Helena Keiko Sato[I]

Akemi Suzuki[II]

Renato Pereira de Souza[II]

Marina Maeda[II]

Roosecelis Brasil[II]

Mariza Pereira[III]

Rosa Maria Tubaki[III]

Dalva M V Wanderley[III]

Carlos Magno Castelo Branco Fortaleza[IV]

Ana Freitas Ribeiro[I]

Grupo de Febre Amarela*

[I] Centro de Vigilância Epidemiológica. Secretaria de Estado da Saúde de São Paulo. São Paulo, SP, Brasil

[II] Instituto Adolfo Lutz. Secretaria de Estado da Saúde de São Paulo. São Paulo, SP, Brasil

[III] Superintendência de Controle de Endemias. Secretaria de Estado da Saúde de São Paulo. São Paulo, SP, Brasil

[IV] Universidade Estadual Paulista "Julio de Mesquita Filho". Botucatu, SP, Brasil

*A lista dos componentes do Grupo encontra-se em Agradecimentos

Correspondência | Correspondence:
Melissa Mascheretti
Rua Cardoso de Almeida, 1006/13
05013-001 São Paulo, SP, Brasil
E-mail: melissamascheretti@hotmail.com

Recebido: 3/5/2012
Aprovado: 11/6/2013

Artigo disponível em português e inglês em: www.scielo.br/rsp

Febre amarela silvestre: reemergência de transmissão no estado de São Paulo, Brasil, 2009

Yellow fever: reemerging in the state of Sao Paulo, Brazil, 2009

RESUMO

OBJETIVO: Descrever a investigação do surto de febre amarela silvestre e as principais medidas de controle realizadas no estado de São Paulo.

MÉTODOS: Estudo descritivo do surto de febre amarela silvestre na região sudoeste do estado, entre fevereiro e abril de 2009. Foram avaliados casos suspeitos e confirmados em humanos e primatas não humanos. A investigação entomológica, em ambiente silvestre, envolveu captura em solo e copa de árvore para identificação das espécies e detecção de infecção natural. Foram realizadas ações de controle de *Aedes aegypti* em áreas urbanas. A vacinação foi direcionada para residentes dos municípios com confirmação de circulação viral e nos municípios contíguos, conforme recomendação nacional.

RESULTADOS: Foram confirmados 28 casos humanos (letalidade 39,3%) em áreas rurais de Sarutaiá, Piraju, Tejupá, Avaré e Buri. Foram notificadas 56 mortes de primatas não humanos, 91,4% do gênero *Alouatta sp*. A epizootia foi confirmada laboratorialmente em dois primatas não humanos, sendo um em Buri e outro em Itapetininga. Foram coletados 1.782 mosquitos, entre eles *Haemagogus leucocelaenus*, *Hg. janthinomys/capricornii*, *Sabethes chloropterus*, *Sa. purpureus e Sa. undosus*. O vírus da febre amarela foi isolado de um lote de *Hg. leucocelaenus* procedente de Buri. A vacinação foi realizada em 49 municípios, com 1.018.705 doses aplicadas e o registro de nove eventos adversos graves pós-vacinação.

CONCLUSÕES: Os casos humanos ocorreram entre fevereiro e abril de 2009 em áreas sem registro de circulação do vírus da febre amarela há mais de 60 anos. A região encontrava-se fora da área com recomendação de vacinação, com alto percentual da população suscetível. A adoção oportuna de medidas de controle permitiu a interrupção da transmissão humana em um mês, assim como a confirmação da circulação viral em humanos, primatas não humanos e mosquitos. Os isolamentos facilitaram a identificação das áreas de circulação viral, mas são importantes novos estudos para esclarecer a dinâmica de transmissão da doença.

DESCRITORES: Febre Amarela, epidemiologia. Surtos de Doenças. Zoonoses. Reservatórios de Doenças. Vetores de Doenças. Doenças Transmissíveis Emergentes.

ABSTRACT

OBJECTIVE: To describe the investigation of a sylvatic yellow fever outbreak in the state of Sao Paulo and the main control measures undertaken.

METHODS: This is a descriptive study of a sylvatic yellow fever outbreak in the Southwestern region of the state from February to April 2009. Suspected and confirmed cases in humans and in non-human primates were evaluated. Entomological investigation in sylvatic environment involved capture at ground level and in the tree canopy to identify species and detect natural infections. Control measures were performed in urban areas to control *Aedes aegypti*. Vaccination was directed at residents living in areas with confirmed viral circulation and also at nearby cities according to national recommendation.

RESULTS: Twenty-eight human cases were confirmed (39.3% case fatality rate) in rural areas of Sarutaiá, Piraju, Tejupá, Avaré and Buri. The deaths of 56 non-human primates were also reported, 91.4% were *Alouatta sp*. Epizootics was confirmed in two non-human primates in the cities of Itapetininga and Buri. A total of 1,782 mosquitoes were collected, including *Haemagogus leucocelaenus*, *Hg. janthinomys/capricornii*, and *Sabethes chloropterus, Sa. purpureus* and *Sa. undosus*. Yellow fever virus was isolated from a group of *Hg. leucocelaenus* from Buri. Vaccination was carried out in 49 cities, with a total of 1,018,705 doses. Nine serious post-vaccination adverse events were reported.

CONCLUSIONS: The cases occurred between February and April 2009 in areas with no recorded yellow fever virus circulation in over 60 years. The outbreak region occurred outside the original recommended vaccination area with a high percentage of susceptible population. The fast adoption of control measures interrupted the human transmission within a month and the confirmation of viral circulation in humans, monkeys and mosquitoes. The results allowed the identification of new areas of viral circulation but further studies are required to clarify the dynamics of the spread of this disease.

DESCRIPTORS: Yellow Fever, epidemiology. Disease Outbreaks. Zoonoses. Disease Reservoirs. Disease Vectors. Communicable Diseases, Emerging.

INTRODUÇÃO

A febre amarela (FA) é uma doença infecciosa, endêmica nas florestas tropicais da América Latina[a] e África que provoca surtos ou epidemias com impacto para saúde pública.[18] A doença é causada por vírus da família *Flaviviridae,* gênero *Flavivírus* e transmitida pela picada de insetos hematófagos da família *Culicidae*, gêneros *Haemagogus* e *Aedes*.[11] Os ciclos urbano e silvestre são descritos classicamente. A febre amarela silvestre (FAS) ocorre em regiões de matas, onde os mosquitos são transmissores e reservatórios do vírus e infectam primatas não humanos (PNH), hospedeiros amplificadores do vírus. Ocasionalmente, ocorrem infecções em humanos suscetíveis que entram em contato com áreas de mata.[2] Manifesta-se clinicamente sob formas assintomáticas, sintomáticas leves, moderadas até formas graves e malignas. A letalidade varia de 5% a 10% e pode chegar a 60% nas formas graves.[23]

Segundo a Organização Mundial da Saúde, a FA é endêmica em 33 países da África, 23 com alto risco de epidemia.[18] Apesar da disponibilidade de uma vacina altamente eficaz, dados epidemiológicos indicam o ressurgimento de áreas de circulação do vírus na África Ocidental e nas Américas, nos últimos 20 anos.[3]

O último relato de transmissão urbana no Brasil ocorreu no estado do Acre em 1942.[5] A partir dessa data, a transmissão silvestre passou a predominar com registros de epidemias cíclicas a intervalos regulares de cinco a sete anos, alternados com pequena ocorrência de casos, padrão observado até 1997.[23]

[a] Organização Mundial de Saúde. Yellow Fever, key facts. Geneva; 2013 [citado 2013 set 16]. (Fact sheet,100). Disponível em: http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs100/en/index.html

Nota-se mudança nesse padrão com o aumento do número de casos e expansão da área de transmissão da doença, a partir de 1998, com ativação de focos em áreas até então indenes e a ocorrência de surtos nos estados do Pará e Tocantins e no Parque Nacional da Chapada dos Veadeiros, em Goiás, em 2000. Desde então, há relatos de transmissão nos estados do Acre, Amazonas, Bahia, Goiás, Minas Gerais, Mato Grosso, Pará, Tocantins e no Distrito Federal.[24]

A ocorrência de FAS se amplia no Brasil, em 2008, a partir do registro de óbitos em PNH e casos e óbitos em humanos em São Paulo[17] e Rio Grande do Sul.[21]

Os primeiros relatos no estado de São Paulo datam de 1935 nos municípios de Rifaina, Ribeirão Preto, Viradouro, Penápolis, Tanabi, Mirassol e Monte Aprazível. Em 1936, houve registro de epidemias em municípios da região da Alta Sorocabana, especialmente nas cidades de Avaré, Piraju, Assis e Itapeva, com o último surto descrito em 1953.[19,b] Após quase cinquenta anos de silêncio epidemiológico, houve a confirmação de dois casos autóctones de FAS nos municípios de Santa Albertina e Ouroeste, em 2000, e suspeita de epizootia em Miguelopólis, em 2003.[c] A circulação do vírus no estado foi confirmada em 2008 com uma epizootia nos municípios de Mendonça, Nova Aliança e Urupês e dois casos humanos autóctones em Luiz Antônio e São Carlos.[17,d] Essa expansão do vírus resultou na ampliação das áreas com recomendação de vacinação para pessoas residentes e para aqueles que para elas se deslocam.

O início da transmissão de FAS na região de Botucatu foi detectado em fevereiro de 2009, área sem recomendação de vacinação, evento que foi considerado emergência de saúde pública de importância nacional pelo Ministério da Saúde.

O objetivo deste estudo foi descrever a investigação do surto de febre amarela silvestre e as principais medidas de controle realizadas no estado de São Paulo.

MÉTODOS

Estudo descritivo do surto de FAS, que abrangeu a região sudoeste do estado de São Paulo, englobando 49 municípios, com população estimada de 1.174.142 habitantes em 2009. A maioria dos municípios dessa região (mais de 70%) integra a bacia hidrográfica do Alto Paranapanema, com área territorial de 28.447 km^2. O período do estudo foi de fevereiro a abril de 2009.

As definições de casos utilizadas correspondem às recomendadas no guia de vigilância epidemiológica do Ministério da Saúde. Indivíduo com quadro febril agudo acompanhado de icterícia e/ou hemorragia, residente ou procedente de área de risco para FAS nos últimos 15 dias, não vacinado, foi considerado caso suspeito.[e]

A partir da confirmação da circulação viral, foi utilizada definição mais sensível: indivíduo não vacinado, com quadro febril agudo (até sete dias) acompanhado de pelo menos dois sintomas cefaleia, mialgia, náusea ou vômito), residente ou procedente dos municípios com caso confirmado de FAS nos últimos 15 dias. A busca ativa de casos incluiu a avaliação retrospectiva de óbitos por causa mal definida e/ou por síndrome íctero-hemorrágica.[d]

Os casos suspeitos que apresentaram resultados reagentes em pelo menos um método diagnóstico (detecção de anticorpos da classe IgM pela técnica MAC-ELISA, isolamento viral, detecção do genoma viral ou de antígeno viral por teste de imuno-histoquímica) ou por vínculo clínico-epidemiológico (óbitos suspeitos sem coleta de amostra ocorridos durante o período em área de transmissão viral) foram considerados confirmados.[d]

Foi realizado inquérito sorológico no município de Sarutaiá, de 16 a 19 de março, sem relato de casos humanos ou epizootias (não considerado área de risco), onde residia o primeiro caso confirmado. O indivíduo não havia sido vacinado contra FA e possuía história de deslocamento somente para uma área de lazer do próprio município. O objetivo do inquérito foi detectar a circulação viral no município e identificar outros casos. Para o cálculo amostral, considerou-se frequência esperada da doença de 50%, intervalo de confiança de 95% e erro aceitável de 10%. Para a população de 2.966 habitantes, com 996 casas divididas em nove setores de cobertura do Programa Saúde da Família, foram sorteadas as casas e selecionadas 93 pessoas. Foram coletadas amostras de sangue para sorologia (Mac Elisa IgM) de 86 participantes assintomáticos.

A morte de PNH com evidência laboratorial de infecção pelo vírus, em pelo menos um animal, foi considerada epizootia por febre amarela.[d]

As informações sobre humanos e PNH foram extraídas das fichas de investigação do Sistema de Informação de Agravos de Notificação (SINAN) e planilha padronizada. As notificações foram feitas por telefone, fax ou via eletrônica à Central de Vigilância Epidemiológica da Secretaria de Estado da Saúde.

[b] Franco O. Historia da febre amarela no Brasil. Rio de Janeiro: Ministério da Saúde; 1976.
[c] Secretaria do Estado de São Paulo. Centro de Vigilância Epidemiológica "Prof. Alexandre Vranjac". Informe técnico sobre febre amarela. São Paulo; 2006 [citado 2010 abr 23]. Disponível em: http://www.cve.saude.sp.gov.br/htm/zoo/FA_INFORME.htm
[d] Secretaria do Estado de São Paulo (BR). Centro de Vigilância Epidemiológica "Prof. Alexandre Vranjac". Casos de febre amarela silvestre em residentes do Estado de São Paulo, 2007-2008. *Bol Epidemiol Paul*. 2008;5(55):12-5.
[e] Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Guia de vigilância epidemiológica. 7. ed. Brasília (DF); 2009.

Os locais prováveis de infecção foram identificados e georreferenciados por *Garmin modelo Etrex* (GPS). As coordenadas geográficas foram obtidas e referidas ao Datum SAD 69. Os municípios foram mapeados a partir da Malha Municipal Digital do Brasil de 2007 pelo Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE) e pelo programa Mapinfo, versão 7.0, da Mapinfo Corporation.

As amostras de sangue, soro e líquor foram processadas pelo teste de Mac-Elisa, segundo protocolo de Kuno et al.[13]

Amostras de sangue ou soro humano, suspensões de material de tecidos obtidos de necropsia de PNH e mosquitos foram inoculadas em camundongos swiss de idade de um a três dias. Os animais que apresentaram sinais de doença tiveram seus cérebros submetidos a passagens subsequentes.[1,f] As amostras foram inoculadas em cultura de células de mosquitos *Ae. albopictus*, clone C6/36.[10] A identificação dos isolados foi feita pelo teste de imunofluorescência indireta, técnica padronizada por Gubler et al,[8] utilizando anticorpo policlonal antiflavivírus. As amostras positivas foram tipadas por imunofluorescência indireta com anticorpos monoclonais para vírus da febre amarela YFV (Biomanguinhos-RJ).

Reação em cadeia da polimerase: A extração foi realizada a partir do RNA total de amostras de tecido, soro ou suspensão preparada de camundongo inoculado previamente com uso de kits comerciais específicos: QIAamp® RNA Blood para tecido e QIAamp® Viral RNA Kit para soro (Qiagen Inc., Ontário, Canadá), conforme instruções do fabricante. A amplificação do RNA viral foi realizada por meio da transcriptase reversa de etapa única (RT-PCR one step), seguida de uma segunda amplificação (semi-nested).[6] Os produtos amplificados foram visualizados por meio de eletroforese em gel de agarose 1,5%, corado com Brometo de Etídeo, para verificação do tamanho da banda.

Sequenciamento: Foi utilizado o sequenciador ABI-377 para o sequenciamento das amostras positivas e o programa Chromas versão 1.45 e EditSeq (Lasergene DNAStar Inc.) para edição da sequência de nucleotídeos.

Histopatologia e imuno-histoquímica: Amostras de cérebro, coração, pulmão, fígado, baço e rim, fixadas em formaldeído e emblocadas em parafina, foram processadas e submetidas a exame após a realização de cortes histológicos e coloração de hematoxilina-eosina. Cortes de fígado com 0,3 µm foram realizados em lâminas com silano e submetidos a método imuno-histoquímico com anticorpo policlonal antivírus da febre amarela, diluído 1/2.000 e sistema de detecção utilizando polímeros anti-imunoglobulinas de coelho e camundongo conjugados com enzimas peroxidase ou fosfatase alcalina (Envision®, Dako Cytomation, EUA).[9]

Para a investigação entomológica foram desencadeadas ações a partir da notificação de morte de PNH e de casos humanos suspeitos e confirmados de febre amarela.

Foram realizadas capturas em solo e em copa de árvore, nas margens e no interior das matas nos locais prováveis de infecção (LPI). Foi utilizado o método de coleta com atração humana móvel protegida empregando capturador de sucção oral e puçá com intervalos de 15 a 20 min entre nove e 16 horas em quatro dias de coleta em cada área. Foram realizadas capturas com armadilhas tipo *Center for Disease Control and Prevention* (CDC) com gelo seco.[7] Para tentativa de registrar a infecção natural, os mosquitos foram acondicionados em tubos crio-resistentes, transportados em balão de nitrogênio líquido e armazenados em congeladores a -70°C para posterior identificação em mesa fria e agrupados em lotes e processados para isolamento viral.

As ações de controle vetorial em áreas urbanas dos municípios infestados por *Ae. aegypti* foram desenvolvidas sobre as fases imaturas (controle de criadouro) e adultas (nebulização) do vetor nos locais de residência e deslocamento dos casos suspeitos e confirmados, segundo a norma técnica vigente.[g] Foram realizadas capturas de adultos para isolamento viral empregando-se aspiradores e armadilhas antes das ações de controle.

Foi intensificada a vigilância entomológica nos municípios não infestados por *Ae. aegypti* pela realização de pesquisa larvária, eliminação de potenciais criadouros e busca de mosquito adulto.

A vacina para FA, 17DD Biomanguinhos, foi indicada conforme recomendação do Guia de Vigilância Epidemiológica,[d] que, em epidemias, antecipa para indivíduos a partir dos seis meses de idade, aos residentes nos municípios com confirmação de circulação viral e nos municípios contíguos. A vacinação foi realizada casa a casa na área rural e nas unidades de saúde na área urbana.

Os casos de evento adverso grave pós-vacinação foram classificados em doença viscerotrópica aguda (DVA) e doença neurotrópica aguda segundo definições do CDC.[4]

RESULTADOS

Foram notificados 138 casos humanos suspeitos na região do estudo de fevereiro a abril de 2009. Desses, 110 foram descartados e 28 confirmados, dos quais

[f] Travassos da Rosa APA, Travassos da Rosa ES, Travassos da Rosa JFS, Degallier N, Vasconcelos PF, Rodrigues SG, et al. Os Arbovírus no Brasil: generalidades, métodos e técnicas de estudo. Belém: Instituto Evandro Chagas; 1994. (Documento técnico, 2).
[g] Superintendência de Controle de Endemias. Normas e recomendações técnicas para a vigilância e controle de *Aedes aegypti* no Estado de São Paulo - NORTE. São Paulo; 2005.

Tabela 1. Distribuição de casos humanos confirmados e suspeitos de febre amarela silvestre, segundo município provável de infecção. Estado de São Paulo, fevereiro a abril de 2009.

Município[a]	Confirmados				Suspeitos			
	Casos	%	Óbitos[b]	%	Casos	%	Óbitos[b]	%
Avaré	4	14,3	1	9,1	11	8,0	2	13,3
Buri	5	17,8	3	27,3	8	5,8	3	20,0
Piraju	11	39,3	5	45,4	64	46,4	7	46,7
Sarutaiá	7	25,0	2	18,2	53	38,4	3	20,0
Tejupá	1	3,6	–	–	2	1,4	–	–
Total	28	100,0	11	100,0	138	100,0	15	100,0

Fonte: Sistema de Informação de Agravos de Notificação. Centro de Vigilância Epidemiológica. Secretaria de Estado da Saúde de São Paulo.
[a] Incluídos apenas os municípios com confirmação de circulação de febre amarela silvestre.
[b] Os óbitos estão incluídos no total dos casos.

11 evoluíram para óbito (letalidade 39,3%). Os locais prováveis de infecção dos casos confirmados foram áreas rurais dos municípios de Sarutaiá, Piraju, Tejupá, Avaré e Buri (Tabela 1). Dez casos ocorreram em trabalhadores rurais que desempenhavam atividades em mata e 18 em indivíduos que realizaram atividade de lazer.

Entre os 28 casos confirmados, 18 (64,3%) eram do gênero masculino. A idade variou entre três dias de vida e 52 anos (média de 29 anos). Quatro casos ocorreram em crianças de três dias a 16 anos de idade. Os casos confirmados apresentaram sintomatologia leve, moderada ou grave; dos casos confirmados, 50,0% preenchiam o critério de febre, icterícia e/ou hemorragia, e 71% foram hospitalizados. Quanto ao método diagnóstico laboratorial, 42,9% dos casos foram confirmados por sorologia e 50,0% por mais de um método (Tabela 2).

Tabela 2. Critério de confirmação dos casos humanos de febre amarela silvestre. Estado de São Paulo, 2009.

Critério de confirmação	Método diagnóstico	Nº de casos confirmados	%
Laboratorial	Sorologia	12	42,8
	Sorologia e RT-PCR	8	28,6
	Sorologia, RT-PCR e Isolamento viral	2	7,1
	Sorologia, RT-PCR, Isolamento viral e Imuno-histoquímica	2	7,1
	RT-PCR, Isolamento viral e Imuno-histoquímica	1	3,6
	RT-PCR e Imuno-histoquímica	1	3,6
	Imuno-histoquímica	1	3,6
Clínico-epidemiológico	Não realizado	1	3,6
Total		28	100,0

Fonte: Centro de Vigilância Epidemiológica e Instituto Adolfo Lutz. Secretaria de Estado da Saúde de São Paulo.
RT-PCR: reação em cadeia da polimerase com transcriptase reversa

No município de Sarutaiá, não houve detecção de anticorpos para o vírus da febre amarela no inquérito sorológico realizado em amostra da população assintomática.

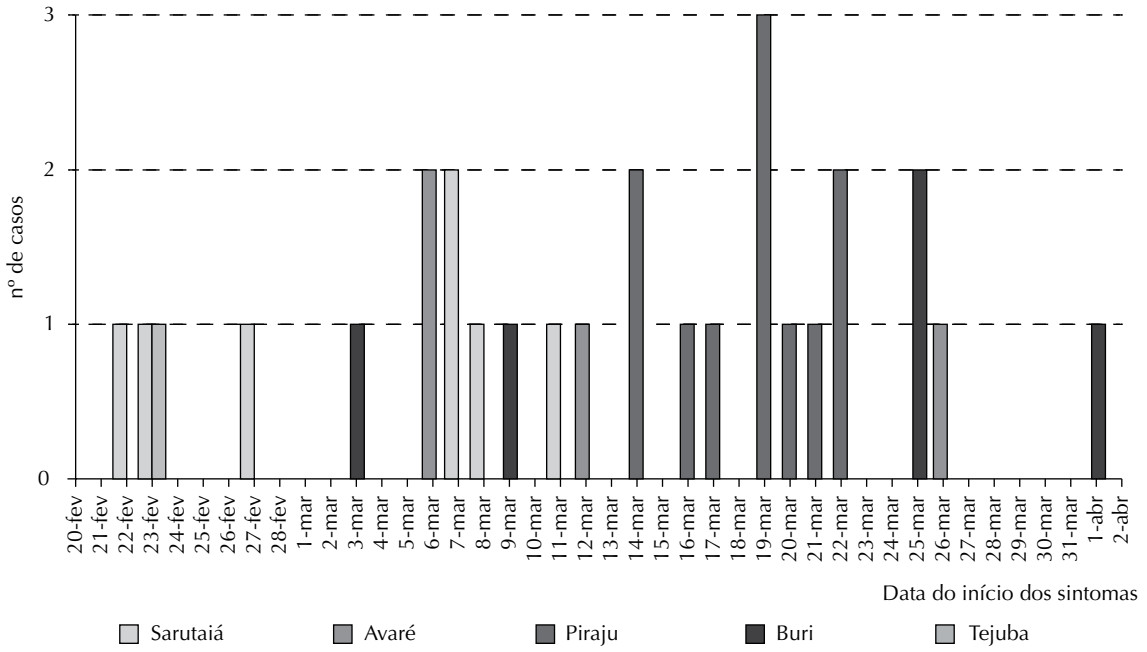
O primeiro caso confirmado ocorreu no município de Sarutaiá, com início dos primeiros sintomas em 22 de fevereiro, e o último caso no município de Buri, em 1° de abril (Figura 1).

Os achados histopatológicos, identificados em cinco casos, consistiram em lesão predominantemente mediozonal, estendendo-se pelo parênquima hepático, presença de apoptose e focos de necrose hepática, esteatose micro e macrogoticular, hiperplasia e hipertrofia de células de Kupffer e espaços-porta com discreto infiltrado linfocitário, sem evidências de lesão de interface. Houve imunomarcação positiva para antígenos do vírus FA em hepatócitos e células de Kupffer na imuno-histoquímica.

As notificações de mortes de PNH acompanhadas até o mês de agosto somaram 56, distribuídas em sete municípios da região, 91,4% do gênero *Alouatta sp.* Ao município de Buri correspondeu o maior número de registros (77,5% do total). A coleta de material para diagnóstico laboratorial foi possível em 7,0% dos animais com coleta de vísceras, soro/sangue ou cérebro. A epizootia foi confirmada laboratorialmente em dois PNH do gênero *Alouatta sp*; um no município de Buri pela técnica de RT-PCR em soro e outro em Itapetininga pela técnica de imuno-histoquímica em vísceras. Os achados histopatológicos foram semelhantes aos de humanos.

As atividades entomológicas foram iniciadas nos municípios de Sarutaiá, Piraju e Itatinga, imediatamente após a confirmação dos primeiros casos e posteriormente em Avaré, Buri e Itapetininga. Piraju e Avaré apresentavam infestação domiciliar por *Ae. aegypti,* enquanto Sarutaiá, Tejupá, Itatinga e Buri encontravam-se sem infestação.

Atividades de controle de formas imaturas e adultas de *Ae. aegypti* foram realizadas nos municípios infestados. O controle entomológico foi realizado em todos os imóveis da cidade de Piraju, que concentrou maior



Fonte: Sistema de Informação de Agravo de Notificação. Centro de Vigilância Epidemiológica. Secretaria de Estado da Saúde de São Paulo.

Figura 1. Distribuição temporal dos casos humanos de febre amarela silvestre, segundo município provável de infecção e data de início de sintomas. Estado de São Paulo, fevereiro a abril de 2009.

número de casos suspeitos e confirmados, com aplicação de produto químico adulticida na forma de nebulização domiciliar durante dez dias (Tabela 3). Não foi realizada investigação no município de Tejupá, incluído como área de transmissão após avaliação retrospectiva.

Coletaram-se 1.782 exemplares fêmeas dentre 58 espécies de mosquitos no ambiente silvestre nas atividades de vigilância entomológica. Dentre os grupos identificados, destacaram-se: *Ae. serratus* grupo (32,2%), *Psorophora ferox* (22,4%), *Hg. leucocelaenus* (5,5%), *Ochlerotatus scapularis* (3,0%), *Hg. janthinomys/capricornii* (2,2%) e *Ae. albopictus* (0,9%). Identificaram-se representantes da tribo Sabethini (11,9%): *Sa. purpureus, Sa. chloropterus*, *Sa. undosus*, *Sa. intermedius*, *Sa. albiprivus* e *Sa. tridentatus*.

Dos mosquitos capturados para isolamento viral, 1.782 foram processados em 281 lotes, constituídos segundo espécie, local e hora de captura, com identificação de 58 espécies. Foram capturados 1.210 espécimes que constituíram 26 lotes no município de Buri na primeira quinzena de abril. Em um lote de espécie *Hg. leucocelaenus,* composto por seis espécimes, foi isolado o vírus de FA em camundongo e célula e identificado por RT-PCR.

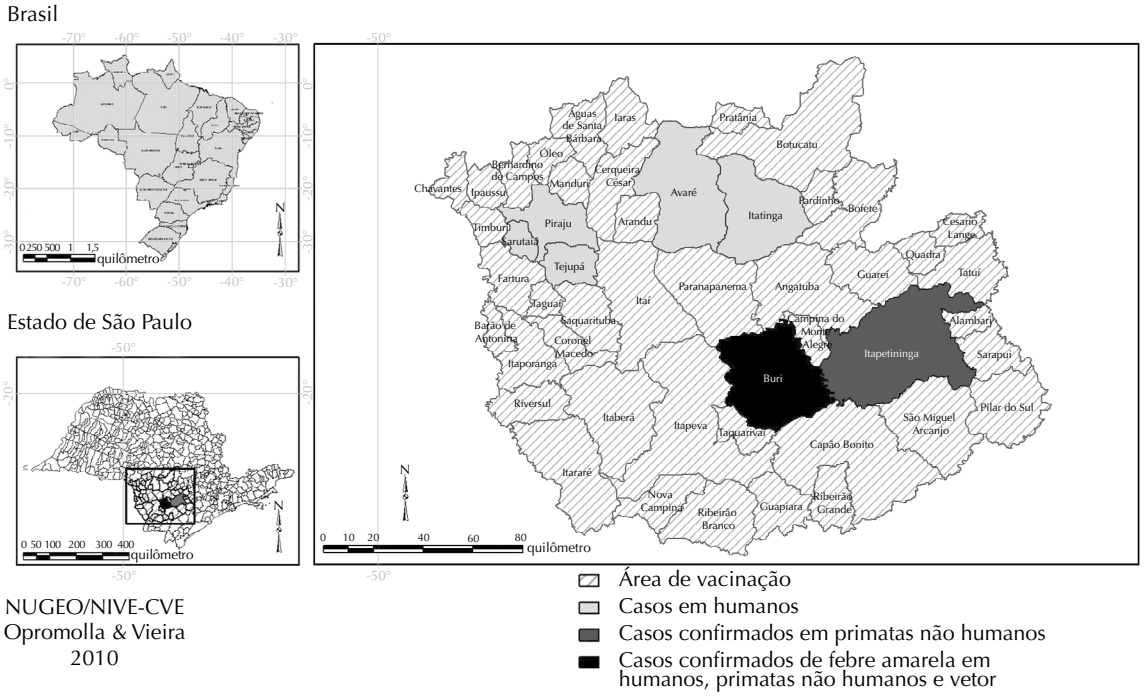
A Figura 2 mostra a área de transmissão de FAS confirmada laboratorialmente em humanos, PNH e mosquitos.

As ações de vacinação tiveram início imediatamente após a confirmação do primeiro caso em Sarutaiá e foram ampliadas para áreas de provável circulação viral. Foram

Tabela 3. Distribuição do número de imóveis trabalhados no controle de *Aedes aegypti* em municípios com circulação de vírus de febre amarela, segundo tipo de atividade e executor. Estado de São Paulo, março a abril de 2009.

Município	Atividade			
	SUCEN		Município	
	Nebulização	Controle criadouro	Nebulização	Controle criadouro
Avaré	2.920	0	0	1.023
Buri	4.420	0	0	688
Itapetininga	1.705	0	526	1.311
Itatinga	241	3.223	0	170
Piraju	11.724	0	0	116
Sarutaiá	339	1.066	0	0
Total	21.349	4.289	526	3.308

Fonte: Superintendência de Controle de Endemias da Secretaria de Estado da Saúde de São Paulo (SUCEN).



Fonte: Sistema de Informação de Agravo de Notificação. Centro de Vigilância Epidemiológica. Secretaria de Estado da Saúde de São Paulo.

Figura 2. Mapa de distribuição dos casos confirmados de febre amarela silvestre em humanos, primatas não humanos e vetores segundo município provável de infecção e municípios cujas ações de vigilância epidemiológica foram ampliadas. Estado de São Paulo, fevereiro a abril de 2009.

incluídos 49 municípios na área de recomendação de vacinação com população geral de 1.174.142 pessoas. Um total de 1.018.705 doses de vacina foi aplicado, atingindo cobertura vacinal de 86,8% de março a abril. Foram confirmados três casos de doença neurotrópica aguda, um caso de hipersensibilidade imediata, todos com evolução para cura, e cinco casos de doença viscerotrópica aguda que evoluíram para óbito. A recente circulação do vírus da febre amarela em Avaré, Buri, Itapetiniga, Piraju, Sarutaiá e Tejupá no estado de São Paulo resultou na ampliação da área de recomendação de vacinação.

DISCUSSÃO

Os casos confirmados de FAS ocorreram de fevereiro a abril de 2009 em região sudoeste do estado em áreas sem registro de circulação viral há mais de 60 anos; portanto, sem recomendação de vacinação de febre amarela e com população humana suscetível. A região apresenta relevo montanhoso com grande quantidade de rios e ribeirões de escoamento rápido. O remanescente da vegetação natural é composto por pequenas formações de mata descontínua, entremeada por plantações, pastagens e áreas de reflorestamento, com condições favoráveis à circulação viral.

Os casos residiam ou se deslocaram para área de mata por atividade de lazer ou de trabalho nos municípios de Sarutaiá, Piraju, Tejupá, Avaré e Buri.

A agilidade das ações conjuntas e integradas dos diversos órgãos foi fundamental para confirmação da circulação viral e adoção oportuna de medidas de controle, com a interrupção da transmissão humana no intervalo de um mês. A campanha de vacinação teve início imediatamente após a confirmação do primeiro caso humano em 49 municípios. Mais de um milhão de pessoas foram vacinadas em três meses. As ações de vacinação foram ampliadas gradativamente nos municípios de acordo com o LPI dos casos confirmados: inicialmente casa a casa na área rural e, posteriormente, nas unidades de saúde na área urbana. A vacinação foi recomendada para os viajantes que se deslocavam para a área afetada e nenhum caso importado foi confirmado nesse período.

A investigação de casos suspeitos a partir da vigilância da síndrome febril íctero-hemorrágica aguda e de óbitos de causa mal definida foi importante instrumento para identificação dos primeiros casos. A utilização de definição de caso suspeito mais sensível no decorrer do trabalho permitiu a identificação de casos leves e moderados.

A ocorrência de casos humanos sem a detecção precoce e notificação de epizootias mostra a necessidade de intensificação da vigilância de epizootia, para que se constitua em evento sentinela para a circulação do vírus. Mesmo após a investigação ativa, não foram constatadas mortes de macacos de maneira relevante, exceto em Buri, diferentemente do observado no Rio Grande do Sul no

mesmo ano.[h] Em Buri, foi possível a identificação de vírus em humanos, PNH e mosquitos, o que possibilitou fechar a investigação da cadeia epidemiológica associada à forma silvestre da doença.[20]

Aventou-se a hipótese de transmissão urbana de FA em Piraju pelo importante número de casos humanos e por se tratar de área com presença de *Ae. aegypti*. A investigação epidemiológica, entretanto, confirmou o deslocamento dos casos humanos confirmados para ambiente de matas próximas aos domicílios, cujas pesquisas entomológicas constataram a presença de vetores silvestres. Isso afastou a possibilidade de transmissão urbana e confirmou a transmissão silvestre da FA.

A identificação da transmissão em áreas de matas aponta risco de infecção para a população humana que vive próxima e desloca-se para essas áreas ou outras com fisionomia semelhante no estado.

Hg. leucocelaenus foi mais frequente e abundante do que *Hg. janthinomys/capricornii* na maioria das localidades investigadas. Isso gera dúvida quanto ao seu papel de vetor primário ou secundário na transmissão de febre amarela silvestre. *Hg. leucocelaenus* foi descrito como espécie abundante no Sul do País.[12] Em epizootia recente constatada no Rio Grande do Sul, levantou-se a hipótese de que essa espécie possa exercer papel de vetor principal.[23] *Sa. chloropterus* também é considerado vetor secundário, uma vez que foram feitos isolamentos em espécimes naturalmente infectados.[22] Entre os mosquitos capturados, *Oc. scapularis* e *Ps. ferox* são espécies com transmissão experimental comprovada e foram positivos para isolamentos virais.[5,14-16] Somente em Buri houve isolamento do vírus em *Hg. leucocelaenus,* no estado de São Paulo.

Além da constatação da circulação do vírus da febre amarela nessa região, é importante a continuidade da investigação com o objetivo de compreender a dinâmica de transmissão do vírus. Questionamentos iniciais levantam a dúvida se o vírus poderia ter circulado nesse ambiente e permanecido silencioso por anos. Deve-se considerar também a possibilidade de introdução recente do vírus. Possíveis rotas incluem o estado do Paraná, com registro de PNH no ano anterior na região fronteiriça, ou a introdução pelo estado de São Paulo por via humana, a partir do deslocamento da população no período virêmico, PNH relacionados ao tráfico de animais ou mesmo por vetores.[24] Outras possíveis rotas não devem ser descartadas. A utilização de técnicas moleculares, como sequenciamento e análise filogenética do vírus, poderá contribuir para o conhecimento da circulação e origem viral nessa região.

AGRADECIMENTOS

Colaboraram com os autores do estudo os seguintes pesquisadores do Grupo de Febre Amarela do Centro de Vigilância Epidemiológica da Secretaria de Estado da Saúde de São Paulo:

Ana Lívia Geremias, Roberta Spinola, Paula Opromolla, Pedro Antônio Vieira (*in memoriam*), Ricardo Mangabeira Albernaz, Maria Gomes Valente, Dulce Junqueira, Maria Teresa Jahnel, Elizabete Maria Nunes (Centro de Vigilância Epidemiológica. Secretaria de Estado da Saúde de São Paulo); Iray Maria Rocco, Ivani Bisordi, Selma Marina C. N. Petrella, Luiz Eloy Pereira, Terezinha Lisieux M. Coimbra, Vivian Regina Silveira, Adriana Yurika Maeda, Fernanda Giselle da Silva, Felipe Scassi Salvador, Cristina Takami Kanamura, Suely Nonogaki, Marina Suehuko Oyafuso, Yara de Menezes, Gislene Mitsue N. Nishina, Amanda Aguiar (Instituto Adolfo Lutz. Secretaria de Estado da Saúde de São Paulo); Eduardo Sterlino Bergo, Simone Luchetta Reginato, Sueli Yasumaro Diaz (Superintendência de Controle de Endemias. Secretaria de Estado da Saúde de São Paulo); Regiane Menezes Tironi, Luis Filipe Mucci (Superintendência de Controle de Endemias. Secretaria de Estado da Saúde de São Paulo); Ricardo Augusto Monteiro de Barros Almeida, Edna Maria de Souza Carvalho (Universidade Estadual Paulista "Julio de Mesquita Filho"); Beatriz Yuko Kitagawa, Eduardo S. Moreno (XI Programa de Treinamento em Epidemiologia Aplicada aos Serviços do SUS do Centro de Vigilância Epidemiológica. Secretaria de Estado da Saúde de São Paulo); Maria Saleti Carli (Grupo de Vigilância Epidemiológica de Botucatu do Centro de Vigilância Epidemiológica. Secretaria de Estado da Saúde de São Paulo); Simone Cristina B. N. S. Neves (Vigilância Epidemiológica do município de Sarutaiá); Yaeko Kawata (Vigilância Epidemiológica do município de Pirajú. Sociedade de Beneficência de Piraju); Valéria Maria L. N. Ferreira (Vigilância Epidemiológica do município de Itatinga); Marta Brandi C. Gonçalves (Vigilância Epidemiológica do município de Avaré); Filomena Maria do Carmo do C. N. Chudk (Grupo de Vigilância Epidemiológica de Itapeva do Centro de Vigilância Epidemiológica. Secretaria de Estado da Saúde de São Paulo); Ivan da Costa Olaria (Vigilância Epidemiológica do município de Buri); Kátia Cristina Gomes de Luna (Grupo de Vigilância Epidemiológica de Sorocaba do Centro de Vigilância Epidemiológica. Secretaria de Estado da Saúde de São Paulo); Carmelina Agda P. Marcondes (Vigilância Epidemiológica do município de Itapetininga); Gisele Gutierres C. Siciliato (Grupo de Vigilância Epidemiológica de Assis. Centro de Vigilância Epidemiológica. Secretaria de Estado da Saúde de São Paulo).

[h] Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Febre Amarela Silvestre, Brasil, 2009. Boletim de atualização de dezembro de 2009. Emergências em Saúde Pública de Importância Nacional (ESPIN) de Febre Amarela Silvestre em São Paulo e no Rio Grande do Sul e a situação epidemiológica atual no Brasil (2008/2009). São Paulo; 2009 [citado 2011 out 11]. Disponível em: http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/boletim_febre_amarela_09_12_09.pdf

REFERÊNCIAS

1. Beaty B, Calisher CH, Shope RE. Arboviruses. In: Schmidt NJ, Emmons RW, editors. Diagnostic procedures for viral, rickettsial and chlamydial infections. 6. ed. Washington (DC): American Public Health Association; 1989. p. 797-855.
2. Bicca-Marques JC, Freitas DS. The role of monkeys, mosquitoes and human in the occurrence of a yellow fever outbreak in a fragmented landscape in south Brazil: protecting howler monkeys is a matter of public health. *Trop Conserv Sci.* 2010;3(1):78-89.
3. Bryant JE, Holmes EC, Barrett ADT. Out of Africa: A Molecular Perspective on the Introduction of Yellow Fever Virus into the Americas. *PLoS Pathog.* 2007;3(5):e75. DOI:10.1371/journal.ppat.0030075
4. Staples JE, Gershman M, Fischer M; Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Yellow fever vaccine. Recommendations of the advisory committee on immunization practices (ACIP). *MMWR Recomm Rep.* 2010;59(RR-7):1-27.
5. Degállier N, Hervé JP, Rosa APAT, Vasconcelos P, Rosa JFST, Sá Filho G. A ecologia dos arbovírus na Amazônia: pesquisas atuais e perspectiva. *Rev Fund SESP.* 1986;31(2):127-30.
6. Deubel V, Huerre M, Cathomas G, Drouet MT, Wuscher N, LE Guenno B, et al. Molecular detection and characterization of yellow fever virus in blood and liver specimens of a non-vaccinated fatal human case. *J Med Virol.* 1997; 53(3):212-7. DOI:10.1002/(SICI)1096-9071(199711)53:3<212::AID-JMV5>3.0.CO;2-B
7. Forattini OP, Gomes AC, Galati EAB, Rabello EX, Iverson LB. Estudos ecológicos sobre mosquitos Culicidae no Sistema da Serra do Mar, Brasil. 1-Observações no ambiente extradomiciliar. *Rev Saude Publica.* 1978;12(4):297-325. DOI:10.1590/S0034-89101978000400008
8. Gubler DJ, Kuno G, Sather GE, Velez M, Oliver A. Mosquito cell culture and specific monoclonal antibodies in surveillance for dengue viruses. *Am J Trop Med Hyg.* 1984;33(1):158-65.
9. Hall W C, Crowell T P, Watts D M, Barros V L, Kruger H, Pinheiro F, et al. Demonstration of yellow fever and dengue antigens in formalin-fixed paraffin-embedded human liver by immunohistochemical analysis. *Am J Trop Med Hyg.* 1991;45(4):408-17.
10. Igarashi A. Isolation of Singh´s Aedes albopictus cell line clone sensitive to dengue and chikungunya virus. *J Gen Virol.* 1978;40(3):531-44. DOI:10.1099/0022-1317-40-3-531
11. Johnson BW, Chambers TV, Crabtree MB, Filippis AM, Vilarinhos PT, Resende MC, et al. Vectors competence of Brazilian Aedes aegypti and Aedes albopictus for Brazilian yellow fever virus isolated. *Trans R Soc Trop Med Hyg.* 2002;96(6):611-3. DOI:10.1016/S0035-9203(02)90326-3
12. Kumm HW, Cerqueira NL. The role of Aedes leucocelaenus in the epidemiology of jungle yellow fever in Brazil. *Bull Ent Res.* 1951;42(1):195-200. DOI:10.1017/S0007485300025281
13. Kuno G, Gomez I, Gubler DJ. Detecting artificial antidengue IgM complexes using a enzyme linked immunosorbent assay. *Am J Trop Med Hyg.* 1987; 36(1):153-9.
14. Lopes OS, Sacchetta LA, Francy DB, Jakob WL, Calisher CH. Emergence of a new arbovirus disease In Brazil. III. Isolation of Rocio virus from Psorophora ferox (Humboldt, 1819). *Am J Epidemiol.* 1981;113(2):122–5.
15. Mitchell CJ, Forattini OP. Experimental transmission of Rocio encephalitis virus by Aedes scapularis (Diptera, Culicidae) from the epidemic zone in Brazil. *J Med Entomol.* 1984;21(1):34-7.
16. Mitchell CJ, Forattini OP, Miller B. Vector competence experiments with Rocio virus and three mosquito species from the epidemic zone in Brazil. *Rev Saude Publica.* 1986;20(3):171-7. DOI:10.1590/S0034-89101986000300001
17. Moreno ES, Rocco IM, Bergo E S, Brasil RA, Siciliano MM, Suzuki A, et al. Yellow Fever Working Group. Reemergence of yellow fever: detection of transmission in the State of São Paulo, Brazil, 2008. *Rev Soc Bras Med Trop.* 2011;44(3):290-6. DOI:10.1590/S0037-86822011005000041
18. World Health Organization. Update on progress controlling yellow Yellow fever in África, 2004-2008. *Wkly Epidemiol Rec.* 2008; 83(50):449-60.
19. Rocha WL. O Serviço Especial de Defesa contra a Febre Amarela. *Arq Hig S Paulo.* 1937;2(3):13-105.
20. Souza RP, Petrella S, Coimbra TLM, Maeda AY, Rocco IM, Bisordi I, et al. Isolation of yellow fever virus (YFV) from naturally infectied *Haemagogus (Conopostegus) leucocelaenus* (diptera, cukicudae) in São Paulo State, Brazil, 2009. *Rev Inst Med Trop S Paulo.* 2011;53(3):133-9. DOI:10.1590/S0036-46652011000300004
21. Tauil PL. Aspectos críticos do controle da febre amarela no Brasil. *Rev Saude Publica.* 2010;44(3):555-8. DOI:10.1590/S0034-89102010005000014
22. Vasconcelos PFC, Rodrigues SG, Dégallier N, Moraes MAP, Rosa JFST, Mondet B, et al. Ann epidemic of sylvatic yellow fever in the southeast region of Maranhão State, Brazil, 1993-1994: epidemiologic and entomological findings. *Am J Trop Med Hyg.* 1997;57(2):132-7.
23. Vasconcelos PFC, Sperb AF, Monteiro HAO, Torres MAN, Sousa MRS, Vasconcelos HB, et al. Isolations of yellow fever vírus from Haemagogus leucocelaenus in Rio Grande do Sul State, Brazil. *Trans R Soc Trop Med Hyg.* 2003; 97(1):60-2. DOI:10.1016/S0035-9203(03)90023-X
24. Vasconcelos PFC. Febre Amarela no Brasil: reflexões e hipóteses sobre emergência em áreas previamente livres. *Rev Saude Publica.* 2010; 44(6):1144-9. DOI:10.1590/S0034-89102010005000046

Os autores declaram não haver conflito de interesses.