

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA
Câmpus de Araçatuba

CLÉLIA CAROLINA ALVES

**DINÂMICA DO TÍTULO DE ANTICORPOS IgG ANTI-VÍRUS
DA RAIVA NA RESPOSTA À PROFILAXIA PRÉ-EXPOSIÇÃO**

ARAÇATUBA – SP

2019

CLÉLIA CAROLINA ALVES

**DINÂMICA DO TÍTULO DE ANTICORPOS IgG ANTI-VÍRUS DA RAIVA
NA RESPOSTA À PROFILAXIA PRÉ-EXPOSIÇÃO**

Dissertação apresentada à Faculdade de Medicina Veterinária – Unesp, Câmpus de Araçatuba – SP, como parte dos requisitos para a obtenção do título de Mestre em Ciência Animal (Medicina Veterinária Preventiva e Produção Animal).

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Cárís Maroni Nunes
Co-orientadora: Prof^a. Dr^a. Luzia Helena Queiroz

ARAÇATUBA – SP

2019

A474d	<p>Alves, Clélia Carolina DINÂMICA DO TÍTULO DE ANTICORPOS IgG ANTI-VÍRUS DA RAIVA NA RESPOSTA À PROFILAXIA PRÉ-EXPOSIÇÃO / Clélia Carolina Alves. -- Araçatuba, 2019 49 p.</p> <p>Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista (Unesp), Faculdade de Medicina Veterinária, Araçatuba Orientadora: Cárís Maroni Nunes Coorientadora: Luzia Helena Queiroz</p> <p>1. Lyssavírus. 2. Profilaxia pré-exposição. 3. Saúde pública. 4. Vacinas antirrábicas. I. Título.</p>
-------	---

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Biblioteca da Faculdade de Medicina Veterinária, Araçatuba. Dados fornecidos pelo autor(a).

Essa ficha não pode ser modificada.



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

Câmpus de Araçatuba

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

Título: Dinâmica do título de anticorpos IgG anti-vírus da raiva na resposta à profilaxia pré-exposição

AUTORA: CLÉLIA CAROLINA ALVES
ORIENTADORA: CÁRIS MARONI NUNES
COORIENTADORA: LUZIA HELENA QUEIROZ

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Mestra em CIÊNCIA ANIMAL, área: Medicina Veterinária Preventiva e Produção Animal pela Comissão Examinadora:

Prof. Dra. CÁRIS MARONI NUNES
Aposentada da Faculdade de Medicina Veterinária - Câmpus de Araçatuba/Unesp

Prof. Dra. ADOLORATA APARECIDA BIANCO CARVALHO
Departamento de Medicina Veterinária Preventiva e Reprodução Animal / Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias - Câmpus de Jabotocabal/Unesp

Prof. Dr. RAFAEL SILVA CIPRIANO
Curso de Medicina Veterinária / Centro Universitário Católica Salesiano Auxilium Araçatuba

Araçatuba, 08 de janeiro de 2019.



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

Câmpus de Araçatuba

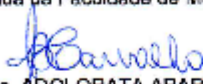
CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

Título:

AUTORA: CLÉLIA CAROLINA ALVES
ORIENTADORA: CÁRIS MARONI NUNES
COORIENTADORA: LUZIA HELENA QUEIROZ

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Mestra em CIÊNCIA ANIMAL, área: Medicina Veterinária Preventiva e Produção Animal pela Comissão Examinadora:

Profa. Dra. CÁRIS MARONI NUNES
Aposentada da Faculdade de Medicina Veterinária - Câmpus de Araçatuba/Unesp


Profa. Dra. ADOLORATA APARECIDA BIANCO CARVALHO
Departamento de Medicina Veterinária Preventiva e Reprodução Animal / Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias - Câmpus de Jaboticabal/Unesp

Prof. Dr. RAFAEL SILVA CIPRIANO
Curso de Medicina Veterinária / Centro Universitário Católica Salesiano Auxilium Araçatuba

Araçatuba, 08 de janeiro de 2019.

Ao meu eterno pai, Paulo Rodrigues Alves (*In memoriam*),
que me ensinou a ser uma pessoa melhor, dedico essa
dissertação! Um exemplo de caráter, altruísmo
e responsabilidade com todas as pessoas

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, por sempre me conceder sabedoria, bênçãos e proteção para me amparar.

À Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” pela oportunidade de realizar o mestrado.

À minha orientadora, Professora Dr^a. Cárís Maroni Nunes, pela confiança, paciência, dedicação e atenção dedicadas não apenas a mim e a este trabalho, mas a todos os seus alunos; uma pessoa ímpar com a qual tive o privilégio de conviver e aprender com seus sábios conselhos e exemplos de profissionalismo e caráter.

À minha co-orientadora, Professora Dr^a. Luzia Helena Queiroz, a qual eu tive a felicidade de conhecer, por seu auxílio, empenho e atenção.

Ao Serviço de Vigilância Epidemiológica da Secretaria de Saúde de Araçatuba pela atenção e concessão de dados.

À Capes pela concessão da bolsa de Mestrado.

Aos colegas do Laboratório de Bioquímica e Biologia Molecular Animal, pela convivência e apoio.

Aos colaboradores Walter Bertequini Nagata, Marco Milanesi e Yuri Tani Utsunomiya, por todo auxílio prestado no desenvolvimento desse trabalho.

À minha família, minha base, em especial à minha mãe, Luzia Bottazzo Alves, por toda dedicação, carinho e paciência nas horas difíceis no decorrer destes anos.

Ao Professor Luis Cezar Farias de Oliveira pelo incentivo ao curso que hoje finalizo.

Aos membros de minha banca de Exame Geral de Qualificação e Defesa, os Professores Márcia Marinho e Rafael Silva Cipriano e a Professora Adolorata Aparecida Bianco Carvalho, pelas contribuições valiosas que vieram engrandecer esse trabalho.

À Isabel Pereira Matos e Ana Claudia M. Grieger Manzatti por contribuírem com as correções bibliográficas.

À minha amiga querida desde a graduação, Jéssica Freitas, pela paciência nos momentos difíceis, nos quais estive sempre presente ao longo desses anos e por toda ajuda, apoio e também pelos momentos de alegrias.

Ao meu amigo Héilton Sitton, pela amizade, apoio e auxílio.

A todas as demais pessoas que de alguma forma contribuíram para essa realização.

“O próximo grande salto evolutivo da humanidade será a descoberta de
que cooperar é melhor que competir.”

Pietro Ubaldi

ALVES, C.C. **DINÂMICA DO TÍTULO DE ANTICORPOS IgG ANTI-VÍRUS DA RAIVA NA RESPOSTA À PROFILAXIA PRÉ-EXPOSIÇÃO**. 2019. 49f. Dissertação (Mestrado) Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Estadual Paulista, Araçatuba, 2019

RESUMO

A raiva é uma zoonose globalmente distribuída que apresenta alta letalidade, constituindo grande problema em saúde pública. A persistência do vírus da raiva nas populações é mantida devido sua capacidade de se replicar em diversas espécies de mamíferos, incluindo os humanos. O controle da raiva urbana tem se baseado na vacinação de cães e gatos, reservatórios importantes no ciclo urbano, bem como no atendimento de indivíduos após exposição ao vírus da raiva. Adicionalmente, a profilaxia pré-exposição (PrPE) tem sido aplicada em indivíduos que podem ser expostos à infecção, por atividade ocupacional. Objetivando proteger os estudantes ingressantes do Curso de Medicina Veterinária, grupo de risco em potencial para a raiva, a Faculdade de Medicina Veterinária (FMVA) da Unesp, Câmpus Araçatuba, promove anualmente a vacinação em esquema PrPE, seguida de avaliação sorológica, a fim de habituá-los a anualmente verificarem a resposta de anticorpos. Assim, a presente pesquisa teve como objetivo avaliar, por meio de levantamento de dados de PrPE dos arquivos do Serviço de Vigilância Epidemiológica da Secretaria de Saúde da Prefeitura Municipal de Araçatuba, SP, Brasil a adesão à PrPE, a proteção conferida e a dinâmica dos anticorpos (IgG) neutralizantes contra o vírus da raiva, nos estudantes da FMVA durante o período de 2000 a 2017. Foram avaliados 2.404 registros, 86,4% dos quais apresentaram título protetor contra o vírus da raiva ($\geq 0,5$ UI/mL). A PrPE teve boa adesão pelos estudantes, mostrou-se eficaz para a geração de anticorpos contra a raiva, e o título de anticorpos neutralizantes diminuiu ao longo do tempo, reforçando a necessidade da realização da titulação, pelo menos a cada dois anos.

Palavras-chave: *Lyssavírus*. Profilaxia pré-exposição. Saúde pública. Vacinas antirrábicas.

ALVES, C.C. **DYNAMICS OF IgG ANTIBODY TITLE ANTI-RABIES VIRUS IN RESPONSE TO PRE-EXPOSURE PROPHYLAXIS.** 2019. 49f. Dissertação (Mestrado) Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Estadual Paulista, Araçatuba, 2019.

ABSTRACT

Rabies is a globally distributed zoonosis that shows high lethality and is also a major public health problem. Persistence of rabies virus in populations is maintained due to its ability to replicate in several mammals species, including humans. Rabies control has been based on dogs and cats' vaccination, the most important reservoirs in the urban cycle, as well as on the treatment of individuals after exposure to the rabies virus. In addition, pre-exposure prophylaxis (PEPr) has been applied in individuals who might be exposed to infection due to their occupational activities. In order to protect the incoming students of the veterinary medicine course, a group of potential risk for rabies, the School of Veterinary Medicine (FMVA) of Unesp, Araçatuba, SP, Brazil, promotes annual vaccination in a PEPr scheme, followed by a serological evaluation, in order to habituate them to annually check their antibody response. Thus, by analyzing the PEPr data from the archives of the Epidemiological Surveillance Service of the Health Department of Araçatuba, SP, Brazil, during the period from 2000 to 2017, the present study aimed at evaluating the adhesion of the students to the rabies PEPr, the protection conferred by it and the dynamics of the neutralizing IgG antibodies against rabies virus. A total of 2,404 records were evaluated, 86.4% of which presented protective titers against rabies (≥ 0.5 IU/mL). PEPr had good adhesion by the students, has proved to be effective for generating antibodies anti-rabies virus and the neutralizing antibody titles decreased over time, reinforcing the need of performing the antibodies titration at least every two years.

Keywords: *Lyssavirus*. Pre-exposure prophylaxis. Public health. Rabies vaccines.

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO 1

Figura 1 - Esquema da estrutura do vírus da raiva.	14
Figura 2 - Distribuição da raiva segundo reservatórios.	15
Figura 3 - Ciclos de transmissão da raiva.	16
Figura 4 - Esquema de interação do vírus da raiva com a célula hospedeira	17

CAPÍTULO 2

Figura 1- Dinâmica dos títulos de anticorpos neutralizantes ao longo do tempo, de quatro alunos de graduação da Faculdade de Medicina Veterinária, Unesp, Araçatuba, submetidos ao esquema de profilaxia pré-exposição para a raiva.....	34
Figura 2- Distribuição dos alunos de graduação da Faculdade de Medicina Veterinária, Unesp, Araçatuba, de 2000 a 2017, segundo a titulação e o gênero (A), o número de doses de vacina (B) e o reforço vacinal (C)	35

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Registros referentes à profilaxia pré-exposição para a raiva realizada na comunidade da Faculdade de Medicina Veterinária, Unesp, Araçatuba, de 2000 a 2017	32
Tabela 2 - Distribuição dos alunos de graduação da Faculdade de Medicina Veterinária, Unesp, Araçatuba, de 2000 a 2017, segundo a profilaxia pré-exposição e titulação de anticorpos neutralizantes contra a raiva	33

SUMÁRIO

1 CAPÍTULO 1 – CONSIDERAÇÕES GERAIS	12
1.2 Referências	22
2 CAPÍTULO 2 – DINÂMICA DO TÍTULO DE ANTICORPOS NEUTRALIZANTES (IgG) CONTRA O VÍRUS DA RAIVA EM INDIVÍDUOS SUBMETIDOS À PROFILAXIA PRÉ-EXPOSIÇÃO	27
2.1 Resumo	27
2.2 Abstract	28
2.3 Introdução	29
2.4 Materiais e Métodos	30
2.5 Comitê de Ética	30
2.6 Resultados	31
2.7 Discussão	35
2.8 Agradecimentos	38
REFERÊNCIAS	39
ANEXOS	42

CAPÍTULO I - CONSIDERAÇÕES GERAIS

A raiva é uma doença zoonótica causada por um vírus que acomete os mamíferos, incluindo os seres humanos, levando-os a um quadro de encefalopatia aguda e progressiva (BRASIL, 2009). A infecção causada pelo vírus da raiva apresenta a mais alta proporção de casos fatais já relatados (RUPPRECHT, 2004; WHO, 2017).

Registros sobre a história da raiva mostram que, em diversas partes do mundo e em diferentes épocas, provedores de saúde não mediram esforços na tentativa de salvar seus pacientes sem, contudo, alcançarem êxito no tratamento desta enfermidade, que é uma das doenças infecciosas mais antigas, conhecida globalmente por milênios e documentada por diversos autores ao longo dos séculos (TARANTOLA, 2017).

Em 1930 A.C., na Mesopotâmia, as civilizações da Suméria já relatavam a associação existente entre óbitos humanos e mordida de animais raivosos (YUHONG, 2001). Durante a antiguidade clássica, Aristóteles, Hipócrates e outros filósofos também descreveram cuidados paliativos a pacientes acometidos pela afecção (MOREAU, 1985). Na idade média, inúmeros praticantes da medicina e da botânica, de várias partes do mundo, seguiram descrevendo os sintomas clínicos da doença (BAER, 1991).

No ano de 1885, Louis Pasteur fez uma grande descoberta quando realizava experimentos na área da microbiologia médica e imunizou, pela primeira vez, um ser humano com um preparado vacinal contendo vírus atenuado, à base de tecido nervoso, possibilitando o tratamento preventivo da raiva (TEIXEIRA, 1993).

Na atualidade, a raiva ainda é considerada uma doença negligenciada e demanda especial atenção da Saúde Pública. A doença abrange diversos continentes e é a causa de mais de 59.000 óbitos humanos anualmente, em geral, transmitida por canídeos (WHO, 2018a).

No Brasil, até o ano de 1969, não havia informações disponíveis sobre o número de casos fatais em decorrência da raiva. A partir desse ano, uma iniciativa da Organização Pan-americana de Saúde/Organização Mundial da Saúde (OPAS/OMS), em conjunto com a "Fundação Serviços de Saúde Pública", possibilitou obter informações epidemiológicas mais consistentes envolvendo o

cenário da raiva no país (NEVES; CARVALHO; VELOSO,1980).

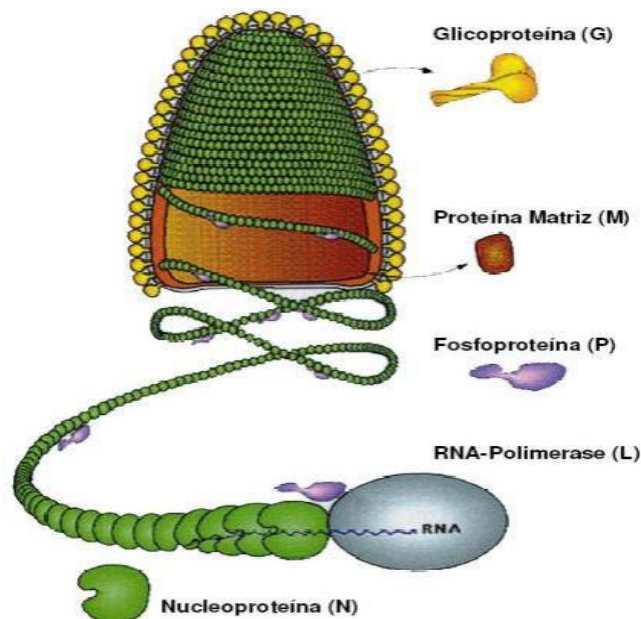
A raiva apresenta letalidade de quase 100% nos hospedeiros infectados, contudo, em 2004, uma jovem se infectou com o vírus da raiva ao ser mordida por um morcego nos Estados Unidos; a terapia aplicada nesta paciente, denominada protocolo de Milwaukee, desenvolvido pelo médico Rodney Willoughby, que inclui a indução ao coma associada a aplicação de antivirais com objetivo de desencadear uma resposta imune nata, resultou na surpreendente recuperação clínica da paciente, sendo considerado o primeiro caso bem sucedido de tratamento para a raiva no mundo (WILLOUGHBY et al., 2005).

Um novo registro de cura da infecção por raiva ocorreu no Brasil em 2008, envolvendo um habitante de Recife-PE, submetido à terapia médica baseada no protocolo Milwaukee. Apesar do sucesso terapêutico, o jovem apresentou dificuldade de coordenação e fala, além de crises convulsivas (BRASIL, 2009). Também em 2008, na Colômbia, um caso considerado de cura da doença foi registrado, seguido de posterior óbito do paciente, após sua recuperação (KOTAIT; CARRIERI; TAKAOKA, 2009).

O agente causador da raiva pertence à família Rhabdoviridae e ao gênero *Lyssavirus* (CDC, 2011). Dentro do gênero *Lyssavirus*, o Comitê Internacional sobre Taxonomia de Vírus (ICTV) classifica 16 espécies incluindo o vírus da raiva (RABV), disseminado mundialmente entre mamíferos carnívoros, primatas não humanos e morcegos (ICTV, 2017).

O vírus da raiva é um RNA vírus de cadeia negativa, em formato de bastonete cilíndrico, com uma das extremidades côncava e a outra convexa, e com organização relativamente simples do genoma, capaz de codificar cinco proteínas estruturais: a RNA polimerase (L); a fosfoproteína (P); a proteína do nucleocapsídeo (N); a proteína de matriz (M) e a glicoproteína de superfície (G) (CDC, 2011) (Figura 1). Somente a glicoproteína de superfície (G) assume o papel de antígeno indutor de produção de anticorpos neutralizantes do vírus da raiva (WHO, 2017).

Figura 1 - Esquema da estrutura do vírus da raiva.



Fonte: Swiss Institute of Bioinformatics, 2010.

A união entre as proteínas N, P e L com o RNA genômico gera o complexo ribonucleoproteico (RNP), principal antígeno do vírus da raiva, responsável pelo estabelecimento de memória imunológica e induz a proliferação das células TCD4⁺, as quais, por meio do reconhecimento de antígenos intra-estruturais atuam elevando a produção dos níveis de anticorpos neutralizantes do vírus rábico em seus hospedeiros (WHO, 2017). As proteínas G, N e P do vírus rábico são responsáveis pela indução de linfócitos TCD8⁺, os quais sozinhos são incapazes de conferir imunidade ao hospedeiro durante o curso da infecção. A ativação desta célula está clinicamente associada à condição patológica de paralisia (HOOPER, 2005).

Apesar de a raiva ser uma das doenças mais negligenciadas, estando presente nas populações rural e urbana de países pobres (GIESEN; GNIEL; MALERCZYK, 2015), a infecção pelo vírus da raiva se mantém devido sua capacidade de se replicar em diversas espécies de mamíferos, globalmente distribuídos. De forma geral, em países em desenvolvimento, os canídeos representam o reservatório primário (Figura 2), enquanto que em países desenvolvidos, as espécies silvestres assumem o papel de hospedeiros mais frequentemente (BLANTON et al., 2011; COETZER et al., 2019; RUPPECHT, 2004).

Figura 2 - Distribuição mundial da raiva segundo os principais reservatórios

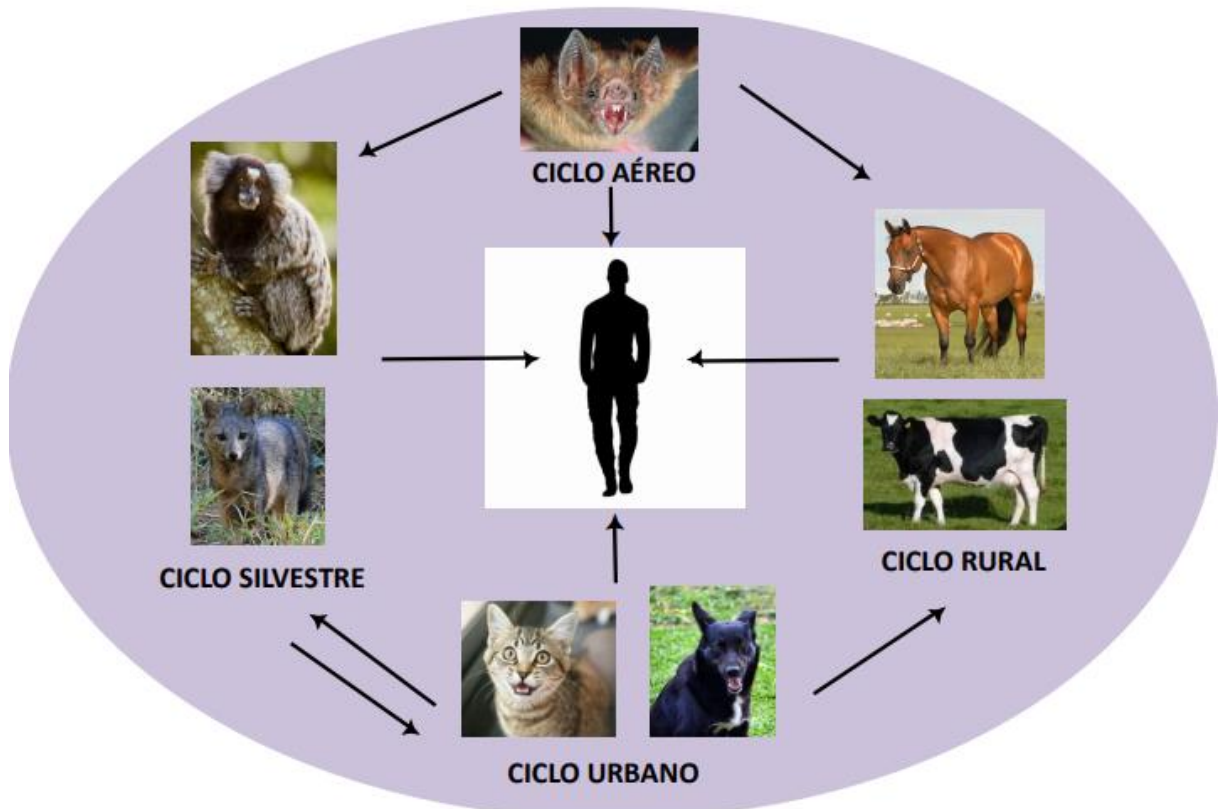


Fonte: Rabies Bulletin Europe/OMS

Assim sendo, na dependência da região e do ciclo de transmissão, algumas espécies de mamíferos são consideradas de maior importância como reservatórios. Apesar dos cães figurarem como principais reservatórios da raiva em quase todo mundo, programas de vacinação canina foram capazes de reduzir em 90% os casos de raiva nos Estados Unidos (WEANT; BAKER, 2013), no entanto, diferentes variantes do vírus da raiva foram isoladas de espécies de morcegos insetívoros e mamíferos terrestres, tais como coiotes, gambás, guaxinins e raposas encontrados naquele país (CDC, 2017).

Atualmente são descritos quatro ciclos de transmissão da raiva no Brasil (Figura 3): o aéreo, que tem como reservatórios os morcegos; o urbano, que tem como reservatórios os cães e gatos; o silvestre, que tem como reservatórios os canídeos silvestres e primatas não humanos e o rural, que está relacionado aos animais de produção (BRASIL, 2014a).

Figura 3 - Esquema mostrando os ciclos epidemiológico de transmissão da raiva no Brasil



Fonte: Fernandes, E.R. 2015 (disponível em: < <http://www.saude.sp.gov.br/resources/instituto-pasteur/pdf/wrd2015/patogeniadaraivaatrajetoriadovirusrumoaosnc-elaineranierofernandes.pdf>>)

O vírus da raiva é transmitido pelo contato da saliva de um animal infectado com soluções de continuidade da pele, produzidas predominantemente através de mordeduras e, mais raramente, por meio de arranhaduras e lambeduras. Embora possível, é rara a infecção por meio da via inalatória (WHO, 2018a).

Quando o vírus atinge a musculatura estriada inicia-se um processo de replicação intracelular (Figura 4), e a partir daí o vírus chega aos neurônios por meio de uma migração centrípeta até o Sistema Nervoso Central (SNC). No caminho reverso, com a disseminação viral por meio de um movimento centrífugo, as partículas virais chegam finalmente às glândulas salivares, onde continuam se replicando até serem inoculadas em um novo hospedeiro (LICATA; HARTY, 2003; RUPPRECHT; HANLON; HEMACHUDHA, 2002).

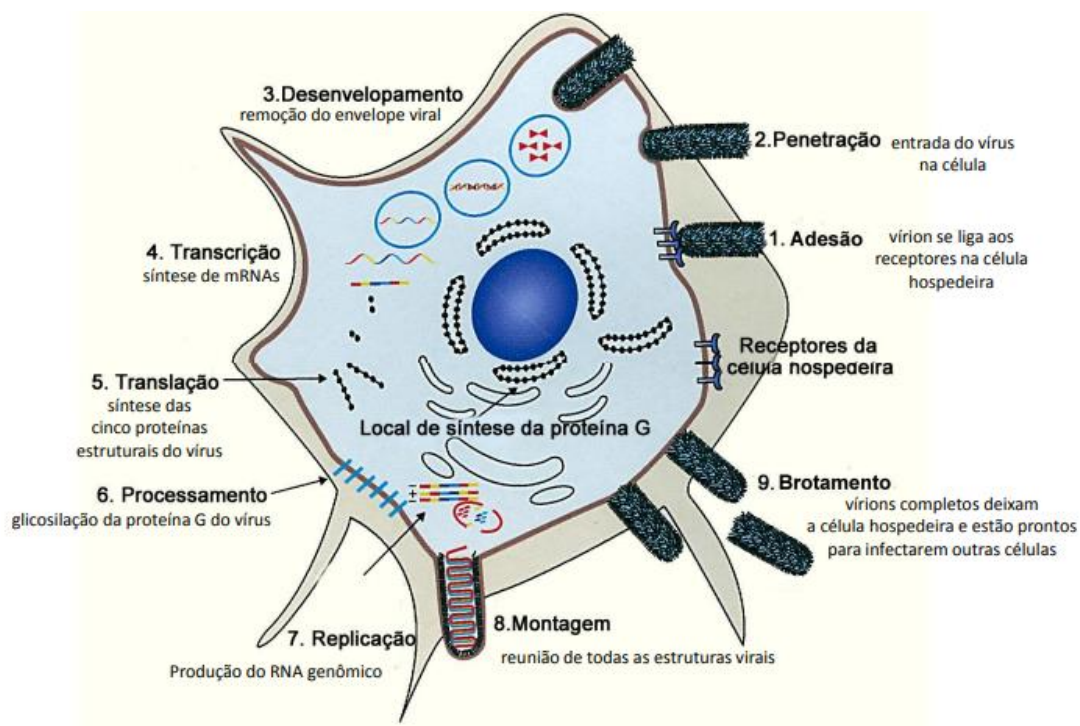
Na espécie humana, o período em que o vírus permanece incubado geralmente varia de duas semanas a três meses; entretanto, há casos de incubação entre menos de uma semana e mais de um ano, podendo variar de acordo com

alguns fatores, como a concentração do vírus inoculado, localidade próxima do SNC e o grau de inervação do local de entrada do agente infeccioso (WHO, 2010).

A elevada capacidade de invadir rapidamente o SNC do hospedeiro de forma a não possibilitar uma resposta eficiente do mesmo, quando o vírus se aloja em seu sistema nervoso, e o neurotropismo são as principais características que definem a patogênese da doença (DIETZSCHOLD et al., 2008).

Quando inoculado, o vírus da raiva se locomove através do sistema periférico até atingir o SNC. No cérebro, ocorre a replicação e disseminação novamente por via sistema nervoso e se espalha para diversos outros tecidos do corpo e até mesmo as glândulas salivares (DIETZSCHOLD et al., 2008).

Figura 4 - Esquema de interação do vírus da raiva com a célula hospedeira genérica



Fonte: Fernandes, E.R. 2015 (disponível em: < <http://www.saude.sp.gov.br/resources/instituto-pasteur/pdf/wrd2015/patogeniadaraivaatrajetoriadovirusrumoaosnc-elaineranierofernandes.pdf>>)

Após atingir o SNC o vírus da raiva precisa vencer a resistência dos macrófagos, denominados de micróglia, as quais apresentam variadas funções dentro do SNC, destacando-se as de célula apresentadora de antígenos, a produção de TNF- α e óxido nítrico utilizados no combate à proliferação da doença. A ação de citocinas promove a quebra da barreira hematoencefálica (BHE), permitindo acesso

das células imunes periféricas ao SNC (RANSOHOFF; BROWN, 2012). Em seu estado íntegro, a BHE é impermeável ao acesso dos anticorpos. Contudo, ao haver quebra da BHE, os anticorpos neutralizantes do vírus da raiva conseguem exercer seu papel protetor nos locais de proliferação viral, de modo a contribuir para eliminação do vírus da raiva do SNC (HOOPER et al., 2009).

Outra barreira imune inata a ser vencida pelo vírus da raiva são as células NK (*Natural Killer*), que apesar de desempenharem papel protetor, podem, segundo alguns estudos experimentais, sofrer apoptose pela afecção causada pelo vírus rábico (BALOUL; LAFON, 2003).

Dessa forma, ao se instalar no SNC, o vírus da raiva pode acarretar um quadro de encefalomielite progressiva aguda, desencadear um coma e até mesmo causar a morte em um período de 1 a 2 semanas em praticamente 100% dos casos (HEMACHUDHA et al, 2013).

Os sintomas clínicos da enfermidade nos humanos iniciam-se com uma sensação de angústia, cefaleia, pequena elevação da temperatura corpórea, mal estar e alterações sensoriais no local da mordedura; em seguida, há uma evolução para excitação, hiperestesia e uma extrema sensibilidade à luz e ao som com dilatação das pupilas e aumento da salivação, espasmos nos músculos de deglutição e respiratório, levando à convulsões generalizadas, com duração de sete dias ou mais até evoluir para a morte (MURRAY et al., 2000).

Nos humanos, três categorias são usadas como base para classificar os casos de raiva: a primeira classifica como suspeito, quando se trata de caso que apresente os sinais clínicos da doença; a segunda classifica como provável, pois, além de se ter a presença de animal raivoso, pode-se confiar no histórico do indivíduo; e a terceira categoria trata-se da confirmação laboratorial dos casos suspeitos e prováveis (WHO, 2013).

De acordo com a OMS, a raiva pode ser confirmada considerando-se um ou mais dos seguintes critérios laboratoriais: presença de antígenos virais na amostra de tecido nervoso central, por meio da técnica de imunofluorescência direta; inoculação e isolamento do vírus da raiva em animais de laboratório e/ou em cultura celular; presença de anticorpos específicos para o vírus da raiva no soro ou no líquido cefalorraquidiano em indivíduos não imunizados, e amplificação de ácidos nucleicos virais por meio de métodos moleculares em amostras, de pele, biópsia

cerebral ou fragmentos do SNC, urina ou saliva, coletadas *ante* ou *post mortem* (WHO, 2013).

O uso de anticorpos monoclonais por meio da técnica de imunofluorescência indireta é uma técnica útil para a vigilância epidemiológica, por resultar na caracterização antigênica das variantes virais. Entretanto, o sequenciamento genético de fragmentos do genoma viral apresenta melhor desempenho quanto à caracterização de novas variantes do vírus da raiva (JOHNSON et al., 2004).

No Brasil, o Programa Nacional de Profilaxia e Controle da Raiva Urbana teve início em 1973 e baseia-se principalmente na vacinação em massa de cães e gatos e no tratamento pós-exposição em humanos, para o qual há protocolos estabelecidos em conformidade com o tipo de exposição sofrida (BRASIL, 2011).

A adoção de práticas de conscientização pública sobre a prevenção e o controle da raiva, realizadas pelo governo e por gestores de saúde, é uma ferramenta fundamental para a prevenção da raiva, que possibilita a melhoria do conhecimento da população e estimula mudanças de comportamento (WIDYASTUTI et al., 2015).

A infecção pelo vírus da raiva pode ser evitada com a realização da limpeza imediata da lesão com sabão e água, por 15 minutos, combinada ao uso da profilaxia pós-exposição (PEP), que deve ser administrada, dentro do menor tempo possível, de forma a gerar níveis elevados de anticorpos neutralizantes contra o vírus rábico (WHO, 2018a). Na dependência da gravidade e do local da lesão, recomenda-se também a aplicação de soro contra a raiva (SAR) ao redor da lesão (WHO, 2010).

As vacinas antirrábicas humanas atuais englobam as vacinas purificadas produzidas em cultivo de células de embriões de galinha, vacina purificada de cultivo de células Vero e vacina de cultivo de células diploides humanas, além das vacinas produzidas em tecido nervoso e em embriões de pato. A vacinação contra raiva humana pode ser realizada antes (pré-exposição) ou após a exposição (WHO, 2018b).

Uma das primeiras vacinas humanas contra a raiva foi desenvolvida em 1911 por Semple, tendo como base um homogenato de cérebro de ovinos, a qual ainda é usada nos dias atuais, em alguns países Africanos e Asiáticos (WARRELL, 2012).

No ano de 1955 foi produzida a vacina Fuenzalida & Palacios, à base de tecido cerebral de camundongo, a qual ainda é utilizada em alguns países da

América do Sul. Contudo, seu uso não é recomendado pela OMS visto que vacinas derivadas de tecido nervoso podem também causar reações neurológicas (WARRELL, 2012). Esta vacina foi amplamente utilizada no Brasil até a década de 2000 como profilaxia e tratamento pré e pós-exposição, quando foi substituída pelas vacinas produzidas em cultura de células VERO, por estas apresentarem alta imunogenicidade e baixa frequência de reações adversas locais e sistêmicas (AJJAN; PILET, 1989; BRASIL, 2014b; RAMEZANKHANIM et al., 2016).

A resposta protetora contra a infecção pela raiva gerada a partir da imunização, tem como resultado anticorpos capazes de neutralizar o vírus. A imunização é fundamental para a produção de imunoglobulinas extracelulares, das classes IgM, IgG e IgA, responsáveis por impedir a propagação do vírus, via sítio de infecção para o SNC, evitando a morte de animais e seres humanos (DIETZSCHOLD et al., 1986).

Embora as células B exerçam papel predominante na geração de resposta imunológica após a imunização, as células T agem diretamente como indutoras na produção de células de memória (SIEGRIST, 2018). Os linfócitos TCD4⁺ são células primordiais para o estabelecimento da resposta imune contra a raiva, protegendo mais que os linfócitos TCD8⁺, por meio da indução de produção de citocinas, tais como Intérferon gama (IFN γ), Interleucina II (IL-2) e Interleucina I (IL-1), relevantes para o controle da infecção. Anticorpos específicos contra o vírus são gerados durante a interação entre as células TCD4⁺ com linfócito B, decorrente do estímulo de citocinas (WHO, 2017).

Para que proteção contra a infecção seja duradora é fundamental manter células de resposta imunológicas eficientes e capazes de proporcionar a reativação rápida da resposta imune, após exposição ao patógeno (SIEGRIST, 2018). Por meio da vacinação é possível proporcionar uma memória imunológica duradoura que deve persistir ao longo da vida do indivíduo, mesmo no caso da diminuição dos títulos de anticorpos neutralizantes do vírus da raiva ou quando os mesmos não podem ser mensuráveis. Dados clínicos confirmam que as pessoas vacinadas respondem à imunização de reforço no prazo de 7 dias (WHO, 2018b).

Dependendo do tipo de risco à infecção, a prevenção da raiva se torna mais eficaz quando a PrPE é aplicada, sendo recomendada a aplicação de três doses de vacina inativada nos dias 0, 7 e 21-28, de 0,1mL por via intradérmica ou de 0,5mL, por via intramuscular (WHO, 2014).

A PrPE é recomendada para indivíduos com maior risco de exposição do vírus da raiva devido à atividade ocupacional que exercem, como estudantes e profissionais de Medicina Veterinária, Biologia e Zootecnia (que trabalham com animais potencialmente infectados com o vírus da raiva); funcionários de zoológicos, agentes controladores de vetores, vacinadores e profissionais de laboratório que trabalham com o vírus ou que manipulam animais com risco de estarem infectados. Além destes grupos, recomenda-se a PrPE para pessoas que viajem para áreas endêmicas onde o atendimento de saúde é remoto e que possam ter contato com animais. A prática da PrPE torna dispensável a administração da SAR após a exposição ao vírus rábico (BRASIL, 2011).

A OMS sugere ainda a aplicação da PrPE em larga escala como medida de prevenção em locais onde há alta prevalência de morcegos hematófagos ou áreas onde a incidência de mordida por cão for maior que 5% ao ano. A aplicação de dose reforço de rotina após 1 ano da PrPE bem como a realização de sorologia para avaliação do título de anticorpos neutralizantes contra raiva são também recomendadas pela OMS, quando existir um risco continuado e elevado de exposição ao vírus (WHO, 2018b).

Os anticorpos neutralizantes são essenciais na profilaxia contra a raiva e, portanto, a avaliação sorológica periódica desempenha papel importante quando há necessidade de estabelecer níveis de títulos de anticorpos aceitáveis na PrPE ou saber quando determinar uma dose de reforço (MOORE; HANLON, 2010).

Com o intuito de prevenir à infecção pelo vírus da raiva a Faculdade de Medicina Veterinária da Unesp, Araçatuba, SP, Brasil, promove a profilaxia pré-exposição (PrPE) para os estudantes de graduação ingressantes ao curso de Medicina Veterinária, desde o ano de 1993. Na presente pesquisa estabeleceu-se a hipótese de que a adesão à pré-exposição, embora recomendada e disponibilizada, possa não ser total e que um percentual de indivíduos vacinados em PrPE possa não apresentar título adequado de anticorpos contra o vírus da raiva para sua proteção e/ou por longo período de tempo. Portanto, nosso objetivo foi avaliar, por meio de levantamento de dados dos arquivos do Serviço de Vigilância Epidemiológica da Secretaria de Saúde da Prefeitura Municipal de Araçatuba, a adesão à PrPE, a proteção conferida e a dinâmica dos anticorpos IgG neutralizantes contra o vírus da raiva nos estudantes da FMVA, durante o período de 2000 a 2017.

REFERÊNCIAS

AJJAN, N; PILET, C. Comparative study of the safety and protective value, in pre-exposure use, of rabies vaccine cultivated on human diploid cells (HDCV) and of the new vaccine grown on Vero cells. **Vaccine**. v. 7 p. 125-128, 1989.

BAER, G. M. (Ed.). **The natural history of rabies**. 2 ed. Florida: CRC, 1991.

BALOUL, L.; LAFON, M. Apoptosis and rabies virus neuroinvasion. **Biochimie**, v. 85, n. 8, p.777-788, 2003.

BLANTON, J. D. et al. Rabies surveillance in the United States during 2010. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 239, n. 6, p. 1-28, 2011.

BRASIL. Departamento de Vigilância Epidemiológica. Protocolo para tratamento e raiva humana no Brasil. **Epidemiologia e Serviços de Saúde**, v. 18, n. 4, p. 385-394, 2009.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Conheça os Principais Sintomas da Raiva**. 2014a. Disponível em: <<http://www.brasil.gov.br/saude/2014/10/conheca-os-principais-sintomas-da-raiva>>. Acesso em: 17 jul. 2018.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Definição**. 2014b. Disponível em: <<http://portalarquivos.saude.gov.br/images/pdf/2015/outubro/19/Normas-tecnicas-profilaxia-raiva.pdf>>. Acesso: 04 jul. 2018.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Normas Técnicas de Profilaxia da Raiva Humana**. Brasília: MS, 2011.

CDC. CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION. **Wild life Reservoirs for Rabies**. 2017. Disponível em: <https://www.cdc.gov/rabies/exposure/animals/wildlife_reservoirs.html>. Acesso em: 28 nov. 2018.

CDC. CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION. **The rabies vírus**. 2011. Disponível em: <<https://www.cdc.gov/rabies/transmission/virus.html>>. Acesso em: 17 jul. 2018.

COETZER, A. et al. Epidemiological aspects of the persistent transmission of rabies during an outbreak (2010 – 2017) in Harare, Zimbabwe. **Plos One**, v.14, n.1, 2019. Disponível em: <<https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0210018>>. Acesso em: 14 dez. 2019.

DIETZSCHOLD, B.; LI, J.; FABER, M.; SCHNELL, M. Concepts in the pathogenesis of rabies. **Future Virology**, v.3, p.481–490, 2008. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2600441/pdf/nihms79714.pdf>>. Acesso em: 02 Jul. 2018.

DIETZSCHOLD, B.; TOLLIS, M.; LAFON, M.; WUNNER, W.H.; KOPROWSKI, H. Mechanisms of Rabies Virus Neutralization by Glycoprotein-Specific Monoclonal Antibodies. **Virology**, v. 161, n.1, p. 29-36, 1986.

GIESEN, A.; GNIEL, D.; MALERCZYK, C. 30 years of rabies vaccination with Rabipur: a summary of clinical data and global experience. **Expert Review of Vaccines**, v.14, p. 351-376, 2015.

HEMACHUDHA, T.; UGOLINI, G.; WACHARAPLUESADEE, S.; SUNGKARAT, W.; SHUANGSHOTI, S.; LAOTHAMATAS, J. Human rabies: neuropathogenesis, diagnosis, and management. **Lancet Neurology**, v. 12, n. 5, p. 498-513, 2013.

HOOPER, D.C. The role of immune responses in the pathogenesis of rabies). **Journal of Neurovirology**. v.11, n.1, p. 88-92, 2005.

HOOPER, D.C.; PHARES, T.W.; FABIS, M.J.; ROY, A. The production of antibody by invading B cells is required for the clearance of rabies virus from the central nervous system. **Plos Neglected Tropical Disease**, v.3, n.10, p. 535, 2009.

ICTV - INTERNATIONAL COMMITTEE ON THE TAXONOMY OF VIRUSES. **Virus Taxonomy**: Ninth Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses. 2017. <https://talk.ictvonline.org/taxonomy/>. Acesso em: 15 set. 2018.

JOHNSON, N.; LETSHWENYO, M.; BAIPOLEDI, E. K.; THOBOKWE, G.; FOOKS, A. R. Molecular epidemiology of rabies in Botswana: a comparison between antibody

typing and nucleotide sequence phylogeny. **Veterinary Microbiology**, v. 101, p. 31–38, 2004.

KOTAIT, I.; CARRIERI, M. L.; TAKAOKA, N. Y. **Raiva: aspectos gerais e clínica**. São Paulo: Instituto Pasteur, 2009.

LICATA, J. M.; HARTY, R. N. Rhabdoviruses and apoptosis. **Int. Rev. Immun.** v. 22, p. 451-476, 2003.

MOORE, S. M.; HANLON, C. A. Rabies: specific antibodies: measuring surrogates of protection against a fatal disease. **Plos Neglected Tropical Disease**, v. 4, n.3, 2010. Disponível em: <<https://journals.plos.org/plosntds/article?id=10.1371/journal.pntd.0000595>>. Acesso em: 27 nov. 2018.

MOREAU, R. La rage de l'Antiquité au Siècle des Lumières. In: PASTEUR ET LA RAGE; ROSSET, R. (Ed.). **Informations Techniques des Services Vétérinaires**. Ministère de l'Agriculture; Services Vétérinaires: Paris, France, 1985. p. 19–28.

MURRAY, P. R.; ROSENTHAL, K. S.; KOBAYASHI, G. S.; PFALLOR, M. A. Rhabdovirus. In: MURRAY, P. R.; ROSENTHAL, K. S.; KOBAYASHI, G. S.; PFALLOR, M. A. **Microbiologia médica**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2000. p.405-408.

NEVES, J.; CARVALHO, A. C. M.; VELLOSO, S. M. Epidemiology and clinical aspects of human rabies in Minas Gerais, Brasil: misdiagnosis and misunderstandings on the psychopathological disturbances. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v.13, p. 55-64, 1980.

RAMEZANKHANIM, R.; SHIRZADI, M.R.; RAMEZANKHANI, A.; MOZAFARY, J.P. A comparative study on the adverse reactions of purified chick embryo cell vaccine (PCECV) and purified Vero cell rabies vaccine (PVRV). **Archives of Iranian Medicine**, v.19, n.7, p.502-507, 2016. Disponível em: <http://www.ams.ac.ir/AIM/NEWPUB/16/19/7/0010.pdf>. Acesso em: 27 ago. 2018.

RANSOHOFF, R.M.; BROWN, M.A. Innate immunity in the central nervous system. **Journal Clinical Investigation**, v. 122, n. 4, p.1164–1171, 2012.

RUPPRECHT, C.E.; HANLON, C.A.; HEMACHUDHA, T. Rabies re-examined. **Lancet Infectious Diseases**, v.2, n.6, p.327-43, 2002.

RUPPRECHT, C.E. A tale of two worlds: Public health management decisions in human rabies prevention. **Clinical Infectious Diseases**, v.39, n. 2, p.281-283, 2004.

SIEGRIST, C. A. Vaccine Immunology. **Plotkin's Vaccines**, p. 16-34.e7, 2018. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B978032335761600002X?via%3Dihub>. Acesso em: 28 out. 2018.

TARANTOLA, A. Four thousand years of concepts relating to rabies in animals and humans, its prevention and its cure. **Tropical Medicine and Infectious Diseases**, v.2, n. 2, p. 5, 2017.

TEIXEIRA L. A. O Instituto Pasteur de São Paulo: Uma contribuição à história das instituições biomédicas no Brasil. **PHYSIS - Revista de Saúde Coletiva**, v. 3, p. 148. 1993.

WARREL, M. J. Current rabies vaccines and prophylaxis schedules: preventing rabies before and after exposure. **Travel Medicine and Infectious Disease**, v. 10, n. 1, p. 1-15, 2012.

WEANT, K.A.; BAKER, S.N. Review of human rabies prophylaxis and treatment. **Critical Care Nursing Clinics of North America**. v. 25, n. 2, p. 225-242, 2013.

WIDYASTUTI, M. D. W.; BARDOSH, K. L.; SUNANDAR, BASRI, C.; BASUNO, E.; JATIKUSUMAH, A.; ARIEF, R. A.; PUTRA, A. A. G.; RUKMANTARA, A.; ESTOEPANGESTIE, A. T. S.; WILLYANTO, I.; NATAKESUMA, I. K. G.; SUMANTRA, I. P.; GRACE, D.; UNGER, F.; GILBERT, J. On dogs, people, and a rabies epidemic: results from socialcultural study in Bali, Indonesia. **Infectious Diseases of Poverty**, v. 4, n. 30, p.1-18, 2015. Disponível em: <https://idpjournal.biomedcentral.com/articles/10.1186/s40249-015-0061-1>.

WILLOUGHBY, R.E. JR; TIEVES, K.S.; HOFFMAN, G.M.; GHANAYEM, N.S.; AMLIE-LEFOND, C.M.; SCHWABE, M.J.; CHUSID, M.J.; RUPPRECHT, C.E.

Survival after treatment of Rabies with induction of coma. **The New England Journal of Medicine**, v. 352, p. 2508-2514, 2005.

WHO. World Health Organization. **Expert Consultation on Rabies**. Third Report. Geneva: WHO Technical Report Series 1012, 2018a. Disponível em: <http://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/272364/9789241210218-eng.pdf?sequence=1&isAllowed=y>. Acesso em: 2 jul. 2018.

WHO. World Health Organization. **The immunological basis for immunization series: module 17: rabies vaccines**. Geneva: World Health Organization, 2017.

WHO. World Health Organization. **Weekly epidemiological record**. Disponível em: <http://www.who.int/wer/2010/wer8532.pdf>. Acesso em: 2 jul. 2018.

WHO. World Health Organization. **WHO expert consultation on rabies. nº 982**. 2013. Disponível em: http://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/85346/9789240690943_eng.pdf;jsessionid=3A5D05B2E73DB2B94DA80F9ADFBB38B2?sequence=1. Acesso em: 2 jul. 2018.

WHO. World Health Organization. **Who guide for Rabies pre and post exposure prophylaxis in humans**. 2014. Disponível em: http://www.who.int/rabies/PEP_Prophylaxis_guideline_15_12_2014.pdf. Acesso em: 2 jul. 2018

WHO. World Health Organization. Rabies vaccines: WHO position paper – April 2018b. **Weekly epidemiological record 2018, nº16**. Disponível em: <http://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/272371/WER9316.pdf?ua=1>. Acesso em: 03 Jul. 2018.

YUHONG, W. Rabies and rabid dogs in Sumerian and Akkadian literature. **Journal of the American Oriental Society**, v. 121, p. 32-43, 2001.

CAPÍTULO 2: DINÂMICA DO TÍTULO DE ANTICORPOS IgG ANTI-VÍRUS DA RAIVA NA RESPOSTA À PROFILAXIA PRÉ- EXPOSIÇÃO*

RESUMO

Introdução: Distribuída mundialmente, a raiva é uma doença viral caracterizada por encefalite aguda invariavelmente fatal. A profilaxia pré-exposição (PrPE) é indicada para a proteção de indivíduos expostos continuamente ao risco de infecção, como os estudantes e os profissionais de medicina veterinária. Objetivou-se avaliar a frequência com que os estudantes de Medicina Veterinária se submetem à PrPE, avaliar a proteção conferida, bem como a dinâmica da resposta de anticorpos neutralizantes (IgG) contra o vírus da raiva. **Métodos:** Trata-se de um estudo retrospectivo quali-quantitativo, realizado por meio de levantamento de dados secundários dos anos de 2000 a 2017, oriundos de arquivos do Serviço de Vigilância Epidemiológica da Secretaria de Saúde de Araçatuba. **Resultados:** Foram avaliados 2.404 registros, compreendendo 875 indivíduos que realizaram a titulação de anticorpos (IgG) neutralizantes contra o vírus da raiva, 86,4% dos quais apresentaram título protetor ($\geq 0,5 \text{ UI/mL}$). A adesão à PrPE dos estudantes de graduação no ano de seu ingresso foi de 85%. O modelo linear misto utilizado revelou decréscimo médio anual do título de anticorpos neutralizantes de $0,24 \pm 0,06 \text{ UI}$ ($p=7,59 \times 10^{-5}$), após a última dose de vacina. Não houve diferença significativa no título de anticorpos entre indivíduos que receberam uma, duas ou três doses de vacina ($P>0,05$), nem entre os sexos. **Conclusão:** A PrPE teve boa adesão pelos estudantes, mostrou-se eficaz para geração de anticorpos contra a raiva, e o título de anticorpos neutralizantes diminuiu ao longo do tempo, reforçando a necessidade da realização da titulação, pelo menos a cada dois anos.

Palavras-chave: *Lyssavírus*, Titulação de anticorpos, Vacinação, Saúde Pública

* De acordo com as normas da Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical (Anexo A)

ABSTRACT

Introduction: Distributed worldwide, rabies is a viral disease characterized by acute and almost invariably fatal encephalitis. Pre-exposure prophylaxis (PEPr) is indicated as a protective measure for individuals continuously exposed to the risk of infection such as veterinary students and practitioners. The objective of this study was to evaluate the frequency with which the student perform the PEPr, to evaluate the protection presented as well as the dynamics of the neutralizing IgG antibodies response. **Methods:** This is a quali-quantitative retrospective study, carried out with secondary data of 2000 to 2017, from the archives of the Epidemiological Surveillance Service of the Health Department of the Araçatuba Municipality. A total of 2,404 records were evaluated, 86.4% of which presented protective titers against rabies (≥ 0.5 IU/mL). The records comprised 875 individuals who performed the titration of neutralizing antibodies (IgG). Adhesion of the undergraduate students to PEPr in the year they were admitted was 85%. The mixed linear model used showed a mean annual decrease of neutralizing antibody titer of 0.24 ± 0.06 IU ($p = 7.59 \times 10^{-5}$) after the last dose of vaccine. There was no significant difference in the antibody titer between individuals who received one, two or three doses of vaccine ($P > 0.05$), nor between sex. PEPr had good adhesion by the students, has proved to be efficient for generating antibodies against rabies and the neutralizing antibody title decreased over time, reinforcing the need of performing antibody titration at least every two years.

Key words: *Lyssavirus*, Antibodies titration, Vaccination, Public health

INTRODUÇÃO

A raiva é uma antropozoonose viral que tem se manifestado em todos os continentes, com exceção da Antártida. A doença afeta o Sistema Nervoso Central (SNC) dos mamíferos, ocasionando 59.000 mortes humanas anualmente, sendo, portanto, considerada um grande problema para a Saúde Pública¹.

A transmissão do vírus da raiva ocorre por meio do contato da saliva de um animal infectado decorrente de mordedura e, mais raramente, pela arranhadura e lambadura de mucosas ou pele lesionada de um mamífero suscetível¹. A raiva apresenta letalidade de quase 100%, embora alguns casos isolados de tratamento em seres humanos tenham sido descritos na literatura²⁻⁴.

No Brasil, o Programa Nacional de Profilaxia e Controle da Raiva Urbana, iniciado na década de 70, baseia-se principalmente na vacinação em massa de cães e gatos e no tratamento pós-exposição em humanos, para o qual há protocolo estabelecido em conformidade com o tipo de exposição sofrida^{5,6}.

Adicionalmente, a profilaxia pré-exposição (PrPE) é recomendada para grupos de permanente risco de exposição ao vírus da raiva, isto é, profissionais e técnicos de laboratório de virologia e anatomopatologia, tratadores de animais, pesquisadores, médicos veterinários, zootecnistas, biólogos e profissionais afins, bem como indivíduos que viajam para áreas onde a raiva é prevalente. Além da proteção à inaparente exposição ao vírus por estes profissionais, esta estratégia simplifica o tratamento pós-exposição com a redução do número de doses de vacinas e dispensa a aplicação de imunoterapia passiva^{7,8}.

A vacina Fuenzalida & Palacios⁹ foi amplamente utilizada como profilaxia e tratamento pré e pós-exposição no Brasil até a década de 2000, quando foi substituída pelas vacinas produzidas em cultura de células Vero, por estas apresentarem alta imunogenicidade e baixa frequência de reações adversas locais e sistêmicas^{5,10-12}.

Como o protocolo de PrPE é anualmente oferecido aos estudantes de graduação ingressantes na Faculdade de Medicina Veterinária da Unesp em Araçatuba desde o ano de 1993, a hipótese de que um percentual de indivíduos vacinados em PrPE possam não apresentar título adequado de anticorpos contra o vírus da raiva adequados para sua proteção e o interesse em saber como tem sido a adesão à pré-exposição, gerou a presente pesquisa. O objetivo deste estudo foi,

portanto, avaliar a adesão dos estudantes à PrPE, a resposta e a dinâmica do título anticorpos neutralizantes da classe IgG contra a glicoproteína do vírus da raiva.

MATERIAL E MÉTODOS

Esse trabalho foi aprovado pela Comissão Nacional de Ética em Pesquisa (CAAE: 669670717.0.0000.5420).

Trata-se de um estudo de coorte dinâmico visto que, a cada ano, são incluídos novos indivíduos, ao mesmo tempo em que a maioria dos inicialmente recrutados é mantida, por pelo menos cinco anos, período regular para a graduação em Medicina Veterinária.

A PrPE é anualmente oferecida aos alunos de graduação ingressantes da Faculdade de Medicina Veterinária da Unesp, Câmpus Araçatuba (FMVA), em conformidade com as normas técnicas preconizadas pelo Ministério da Saúde, compreendendo a aplicação de três doses de 0,1 mL de vacina com vírus inativado produzida em cultivo celular VeroRab[®], administrada aos zero 0 (zero), 7(sete) e 28 dias, por via intradérmica⁷. Após 10-14 dias da última dose de vacina, os alunos ingressantes, bem como toda a comunidade da FMVA que já tenham sido submetidos ao PrPE, são convidados a participarem da colheita de sangue para a avaliação da resposta imune humoral (titulação de anticorpos).

Os anticorpos IgG anti-vírus da raiva são aferidos pelo Instituto Pasteur de São Paulo, para a detecção de anticorpos neutralizantes contra o vírus da raiva, por meio da técnica simplificada de inibição de focos fluorescentes¹³. São consideradas com títulos protetores aquelas amostras que resultam em valores $\geq 0,5$ UI/mL de amostra de soro, de acordo com as recomendações da OMS¹.

Os dados foram obtidos das fichas de Investigação de Atendimento Antirrábico Humano do Sistema Nacional de Agravos Notificáveis (SINAN), adaptadas para informações referentes à vacinação em esquema de pré-exposição, bem como dos registros dos resultados das titulações de anticorpos contra o vírus da raiva realizados pelo Instituto Pasteur.

Foram incluídos no banco de dados os registros de indivíduos da comunidade da FMVA com risco potencial à exposição ao vírus da raiva, que receberam ao menos uma dose de vacina em PrPE durante o período de 2000 a 2017. Assim,

foram analisados 2.404 registros de atendimentos (média de 133/ano), os quais representam 875 indivíduos considerados sob risco potencial à exposição ao vírus da raiva, referentes a alunos de graduação ($n=726$), alunos de pós-graduação ($n=82$) e servidores ($n=67$). Do total de indivíduos, 34,5% ($302/875$) não tinham o registro completo de vacinações.

Os dados de titulação de anticorpos foram analisados por meio do ajuste do seguinte modelo linear misto desenvolvido com auxílio do software R v3.4.4¹⁴:

$$Y_{ijkl} = \mu + GEN_i + VAC_j + REF_k + IND_l + \sum X_n B_n + \epsilon_{ijkl}$$

no qual Y_{ijkl} é a titulação observada do i -ésimo gênero, j -ésimo grupo de vacinação, k -ésimo grupo de reforço vacinal e l -ésimo indivíduo; GEN_i é o efeito fixo do i -ésimo gênero; VAC_j é o efeito fixo do j -ésimo grupo de vacinação; REF_k é o efeito fixo do k -ésimo grupo de reforço vacinal; IND_l é o efeito aleatório do l -ésimo indivíduo; X_n é a n -ésima covariável; B_n é o coeficiente de regressão fixo da n -ésima covariável; e ϵ_{ijkl} é o valor residual. Os grupos de vacinação foram compostos por observações que apresentaram esquema vacinal com uma ($n=41$), duas ($n=170$) ou três doses ($n=1576$) da vacina. De maneira similar, para os grupos de reforço vacinal, observações foram divididas entre aquelas que receberam ($n=364$) ou não ($n=1423$) reforço vacinal. As covariáveis incluíram idade, dias transcorridos após a primeira dose da vacina e dias transcorridos após a última dose da vacina ou reforço. Os efeitos aleatórios individuais e residuais foram tratados como independentemente e normalmente distribuídos. Adotou-se nível de significância de 5%.

RESULTADOS

A maior frequência com que a avaliação sorológica individual foi realizada foi por duas vezes (**Tabela 1**), com diminuição subsequente desta prática. Do total de registros, 86,4% ($2.078/2.404$) apresentaram título de anticorpos considerado protetor ($\geq 0,5UI$) contra o vírus da raiva.

Tabela 1- Registros referentes à profilaxia pré-exposição para a raiva realizada na comunidade da Faculdade de Medicina Veterinária, Unesp, Araçatuba, de 2000 a 2017.

Variável	(n)	(%)
Total de Registros	2.404	
Título protetor	2.078	86,4
Título não protetor	326	13,6
Total de Indivíduos	875	
Feminino	561	64,1
Masculino	314	35,9
Nº de Titulações	875	
1	211	24,1
2	234	25,7
3	180	20,6
4	149	17,0
5	66	7,6
>5	35	4,0

Considerando-se somente os dados referentes aos alunos de graduação no ano de seu ingresso na FMVA, a PrPE contra a raiva teve adesão de 85% dos ingressantes (629/740) sendo que 72,2% fizeram o esquema completo (3 doses de vacina) no primeiro ano do curso, 82,8% (521/629) fizeram a avaliação sorológica subsequente (titulação) e 97,9% (510/521) apresentaram títulos de anticorpos (IgG) considerados protetores contra o vírus da raiva. Dentre estes, 10,2% (52/510) dos alunos apresentaram título de anticorpos neutralizantes contra a raiva considerado protetor, ainda que não tenham realizado o esquema completo de vacinação.

Para a análise da resposta imune humoral (IgG) anti-vírus da raiva, foram consideradas todas as observações relativas aos alunos de graduação que haviam recebido pelo menos a primeira dose de vacina em esquema PrPE, independentemente de a terem recebido no ano de seu ingresso ou posteriormente, e que realizaram a titulação (n=1.787). Assim, foram analisadas as observações referentes a 628 alunos do curso de graduação em Medicina Veterinária, 67,8% (426/628) dos quais eram do gênero feminino e 32,2% (202/628) eram do gênero

masculino sendo que 86,9% (546/628) receberam três doses da vacina em esquema PrPE (**Tabela 2**).

Dos alunos de graduação que compuseram este banco de dados, 20,9% realizaram a titulação de anticorpos por uma única vez e 24,4% a realizaram por 3 vezes (**Tabela 2**). Observa-se diminuição acentuada da frequência com que o aluno realiza sua titulação a partir da 4ª vez.

Tabela 2- Distribuição dos estudantes de graduação da Faculdade de Medicina Veterinária, Unesp, Araçatuba, de 2000 a 2017, segundo a profilaxia pré-exposição e titulação de anticorpos neutralizantes contra a raiva.

Variável	(n)	(%)
Total de alunos com pelo menos a 1ª vacinação		
	628	
Feminino	426	67,8
Masculino	202	32,2
Vacinação PrPE		
Completa	546	86,9
Incompleta	97	15,1
Nº de Titulações		
1	131	20,9
2	141	22,4
3	153	24,4
4	129	20,5
5	55	8,8
>5	19*	3,0

*Estudantes que ingressaram na Pós-Graduação após término do curso de graduação.

A análise das observações realizada com ajuda do modelo linear misto permitiu observar que, dentre as covariáveis idade, dias transcorridos após a primeira dose da vacina e dias transcorridos após a última dose da vacina ou reforço, apenas a última apresentou efeito significativo sobre a titulação observada, resultando em um decréscimo médio anual de $0,24 \pm 0,06$ UI ($p=7,59 \times 10^{-5}$). A título

de ilustração, a dinâmica dos títulos de anticorpos neutralizantes após PrPE, ao longo do tempo, de oito indivíduos é apresentada na **Figura 1**.

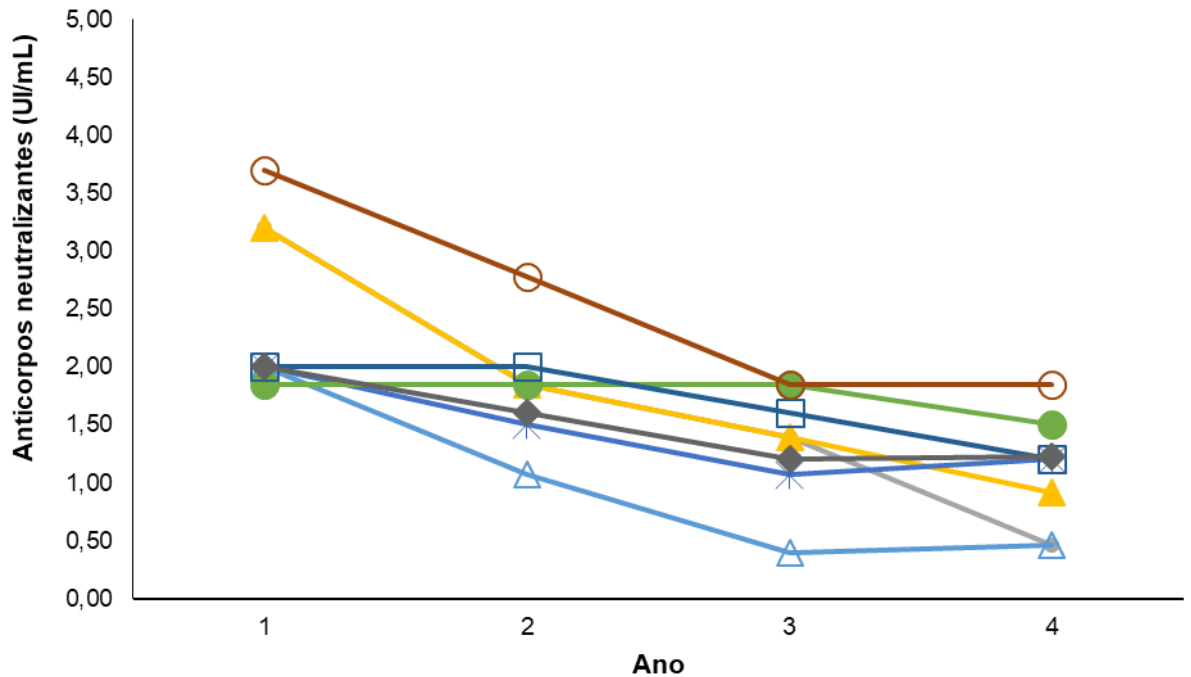


Figura 1- Dinâmica dos títulos de anticorpos neutralizantes ao longo do tempo, de oito alunos de graduação da Faculdade de Medicina Veterinária, Unesp, Araçatuba, submetidos ao esquema de profilaxia pré-exposição para a raiva.

Não foram observadas diferenças significativas na titulação entre homens e mulheres (**Figura 2A**), ou entre indivíduos que receberam uma, duas ou três doses da vacina ($p > 0,05$). No entanto, diferenças sugestivas ($p < 0,10$) foram observadas entre estes grupos, mostrando um aumento de titulação a cada dose extra da vacina (**Figura 2B**). De forma similar, indivíduos que receberam reforço vacinal apresentaram significativo incremento médio de titulação ($0,61 \pm 0,19$, $p = 0,001$) em relação aos que não receberam reforço (**Figura 2C**). Este resultado pode ter sofrido influência de viés, visto que nem todas as doses de reforço são rotineiras e registradas nas fichas de atendimento antirrábico do SINAN.

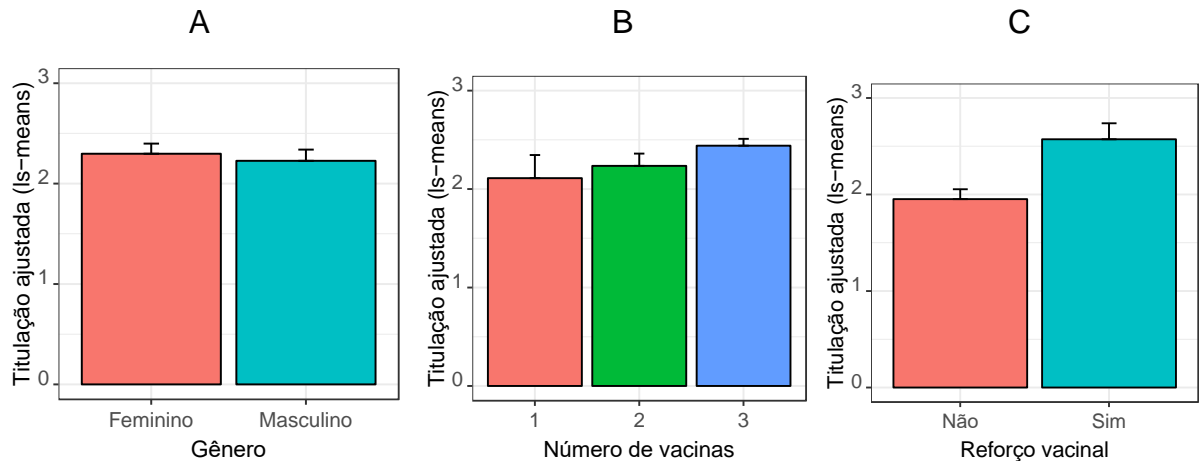


Figura 2- Distribuição dos alunos de graduação da Faculdade de Medicina Veterinária, Unesp, Araçatuba, de 2000 a 2017, segundo a titulação e o gênero (A), o número de doses de vacina (B) e o reforço vacinal (C).

DISCUSSÃO

O título de anticorpos protetores observados neste estudo foi alto, tanto quando se avaliou o total de registros de titulação da comunidade da FMVA, quanto quando se considerou somente os alunos de graduação que realizaram a PrPE completa, reconfirmando assim a capacidade imunogênica da vacina utilizada, bem como a estratégia que tem como objetivo induzir a produção de níveis elevados de anticorpos neutralizantes contra o vírus da raiva¹⁵. Embora tenham avaliado menor número de indivíduos submetidos à PrPE por via intradérmica, Cunha e seus colaboradores¹⁶ também observaram alto percentual de proteção (96,7%), em indivíduos avaliados 10 dias após a última dose. Entretanto, proteção menor (29,6%) foi observada em estudo realizado com 102 indivíduos que exerciam atividades no Hospital Veterinário da Universidade Federal do Mato Grosso, Cuiabá, e que haviam recebido a PrPE¹⁷. Além do menor número de indivíduos avaliados, o tempo decorrido entre a última dose de PrPE e a avaliação do título de anticorpos neutralizantes contra a raiva não foram mencionados naquele estudo, o que pode ter influenciado o resultado, visto que na presente pesquisa, tal avaliação foi realizada entre 10 e 30 dias após a PrPE. Além disto, sabe-se que cerca de 3% dos indivíduos

saudáveis podem apresentar níveis inferiores de anticorpos mesmo após dose de reforço¹⁸.

O fato de uma pequena parcela (10%) dos estudantes revelarem títulos satisfatórios de proteção sem terem realizado o esquema completo corrobora com os resultados do estudo realizado na Universidade Federal do Mato Grosso¹⁷, onde 7,8% dos indivíduos informaram nunca terem sido imunizados e apresentaram titulação acima de 0,5UI/mL. Além do fato de estar em contato permanente com animais, isto é, com potencial exposição ao vírus da raiva, tal resultado pode ser decorrente de erro ou falta de informação sobre o histórico vacinal destes, fato que também pode eventualmente ter ocorrido em nossa pesquisa. Esta foi uma das limitações de nosso estudo visto que a informação sobre o reforço vacinal nem sempre é registrada na ficha do SINAN, particularmente quando o indivíduo recebe tal reforço nas Unidades de Saúde, a cujos registros não tivemos acesso. A junção de todas as informações de saúde, incluindo as vacinações numa base de dados única facilitaria esta e outras avaliações.

Em nosso estudo o sexo não influenciou significativamente no título de anticorpos neutralizantes contra o vírus da raiva, conforme já observado por Mota e colaboradores¹⁸; por Lim e Barkham¹⁹ e por Cunha e colaboradores²⁰. Por outro lado, Mansfield e colaboradores²¹ observaram que mulheres apresentaram títulos de anticorpos neutralizantes significativamente maiores que os homens, em estudo retrospectivo realizado em 270 indivíduos sob risco ocupacional.

O modelo utilizado em nosso estudo para avaliar a dinâmica de anticorpos neutralizantes contra o vírus da raiva revelou decréscimo médio anual da concentração de anticorpos de 0,24 UI/mL, após a última dose de vacina. Ainda que haja variação nos valores devido a questões inerentes às técnicas de detecção de anticorpos neutralizantes, outros autores também têm observado, de diferentes formas, um decréscimo ao longo do tempo. Estudo realizado por Lim e Barkham em indivíduos com exposição ocupacional de Singapura revelou títulos de anticorpos inferiores a 0,5 UI/mL em 39,4% deles, após 1 (um) ano da vacinação completa¹⁹. Da mesma forma, o estudo de Cunha e colaboradores mostrou que apenas 20,7% dos 65 indivíduos avaliados apresentavam títulos de anticorpos adequados, após 180 dias da PrPE completa¹⁶. Mansfield e seus colaboradores avaliaram os títulos de anticorpos ao longo de 20 anos em técnicos de laboratório sob risco ocupacional e observaram redução de 37% a cada duas unidades de tempo após o esquema

vacinal inicial.²¹

Considerando-se os custos envolvidos para a avaliação do título de anticorpos neutralizantes, bem como a recomendação da OMS para a titulação dos indivíduos com permanente risco de exposição ao vírus da raiva, sugerimos que tal avaliação seja realizada a cada dois anos durante o curso de graduação, (no primeiro, terceiro e quinto anos) naqueles estudantes de Medicina Veterinária cujo acompanhamento da PrPE seja feito nos moldes aqui apresentados.

A adesão dos alunos ingressantes à PrPE contra a raiva neste estudo foi grande (85%), possivelmente por ter sido oferecida de forma concentrada e sem a necessidade de deslocamento dos estudantes, além de terem recebido esclarecimento prévio sobre a importância dessa prática. Esta hipótese é reforçada pelo resultado do estudo realizado com usuários do Sistema Único de Saúde do Estado Rio Grande do Sul em que observaram que a PrPE foi realizada somente por 11,8% da população de estudantes sob risco ocupacional, percentual este estimado de acordo com o número de vagas públicas disponíveis para os Cursos de Biologia, Medicina Veterinária e Zootecnia daquele estado¹⁸.

O protocolo de três doses de vacinas da PrPE é bastante eficaz; entretanto, com o intuito de diminuir a duração e o número de doses de vacinas alguns estudos têm avaliado outros protocolos de PrPE. Em geral, têm sido avaliadas as vias intradérmica e intramuscular, a realização do protocolo num período de 7 dias, com uma ou mais doses de vacina aplicadas em um ou mais pontos¹. Kessels e colaboradores²² realizaram revisão sistemática de nove estudos sobre a profilaxia de pré-exposição realizada de forma acelerada com vacina de cultivo em células Vero e observaram título de anticorpos adequado por até um ano. Pijper e seus colaboradores²³ realizaram estudo coorte de voluntários submetidos à duas doses de vacina em células Vero, por via intradérmica, e observaram soro conversão adequada após 15-21 dias da primeira dose em 99,3% dos voluntários. Baseada em evidências como estas, a OMS tem recomendado a aplicação de duas doses da vacina, em dois pontos, nos dias 0 e 7, por via intradérmica, ou em um só ponto, nos mesmos dias, por via intramuscular para PrPE²⁴.

Como em nosso estudo os estudantes foram vacinados apenas pela via intradérmica, não foi objetivo comparar outras vias de aplicação, avaliação muito frequente em outros estudos. De forma geral, a aplicação via intramuscular, apesar de mais fácil, requer maior quantidade de vacina, tornando a PrPE mais onerosa. Já

a via intradérmica requer recursos humanos treinados, porém utiliza a décima parte da dose via intramuscular e tem sido preferida quando da existência de pessoal capacitado para tal¹⁵.

Concluimos que a PrPE aplicada aos estudantes do curso de Medicina Veterinária teve adesão de 85%, mostrou-se eficaz para geração de título de anticorpos protetores contra o vírus da raiva, e que o título de anticorpos neutralizantes diminuiu ao longo do tempo, reforçando a necessidade de realização da titulação pelo menos a cada dois anos.

AGRADECIMENTOS

Ao Serviço de Vigilância Epidemiológica da Secretaria Municipal de Saúde de Araçatuba pela concessão dos dados; à Capes pela concessão da bolsa de mestrado à aluna Clélia Carolina Alves; ao Laboratório de Bioquímica e Biologia Molecular Animal da Unesp pelo apoio logístico; às demais pessoas que de alguma forma contribuíram para realização deste trabalho.

REFERÊNCIAS

1. World Health Organization. Expert Consultation on Rabies. Geneva: World Health Organization; 2018 Disponível em: http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/85346/1/9789240690943_eng.pdf
2. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância Epidemiológica. Protocolo para tratamento de Raiva humana no Brasil. Brasília: Ministério da Saúde; 2009 Disponível em: <http://scielo.iec.gov.br/pdf/ess/v18n4/v18n4a08.pdf>
3. Willoughby Junior RE, Tieves KS, Holfman GM, Ghanayem NS, Amle-Lefond CM, Schwabe MJ et al. Survival after treatment of Rabies with induction of coma. *New Eng J Med.* 2005;352(24):2508-14.
4. Manoj S, Mukherjee A, Johri S, Kumar KVSH. Recovery from rabies, a universally fatal disease. *Milit Med Res.* 2016;3:21.
5. Ministério da Saúde. Normas técnicas de profilaxia da raiva humana. Brasília: Ministério da Saúde; 2014. Disponível em: <http://portalarquivos.saude.gov.br/images/pdf/2015/outubro/19/Normas-tecnicas-profilaxia-raiva.pdf>
6. Costa WA. Situação atual da raiva humana no Brasil. *Rev Soc Bras Imunizações.* 2014;17-19.
7. World Health Organization. Guide for rabies pre and post exposure prophylaxis in humans. Geneva: World Health Organization; 2014. Disponível em: http://www.who.int/rabies/PEP_Prophylaxis_guideline_15_12_2014.pdf
8. Weant KA, Baker SN. Review of human rabies prophylaxis and treatment. *Crit Care Nurs Clin North America.* 2013;25(2):225-42.
9. Fuenzalida E, Palacios R. Un método para la preparación de la vacuna antirrábica. *Bol Instit Bacteriol Chile.* 1995;8:3-10.
10. Ajjan N, Pilet C. Comparative study of the safety and protective value, in pre-exposure use of rabies vaccine cultivated on human diploid cells (HDCV) and of the new vaccine grown on Vero cells. *Vaccine.* 1989;7:125-8.
11. Ramezankhanim R, Mohammad RS, Ramezzaankhani A, Mozafary JP. A comparative study on the adverse reactions of purified chick embryo cell vaccine (PCECV) and purified Vero cell rabies vaccine (PVRV). *Archives of Iranian Medicine.* 2016;19(7):502-7. Disponível em: <http://www.ams.ac.ir/AIM/NEWPUB/16/19/7/0010.pdf>.

12. Tregnaghi WM, Ceballos A, Martín PA, López LE, Arístegui J, O'ryan GM et. al. Manual de vacinas da América Latina. Brasília: Sociedade Latino-americana de Infectologia Pediátrica; 2005.
13. Ministério da Saúde. Manual de diagnóstico laboratorial da raiva. Brasília: Ministério da Saúde; 2008. Disponível em: http://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/manual_diagnostico_laboratorial_raiva.pdf
14. R Development Core Team. A Language and Environment for Statistical Computing. R Foundation, 2018. Disponível em: <https://www.r-project.org/>.
15. Warrel MJ. Current rabies vaccines and prophylaxis schedules: preventing rabies before and after exposure. *Travel Med Infectious Dis.* 2012;10:1-15.
16. Cunha RS. Equivalence between pre-exposure schemes for human rabies and evaluation of the need for serological monitoring. *Rev Saúde Pública.* 2010;44:1-7.
17. Nociti DLP, Caramori Júnior JG, Jesus LP, Samara SI, Araújo Júnior A. Anticorpos contra o vírus rábico em seres humanos com atividades no Hospital Veterinário da Universidade Federal de Mato Grosso. *Rev Soc Bras Med Trop.* 2003;36(3):355-8.
18. Strady C, Jaussaud R, Béquinot I, Lienard M, Strady A. Predictive factors for the neutralizing antibody response following pre-exposure rabies immunization: validation of a new booster dose strategy. *Vaccine.* 2000;18:2661-7.
19. Mota RSS, Schuch LFD, Schuch DGM, Osmari CP, Guimarães TG. Perfil da profilaxia antirrábica humana pré-exposição no estado do Rio Grande do Sul, 2007-2014. *Epidemiol Serv Saúde.* 2016;25(3):511-8.
20. Lim PL., Barkham TMS. Serologic response to rabies pre-exposure vaccination in persons with potential occupational exposure in Singapore. *Int J Infect Dis.* 2010;2010(14):e511-3.
21. Mansfield KL, Andrews N, Goharriz T, McElhinney LM, Brown KE, Fooks AR. Rabies pre-exposure prophylaxis elicits long-lasting immunity in humans. *Vaccine.* 2016;34(48):5959-67.
22. Kessels JA, Recuenco S, Navarro-Vela AM, Deray R, Vigilato M, Ertl H et al. A systematic review. Geneva: World Health Organization; 2016. Disponível em: <http://www.who.int/bulletin/volumes/95/3/16-173039/en/>
23. Pijper CA, Boersma J, Terryn S, Van Gucht S, Goorhuis A, Grobusch MP et al. Rabies intradermal pre-exposure prophylaxis immunizations: an observational cohort

study. *Travel Med Infect Dis*. 2018;22:36-9.

24. World Health Organization. Rabies vaccines: WHO position paper. Geneva: World Health Organization; 2018. Disponible em: <http://www.who.int/wer/2018/wer9316/en/>

ANEXO A – Norma da Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical

Escopo

A Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical é um periódico multidisciplinar, com acesso aberto, que publica pesquisas originais e estudos clínicos sobre Medicina Tropical (incluindo Epidemiologia, Patologia, Imunologia, etc.) e doenças infecciosas. É um periódico oficial da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical. Os artigos de revisão são a convite do Editor, mas também publica artigos originais, comunicações breves, relatos de caso, editoriais, cartas ao editor, imagens em doenças infecciosas e parasitárias, relatórios técnicos e números especiais (suplementos). A Revista possui um sistema de revisão por pares, é publicada em inglês e sua periodicidade é bimestral e o conteúdo é de acesso livre para os leitores e nenhuma taxa é cobrada dos autores.

Considerando que a partir de 2016, a Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical apenas recebeu suporte financeiro do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), não tendo recebido fomento de nenhum outro órgão. O suporte financeiro foi essencial para garantir a qualidade, a melhoria do fator de impacto, número de citações, a geração do XML e revisão/edição do inglês em todos os artigos aceitos, que foram pagos pela própria revista.

A partir de 2017, a Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical estabeleceu que, quando necessário, solicitará gentilmente aos autores que paguem pelo serviço profissional de revisão e edição do inglês realizado por uma empresa especializada, na versão final de seus manuscritos aceitos para publicação.

Tipos de manuscrito

A Revista convida à publicação Artigos Originais, Artigos de Revisão e Minirrevisões, Editoriais, Comunicações Breves, Relatos de Casos, Relatórios Técnicos, Imagens em Doenças Infecciosas, Cartas e Números Especiais.

Artigos Originais: devem relatar pesquisas originais que não tenham sido publicadas ou consideradas para publicação em outros periódicos. O limite de palavras é de 3.500 (excluindo resumo, título e referências). O manuscrito deve conter resumo estruturado com até 250 palavras, com os tópicos Introdução, Métodos, Resultados e Conclusões. O Manuscrito deve ser organizado incluindo os seguintes tópicos: Título, Título Corrente, Resumo Estruturado, Palavras-Chaves (máximo de cinco), Texto do Manuscrito (Introdução, Métodos, Resultados, Discussão), Agradecimentos, Conflito de Interesses, Suporte Financeiro, Lista de Referências e Título das Figuras/Legendas. Um total de cinco ilustrações (tabelas e figuras) é permitido.

Artigos de Revisão: devem ser uma análise crítica de avanços recentes e não apenas revisão da literatura, geralmente a convite do editor. Artigos de Revisão têm o limite de 3.500 palavras (excluindo resumo, título e referências). Devem ter resumo com até 250 palavras (não estruturado). Cinco ilustrações são permitidas (tabelas e figuras). São publicadas também minirrevisões. Minirrevisões têm no máximo 3.000 palavras (excluindo resumo, título e referências). Devem ter resumo (não estruturado) com até 200 palavras, três ilustrações (tabelas e figuras) e máximo de 3.000 palavras. O Manuscrito deve ser organizado incluindo os seguintes tópicos: Título, Título Corrente, Resumo não estruturado, Palavras-Chaves (máximo de cinco), Texto do Manuscrito, Agradecimentos, Conflito de Interesses, Suporte Financeiro, Lista de Referências e Título das Figuras/Legendas

Editoriais: usualmente, escritos a convite, considerando os tópicos da área de enfoque da revista, não excedendo a 1.500 palavras, sem resumo e palavras-chaves e no máximo uma

figura ou tabela e dez referências.

Comunicações Breves: devem ser relatos sobre novos resultados interessantes dentro da área de abrangência da revista. As comunicações breves devem ter no máximo 2.000 palavras (excluindo resumo, título e referências); Devem conter resumo estruturado com no máximo 100 palavras (com os tópicos Introdução, Métodos, Resultados e Conclusões) e com até 15 referências. Um máximo de três ilustrações (tabelas e figuras) é permitido. Até três palavras-chaves devem ser fornecidos. O corpo do manuscrito não devem conter subdivisões ou subtópicos. Agradecimentos, Conflito de Interesses, Suporte Financeiro devem ser incluídos.

Relatos de Casos: devem ser relatos breves com extensão máxima de 1.500 palavras (excluindo título, resumo e referências), com máximo de três ilustrações (tabelas e figuras), até 12 referências, resumo não estruturado com no máximo 100 palavras e três palavras-chaves. O Manuscrito deve ser organizado incluindo os seguintes tópicos: Título, Título Corrente, Resumo, Palavras-Chaves, Texto do Manuscrito (Introdução, Relato de Caso, Discussão), Lista de Referências e Título das Figuras/Legendas. Agradecimentos, Conflito de Interesses, Suporte Financeiro devem ser incluídos.

Relatórios Técnicos: devem ser precisos e relatar os resultados e recomendações de uma reunião de *experts*. Será considerado, se formatado como um editorial.

Imagens em Doenças Infecciosas: até três figuras com a melhor qualidade possível. Até três autores e até três referências são permitidos. O tamanho máximo é de 250 palavras (excluindo título e referências) com ênfase na descrição da figura. Os temas devem envolver alguma lição clínica, contendo título e a descrição das figuras.

Cartas: leitores são encorajados a escrever sobre qualquer tópico relacionado a doenças infecciosas e medicina tropical de acordo com o escopo da Revista. Não devem exceder 1.200 palavras, sem resumo e palavras-chaves, com apenas uma inserção (figura ou tabela) e pode tratar de material anteriormente publicado na revista, com até 12 referências.

Números Especiais: Propostas de números especiais devem ser feitas ao o Editor e/ou Editor Convidado. A proposta será analisada levando em consideração o tema, organização do programa ou produção de acordo com escopo da revista.

Preparação do manuscrito

Autores são aconselhados a ler atentamente estas instruções e segui-las para garantir que o processo de revisão e publicação de seu manuscrito seja tão eficiente e rápido quanto possível. Os editores reservam-se o direito de devolver manuscritos que não estejam em conformidade com estas instruções.

Sistema de Submissão on-line: Todos os manuscritos a serem considerados para publicação na Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical devem ser submetidos por via eletrônica através do sistema de submissão *on-line* no endereço: <http://mc04.manuscriptcentral.com/rsbmt-scielo>. O autor deve escolher dentro do item “Tipos de Manuscrito” uma categoria para o manuscrito: Artigos Originais, Editoriais, Artigos de Revisão, Comunicações Breves, Relatos de Casos, Relatórios Técnicos, Imagens em Doenças Infecciosas, Cartas, Réplica à Carta ou Outros (quando não se encaixar em nenhuma das categorias listadas). A responsabilidade pelo conteúdo do manuscrito é inteiramente do autor e seus co-autores.

Carta de Apresentação: a) deve conter uma declaração, assegurando de que se trata de pesquisa original e que, ainda, não foi publicada, nem está sendo considerada por outro periódico científico. Devem constar, também, que os dados/resultados do manuscrito não são plágio. b) deve ser assinada por todos os autores e, na impossibilidade restrita, o autor principal e o último autor podem assinar pelos outros co-autores, mediante procuração. c) Os

autores devem incluir na *Cover Letter* uma declaração de ciência de que o manuscrito, após submetido, não poderá ter a ordem, nem o número de autores alterados, sem justificativa e/ou informação à Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical. d) Devem declarar que concordam, caso o manuscrito seja aceito para publicação, transferir todos os direitos autorais para a Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical.

Contribuição dos autores: Os autores devem incluir, em documento separado, uma declaração de responsabilidade especificando a contribuição, de cada um, no estudo.

Edição da Pré-Submissão: todos os manuscritos submetidos à Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical devem ser em inglês. É altamente recomendável que os autores utilizem os serviços de uma empresa profissional de edição e/ou tradução. A revisão/edição da língua inglesa não garante que o manuscrito será aceito para publicação.

Formatação do manuscrito

O manuscrito deve ser preparado usando *software* padrão de processamento de textos e deve ser impresso (fonte *Times New Roman* tamanho 12) com espaço duplo em todo o texto, título/legendas para as figuras, e referências, margens com pelos menos 3cm. O manuscrito deve ser dividido nas seguintes seções: Cartão de Apresentação (endereçada ao Editor-Chefe), Página de Título, Título, Resumo, palavras-chaves, Texto do Manuscrito, Agradecimentos, Declaração de Conflito de Interesses, Suporte Financeiro, Lista de Referências, Título das Figuras/Legendas. A Carta de Apresentação, Página de Título, Agradecimentos e Suporte Financeiro devem ser incluídos em documentos separados (estes dois últimos podem ser incluídos junto com a Página de Título). Abreviações devem ser usadas com moderação.

Página de Título: deve incluir o nome dos autores na ordem direta e sem abreviações, afiliações institucionais (Departamento, Instituição, Cidade, Estado e País de cada autor). O endereço completo do autor para correspondência deve ser especificado, incluindo telefone, fax e e-mail. Na página de título também podem ser incluídos agradecimentos e suporte financeiro. A quantidade de autores por manuscrito deve ser limitada ao número real de autores que realmente contribuíram com o manuscrito, exceto para estudos multicêntricos nacionais e internacionais, que devem limitar-se a vinte autores. Quando exceder a vinte autores, o restante será publicado em notas de rodapé.

Indicação de potenciais revisores: Os autores são convidados a fornecer os nomes e informações de contato (e-mail e telefone) por três potenciais revisores imparciais. Favor informar revisores de instituições diferentes dos autores.

Título: deve ser conciso, claro e o mais informativo possível, não deve conter abreviações e não deve exceder a 200 caracteres, incluindo espaços.

Título Corrente: com no máximo 40 caracteres.

Resumo Estruturado: deve condensar os resultados obtidos e as principais conclusões de tal forma que um leitor, não familiarizado com o assunto tratado no texto, consiga entender as implicações do artigo. O resumo não deve exceder 250 palavras (100 palavras no caso de comunicações breves) e abreviações devem ser evitadas. Deve ser subdividido em: Introdução, Métodos, Resultados e Conclusões.

Palavras-chaves: 3 a 6 palavras devem ser listados em Inglês, imediatamente abaixo do resumo estruturado.

Introdução: deve ser curta e destacar os propósitos para o qual o estudo foi realizado. Apenas quando necessário citar estudos anteriores de relevância.

Métodos: devem ser suficientemente detalhados para que os leitores e revisores possam

compreender precisamente o que foi feito e permitir que seja repetido por outros. Técnicas-padrões precisam apenas ser citadas.

Ética: em caso de experimentos em seres humanos, indicar se os procedimentos realizados estão em acordo com os padrões éticos do comitê de experimentação humana responsável (institucional, regional ou nacional) e com a Declaração de Helsinki de 1964, revisada em 1975, 1983, 1989, 1996 e 2000. Quando do relato de experimentos, em animais, indicar se seguiu um guia do conselho nacional de pesquisa, ou qualquer lei sobre o cuidado e uso de animais em laboratório foram seguidas e o número de aprovação deve ser enviado à Revista. No caso de pesquisa em seres humanos, os autores devem incluir na seção métodos no subtítulo Considerações Éticas uma declaração de que o estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética Institucional.

Ensaio Clínico: No caso de Ensaio Clínico, o manuscrito deve ser acompanhado pelo número e órgão de registro do ensaio clínico (Plataforma REBEC). Estes requisitos estão de acordo com a BIREME/OPAS/OMS e o Comitê Internacional dos Editores de Revistas Médicas (<http://www.icmje.org>) e do Workshop ICTPR.

Resultados: devem ser um relato conciso e impessoal da nova informação. Evitar repetir no texto os dados apresentados em tabelas e ilustrações.

Discussão: deve relacionar-se diretamente com o estudo que está sendo relatado. Não incluir uma revisão geral sobre o assunto, evitando que se torne excessivamente longa.

Agradecimentos: devem ser curtos, concisos e restritos aqueles realmente necessários, e, no caso de órgãos de fomento não usar siglas.

Conflito de Interesse: todos os autores devem revelar qualquer tipo de conflito de interesse existente durante o desenvolvimento do estudo.

Suporte Financeiro: informar todos os tipos de fomento recebidos de agências de fomento ou demais órgãos ou instituições financiadoras da pesquisa.

Referências: devem ser numeradas consecutivamente, na medida em que aparecem no texto. Listar todos os autores quando houver até seis. Para sete ou mais, listar os seis primeiros, seguido por "et al". Digitar a lista de referências com espaçamento duplo em folha separada e no final do manuscrito. Referências de comunicações pessoais, dados não publicados ou manuscritos "em preparação" ou "submetidos para publicação" não devem constar da lista de referência. Se essenciais, podem ser incorporados em local apropriado no texto, entre parênteses da seguinte forma: (AB Figueiredo: Comunicação Pessoal, 1980); (CD Dias, EF Oliveira: dados não publicados). Citações no texto devem ser feitas pelo respectivo número das referências, acima da palavra correspondente, em ordem numérica crescente, separados por vírgula ou por hífen quando houver uma sequência sem intervalo. Ex.: Mundo^{1,2}; Vida^{30,42,44-50}. As referências no fim do manuscrito devem estar de acordo com o sistema de requisitos uniformes utilizado para manuscritos enviados para periódicos biomédicos (Consulte: <http://www.nlm.nih.gov/citingmedicine>). Os títulos dos periódicos devem ser abreviados de acordo com o estilo usado no *Index Medicus* (Consulte: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nlmcatalog/journals>).

A responsabilidade pelas citações bibliográficas contidas no texto e na lista de referências recai exclusivamente sobre os autores.

Alguns exemplos de referências:

1. **Citação de Artigos em Geral:** Sobrenome seguido das iniciais dos seis primeiros autores. Para sete ou mais autores, liste os seis primeiros, seguidos de "et al.", título completo do artigo (no idioma original), título abreviado do periódico (pode ser encontrado Em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nlmcatalog/journals>), ano de

publicação, volume (número), páginas inicial e final abreviada.

Exemplo 1: Petitti DB, Crooks VC, Buckwalter JG, Chiu V. Blood pressure levels before dementia. *Arch Neurol*. 2005;62(1):112-6.

Exemplo 2: Freitas EC, Oliveira MF, Vasconcelos ASOB, Filho JDS, Viana CEM, Gomes KCMS, et al. Analysis of the seroprevalence of and factors associated with Chagas disease in an endemic area in northeastern Brazil. *Rev Soc Bras Med Trop*. 2016;50(1):115-21.

2. **Capítulo de livro:** Sobrenome seguido das iniciais dos autores do capítulo, título completo do capítulo, editores, título do livro, Edição, local de publicação: editor, ano de publicação, páginas inicial e final do capítulo abreviada.

Exemplo: Blaxter PS, Farnsworth TP. Social health and class inequalities. In: Carter C, Peel JR, editors. *Equalities and inequalities in health*. 2nd ed. London: Academic Press; 1976. p. 165-78.

1. **Livro:** Sobrenome seguido das iniciais dos autores do livro, título do livro, edição, local de publicação: editor, ano de publicação e número de páginas do livro.

Exemplo: Carlson BM. *Human embryology and developmental biology*. 4th ed. St. Louis: Mosby; 2009. 541 p.

4. **Sites:** Nome do autor/organização. Título da página [Internet]. Local de publicação: Nome do editor; Data ou ano de publicação [atualizado ano mês dia; Citado ano mês dia]. Disponível em: endereço.

Exemplo: Diabetes Australia. *Diabetes globally* [Internet]. Canberra ACT: Diabetes Australia; 2012 [updated 2012 June 15; cited 2012 Nov 5]. Available from: <http://www.diabetesaustralia.com.au/en/Understanding-Diabetes/DiabetesGlobally/>

5. **5. Dissertação/Tese:** A Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical não aceitará a citação de dissertação/mestrado, teses de doutorado ou similar.

Ilustrações: devem ser submetidas, em arquivos separados, nomeados apenas com o número das figuras (exemplo: Figura 1; Figura 2). Todas as figuras devem ter numeração arábica, citadas no texto, pela primeira vez, em ordem numérica crescente.

Título e Legendas: devem ser digitados com espaçamento duplo no final do manuscrito.

Dimensões: As dimensões das figuras não devem ultrapassar o limite de 18cm de largura por 23cm de altura. Veja abaixo a correta configuração para cada formato de figura:

- **Imagens/Fotografias:** devem ser obrigatoriamente submetidas em alta resolução no formato *TIFF*. Certifique-se que a mesma foi capturada na resolução mínima de 600 DPI, preferencialmente entre 900-1200dpi, preparadas utilizando programa de Editoração de Imagens (*Adobe Photoshop, Corel Photo Paint, etc*).
- **Gráficos:** Devem ser criados usando software estatístico e devem ser salvos/exportados com a extensão original (*.xls, .xlsx, .wmf, .eps ou .pdf*).
- **Mapas:** devem ser vetorizadas (desenhados) profissionalmente utilizando os *softwares Corel Draw ou Illustrator* em alta resolução.

Tabelas: devem ser digitadas com espaçamento simples, com título curto e descritivo (acima da tabela) e submetidas em arquivos separados. Legendas para cada tabela devem aparecer abaixo da mesma. O significado de todas as siglas e símbolos utilizados na tabela devem constar no rodapé da tabela. Todas as tabelas devem ter numeração arábica, citadas no texto, em ordem numérica crescente. Tabelas não devem ter linhas verticais, e linhas horizontais

devem ser limitadas ao mínimo. Tabelas devem ter no máximo 18cm de largura por 23cm de altura, fonte *Times New Roman*, tamanho 9.

Processo de Envio: os artigos submetidos à Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical deverão utilizar apenas a via eletrônica. Todos os manuscritos deverão ser enviados via internet para <http://mc04.manuscriptcentral.com/rsbmt-scielo>, seguindo as instruções no topo de cada tela. O processo de revisão pelos pares também será totalmente pela via eletrônica.

Sobre Reenvio e Revisões: a revista diferencia entre: a) manuscritos que foram rejeitados e b) manuscritos que serão re-avaliados após a realização das correções que foram solicitadas aos autores.

Reenvio: caso o autor receba uma carta informando que seu trabalho foi rejeitado e queira que os editores reconsiderem tal decisão, o autor poderá re-enviá-lo. Neste caso será gerado um novo número para o manuscrito.

Revisão: caso seja necessário refazer seu manuscrito com base nas recomendações e sugestões dos revisores, ao devolvê-lo, para uma segunda análise, por favor, encaminhe o manuscrito revisado e informe o mesmo número do manuscrito.

Após a Aceitação: Uma vez aceito para publicação, o processo de publicação inclui os passos abaixo:

1. Formulário de concessão de direitos autorais, fornecido pela secretaria da revista, deve retornar para a revista assinado pelos autores.
2. Provas: serão enviadas ao autor responsável, mencionado no endereço para correspondência, no formato PDF, para que o texto seja cuidadosamente conferido. Nesta etapa do processo de edição, não serão permitidas mudanças na estrutura do manuscrito. Após os autores receberem as provas, deverão devolvê-las assim que possível.
3. Os artigos aceitos comporão os números impressos obedecendo ao cronograma em que foram submetidos, revisados e aceitos.
4. Todos os artigos aceitos que ainda não tenham sido impressos estarão disponíveis online enquanto aguardam publicação na versão impressa (*ahead of print*).

Custos de Publicação: Não haverá custos de publicação.

A Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical não indica qualquer tipo de serviços de tradução.

A tradução de todo manuscrito deve ser realizada antes da submissão do mesmo. A contratação e o pagamento dos serviços de tradução são de responsabilidade dos autores. Custos de publicação de imagens coloridas são de responsabilidade dos autores.

Workflow

Workflow do processo de submissão da Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical

Todos os manuscritos a serem considerados para publicação na Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical devem ser submetidos por via eletrônica através do sistema de submissão *online* no endereço <http://mc04.manuscriptcentral.com/rsbmt-scielo>.

Política de Revisão do Periódico (*workflow*):

1. Todos os manuscritos submetidos para publicação na Revista da Sociedade Brasileira

de Medicina Tropical são inicialmente avaliados pela Secretaria quanto à adequação do texto às normas do periódico.

2. Após esta etapa, os manuscritos adequados às Normas Para Publicação da Revista serão avaliados pelo Editor ou Editores Associados quanto ao escopo e a política editorial do periódico. A Secretaria envia o manuscrito para o Editor-Chefe.
3. O Editor-Chefe designa um Editor Associado ou designa revisores.
4. O manuscrito será enviado a pelo menos dois revisores num sistema duplo-cego para avaliação e emissão de um relatório fundamentado (*peer review*), que será usado pelos Editores para decidir se o manuscrito será aceito ou não. O manuscrito também é enviado para Revisores de Métodos Quantitativos para análise. No caso de conflito de pareceres dos revisores, o manuscrito será enviado a um terceiro parecerista para validar uma decisão final.
5. Comentários dos Revisores (*Free Form Review*) serão encaminhados ao autor correspondente (autor principal para correspondência editorial) para responder aos questionamentos feitos.
6. Os autores enviam suas respostas aos questionamentos e reenviam a versão revisada do manuscrito. A versão revisada será enviada aos revisores que emitirão um relatório final fundamentado.
7. Os apontamentos dos Revisores e as respostas dos autores serão analisados pelo Editor-Chefe, Editores Associados ou Editores de Seção.
8. O Editor-Chefe emite uma decisão final.
9. A decisão editorial final (aceitação ou rejeição) é enviada aos autores.
10. Após esta etapa, inicia-se o processo de edição. O manuscrito aceito é enviado à edição quanto à qualidade linguística do inglês.
11. A revisão de inglês é enviada aos autores para análise e declaração de aceitação da revisão.
12. Após esta etapa, inicia-se o processo de diagramação, com contato com o autor correspondente no que diz respeito às figuras, tabelas, fotografias, mapas, ilustrações e formatação em geral.
13. Após esta etapa, é requerido aos autores declarar formalmente qualquer conflito de interesse, suporte financeiro e cessão de direitos autorais.
14. Provas são enviadas ao autor correspondente para cuidadosa correção e acuidade tipográfica.
15. A versão final de cada manuscrito é selecionada para compor o próximo número e será enviada ao *Ahead of Print* na plataforma SciELO.
16. A versão impressa é publicada a cada dois meses e será disponibilizada em acesso aberto em <http://www.scielo.br/rsbmt>.