LILIA MARA MESQUITA DUTRA

Perfil da Imunidade Humoral para o vírus da febre amarela em Duas Populações Assintomáticas da Zona Rural de Região de Mata Atlântica do Estado de São Paulo, Brasil.

Tese apresentada ao Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo, para a obtenção do Título de Doutor em Ciências (Microbiologia).

Área de concentração: Microbiologia

Orientador: Edison Luiz Durigon

**São Paulo
2009**

RESUMO

DUTRA, L. M. M. Perfil da Imunidade Humoral para o vírus da febre amarela em Duas Populações Assintomáticas da Zona Rural de Região de Mata Atlântica do Estado de São Paulo, Brasil. 79 f. Tese- Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2009.

A Febre Amarela (FA) é uma doença viral infecciosa, não contagiosa que pode se manifestar desde um quadro febril até a forma clássica íctero-hemorrágica, cujo agente etiológico é o vírus da febre amarela (VFA). A doença tem avançando para as regiões sudeste e sul do País com um aumento de 4 vezes o número de vítimas fatais. O presente trabalho teve como objetivos avaliar o perfil sorológico e possível circulação do vírus da febre amarela (VFA) em duas populações assintomáticas, bem como avaliar a proteção vacinal destas populações do Estado de São Paulo. Um total de 238 soros foram coletados, 152 (Jacupiranga) e 86 (Teodoro Sampaio). Foram detectados um total 15,9% (38/238) de anticorpos IH contra o vírus selvagem e/ou vacinal. Destes 13,16% (5/38) anticorpos IH foram provenientes dos soros de Jacupiranga e 86,84 (33/38) de Teodoro Sampaio. Anticorpos neutralizantes foram detectados em 34% (13N/38IH) dos IH reativos, destes 15,38% (2/13) foram oriundos de Jacupiranga e 84,62% (11/13). A detecção de anticorpos neutralizantes nos indivíduos de Jacupiranga levantam a necessidade de pesquisas futuras na busca do vírus da febre amarela nos seus reservatórios e vetores silvestres. Não houve a detecção do genoma viral por RT-PCR nas duas populações, bem como a detecção de anticorpos IgM específicos, por meio da reação de MACELISA, o que evidencia a não circulação recente deste vírus nas populações estudadas. O grau de imunização na população de Teodoro Sampaio, com histórico de vacinação, por meio das reações de IH e Neutralização foi baixo, uma vez que somente 42,30% da população apresentou anticorpos inibidores da hemaglutinação e o grau de proteção pela reação de neutralização foi de apenas 33,33%. Este trabalho aponta não só para a necessidade de monitoramento pós-vacinal em áreas endêmicas de febre amarela, com indicação de vacinação, como também a necessidade de estudos epidemiológicos, uma vez que se detectou reação monotípica no teste do IH, além de anticorpos neutralizantes para o vírus selvagem da febre amarela em um indivíduo residente em município de risco para a febre amarela.

Palavras-chave: Febre Amarela; vírus da febre amarela; Flavivirus; Região do vale do Ribeira; Região do Pontal do Paranapanema.

ABSTRACT

DUTRA, L.M.M. **Humoral immunity profile against the yellow fever virus of two asymptomatic populations from the Atlantic Forest rural region of Sao Paulo State, Brazil. 72 f.**

Doctor thesis- Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2009.

Yellow fever (YF) is a non-contagious infection disease. The clinical signs can be a nonspecific fever or the classical ictero-hemorrhagic form as a result of the Yellow Fever virus (YFV) infection. Considering the recent spread of the disease to the South and Southeast of Brazilian regions and the increased number of fatal cases, the aim of this study was to evaluate the possible circulation of the YFV, using the IgM enzyme-linked immunosorbent assay (MACELISA) and Reverse transcriptase polymerase chain reaction (RT-PCR), as well as, to conduct a serological inquire and evaluate the protective vaccine response, by the hemagglutination inhibition test (HI) and serum neutralization test (SN), in the rural population of Jacupiranga and Teodoro Sampaio, located in the southern region of Brazil. A total of 238 serum samples were tested, 152 from Jacupiranga and 86 from Teodoro Sampaio. Of the serum collected, 15,9% (38/238) were positive by HI, using wild and vaccine strains of YF, and out of these 13,16% (5/38) were from Jacupiranga and 86,84% (33/38) were from Teodoro Sampaio. Neutralizing antibodies were detected in 34% of the HI positive samples (13SN/38HI) and out of these 15,38% (2/13) were from Jacupiranga and 84,62% (11/13) were from Teodoro Sampaio. None of the samples were positive by MACELISA and RT-PCR indicating no evidences of recent virus circulation in the population analyzed in this study. However, the YF neutralizing antibodies detection in samples from Jacupiranga indicates the necessity of further researches in order to detect the YFV in its wild reservoirs and vectors. On the other hand, considering that 42,30% of the Teodoro Sampaio samples were positive by HI and out of these only 33,33% had neutralizing antibodies to the YFV, our results also pointed out to the importance of pos-vaccination protective immunity surveys, in order to evaluate the efficiency of the vaccines in endemic areas.

Key-words: Yellow fever; yellow fever virus; *Flavivirus*; Ribeira Valey Region; Pontal do Paranapanema Region.

1 INTRODUÇÃO

A Febre Amarela (FA) é uma doença infecciosa, não contagiosa, causada por um arbovírus, cujo agente etiológico é o vírus da febre amarela (VFA). É uma doença que já provocou muitas mortes no passado, mas que atualmente encontra-se controlada nas regiões de ocorrência, devido à utilização da vacina 17DD e às ações do serviço de vigilância epidemiológica. Os casos esporádicos que vem ocorrendo são restritos ao ciclo enzoótico atingindo o homem quando este entra no ciclo natural por motivos de lazer ou trabalho. É encontrada na África e nas Américas Central e do Sul tropical, sendo a África responsabilizada por 90% de todos os casos e a América do Sul por 10%. Brasil, Bolívia e Peru lideram os números de incidência na América do Sul. No Brasil, a FA era uma doença focalizada na região Norte, contudo devido às mudanças climáticas e de comportamento humano, observa-se uma tendência de deslocamento da doença para as regiões Centro-Oeste e Sudeste do país.

O vírus amarílico pode levar a quadros assintomático, leve, moderado ou grave. Formas assintomáticas e leves são de difícil diagnóstico, sendo diagnosticadas somente quando há uma epidemia. As formas leves e moderadas tem início abrupto, com febre leve ou moderada, calafrio, cefaléia, dor lombar, náuseas, vômitos, mialgia, prostração, congestão conjuntival, artralgia e fotofobia com duração em torno de 3 dias. Após esse período, a doença pode evoluir para a cura ou agravamento do caso.

O diagnóstico de FA em áreas endêmicas não é difícil. Todavia, quando ocorrem casos esporádicos em viajantes ou residentes de áreas não-endêmicas, o diagnóstico se torna difícil, uma vez que o diagnóstico clínico da doença pode ser confundido com o de outras de manifestação semelhante, como hepatite viral, malária, leptospirose, septicemia por bactérias gram negativas, febre maculosa brasileira e febres hemorrágicas virais - todas de ocorrência no Brasil. Os cruzamentos dos dados epidemiológicos, clínicos e laboratoriais auxiliam no diagnóstico correto da doença, sendo o último, o que confirma a exposição ao vírus. O diagnóstico laboratorial pode ser feito por meio de diferentes métodos, dentre eles, o virológico, sorológico e histopatológico que respectivamente isolarão o vírus, detectarão os antígenos, o ácido nucleico, os anticorpos produzidos contra o vírus e as lesões anatomo-patológicas.

Não há tratamento específico para a FA. Promove-se um tratamento com medicamentos de combate aos sintomas e aos sinais manifestos da doença nos casos leves e moderados. Nos caso de formas graves, recomenda-se o internamento do paciente, em

hospitais, de preferência, possuidores de unidade de tratamento intensivo.

Na área urbana, faz-se o combate ao *Aedes aegypti*, quando os índices de infestação são superiores a 5%, de acordo com as técnicas preconizadas no controle de vetores da FA e Dengue. A proteção individual também é recomendada, como o uso de repelentes e mosquiteiros, bem como a vacinação para aqueles que vivem em área enzoótica ou dirigir-se a elas. A vacina tem o objetivo de conferir proteção individual, proteção coletiva e bloquear a propagação geográfica da doença criando uma barreira de imunidade na prevenção de epidemias.

A FA é considerada uma doença reemergente devido ao aumento da incidência da doença em relação há 20 anos atrás, tanto na África quanto na América. Muitos fatores como o desmatamento, o uso do solo, a construção de represas, de rodovias, além da colonização humana, da importação e exportação de animais eventualmente infectados, e a urbanização desordenada, estão associados à emergência e re-emergência de importantes arbovírus, alguns, inclusive, com atividade patogênica em seres humanos - entre eles, o vírus da febre amarela (VFA). Como a FA é uma doença de sintomatologia aparentemente semelhante à de outras doenças, a subnotificação se torna aparente somente quando a casuística se eleva. Muitas vezes, quando as epidemias são evidenciadas em determinadas comunidades, a disseminação do vírus já ocorreu para outros locais tornando difícil seu controle. Devido a estes fatores, fazem-se necessárias intensas investigações para verificar a circulação do VFA tanto nas áreas endêmicas como nas áreas não endêmicas, com o objetivo de antecipar medidas de controles e evitar a disseminação do vírus para as áreas urbanas.

Pelo exposto, o presente trabalho teve como objetivo avaliar o *status* sorológico e circulação do vírus da febre amarela em duas populações distintas do Estado de São Paulo.

2 CONCLUSÕES

1. Indivíduos com títulos de IgM não detectáveis contra FA e amostras RT-PCR negativas para o vírus da FA: indica que não houve contato recente do vírus da FA com indivíduos dos municípios estudados.

2. Jacupiranga (área não endêmica da doença): 98,68% da população não apresentou anticorpos neutralizantes.

Dos 90 indivíduos não-vacinados - **1 apresentou** anticorpos neutralizantes (1,11%)

Dos 18 indivíduos vacinados - **apenas 1 apresentou** anticorpos neutralizantes (5,55%)

3. Teodoro Sampaio (área de ocorrência da doença): 87,20% da população não apresentou anticorpos neutralizantes.

Dos 78 indivíduos vacinados - 10 apresentaram anticorpos neutralizantes (12,82%) e um deles com reação monotípica para o vírus selvagem no HI.

Dos 4 indivíduos não-vacinados - 1 apresentou anticorpo neutralizantes (25%)

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ARAÚJO, T. P. et al. Diagnóstico sorológico de infecções por dengue e febre amarela em casos suspeitos no Estado do Pará, Brasil, 1999. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.**, v. 35, n. 6, p. 579-584, 2002.

BABA, S. S. et al. D. Antigenic Relatedness of Selected Flaviviruses: Study with Homologous and Heterologous Immune Mouse Ascitic Fluids. **Rev. Inst. Soc. Bras. Med. Trop. S. Paulo**, v. 40, n. 6, 1998. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0036-46651998000600002>. Acesso 20 ago. 2009.

BAE, H.G. et al. Immune response during adverse events after 17D-derived yellow fever vaccination in Europe. **J. Infect. Dis.**, v. 197, n.11, p. 1577-1584, 2008.

BARRETT, A. D. T.; TEUWEN, D. E. Yellow fever vaccine- how does it work and why do rare case s of serious adverse events take place? **Curr. Opin. Immunol.**, v. 21, p. 308-313, 2009.

BARRETT, A. D.; HIGGS, S. Yellow fever: A disease that has Yet to be Conquered. **Ann.Rev. Entomol.**, v. 52, p. 209-229, 2007.

BARRETT, A. D.T.; MONATH, T. P. Epidemiology and Ecology of Yellow Fever Virus. **Adv. Res.**, v. 61, p. 291-315, 2003.

BEARCROFT, W. G. C. The histopathology of the liver of yellow fever-infected Rhesus monkeys. **J. Pathol.**, v. 74, p. 295-303, 1957.

BOLETIM EPIDEMIOLÓGICO PAULISTA. **Casos de febre amarela silvestre em Residentes do Estado de São Paulo, 2007-2008**. Publicação mensal sobre agravos à saúde pública. São Paulo; SP. v. 5, n. 55, p. 12-15, 2008.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. **Guia de Vigilância Epidemiológica**/Ministério da Saúde, 6. ed., Brasília, DF: 2006. Disponível em: <http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/Guia_Vig_Epid_novo2.pdf>. Acesso em: 26 ago. 2009.

* De acordo com: Associação Brasileira de Normas Técnicas. NBR 6023: Informação e documentação: referências: elaboração. Rio de Janeiro, 2002.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. **Manual de vigilância de epizootias em primatas não-humanos**, Brasília, DF: 2005b. Disponível em: <http://portal.saude.gov.br/portal/saude/profissional/area.cfm?id_area=1552>. Acesso em: 26 ago. 2009.

BRASIL. Ministério da Saúde. Superintendência de Campanhas de Saúde Pública. **Manual de vacinação antiamarilica: Instruções para vacinadores**, Brasília, DF: 1987.

BRASIL. Ministério da Saúde. Biblioteca virtual em saúde. **Febre Amarela**. Comunicado 14 de janeiro de 2008. Brasília, DF, 2008. Disponível em: <<http://bvsms.saude.gov.br/bvs/febreamarela/materiaisqcomunicado140108.pdf>>. Acesso em: 25 ago. 2009.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. **Guia de Vigilância em Saúde da Secretaria de Vigilância em Saúde**, Brasília, DF, 2005a. <http://portal.saude.gov.br/portal/saude/profissional/area.cfm?id_area=1552>. Acesso em: 25 jul. 2009.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. **Manual de Vigilância Epidemiológica de Febre Amarela**. Brasília, DF, 1999. Disponível em: <http://portal.saude.gov.br/portal/saude/profissional/area.cfm?id_area=1552>. Acesso em: 25 jul. 2009.

BRÉS, P. L. J. A century of progress in combating yellow fever. **Bull. World Health Organ.**, v. 64, p. 775-786, 1986.

BROZONI, R. V. M. et al. **Desenvolvimento de métodos Multiplex-RT- Nested-PCR para diagnóstico de arboviroses brasileiras**. 52 f. Tese (Doutorado) - Universidade de São Paulo, São Paulo, 2003.

BRYANT, J. et al. Enzootic Transmission of Yellow Fever Virus in Peru. **Emerg. Infect. Dis.**, v. 9, n. 8, p. 926-933, 2003a.

BRYANT, J.E.; BARRET, A. D. T. Comparative Phylogenies of yellow fever isolates from Peru and Brazil. **FEMS Immunol. Med. Microbiol.**, v. 39, p.103-118, 2003b.

CALISHER, C. H. et al. Antigenic relationships between Flaviviruses as determined of by cross-neutralization tests with polyclonal antisera. **J. Gen Virol.**, v. 70, p 37-43, 1989.

* De acordo com: Associação Brasileira de Normas Técnicas. NBR 6023: Informação e documentação: referências: elaboração. Rio de Janeiro, 2002.

CAMACHO, L. A. B. et al. Immunogenicity of WHO-17D and Brazilian 17DD yellow fever vaccines: a randomized trial. **Rev. Saúde Pública.** v. 38, n. 5, p. 671-678, 2004.

CAMARGO-NEVES et al. Entomological investigation of a sylvatic yellow fever area in São Paulo State, Brazil. **Cad. Saúde Pública.** v. 21, n. 4, p. 1278-1286, 2005.

CASALS, J. Complement fixation test with encephalitis viruses. **J. Immunol.,** v. 56, p. 337-341, 1947.

CLARCKE, D. H.; CASALS, J. Techniques for hemagglutination and hemagglutination-inhibition with arthropod-borne viruses. **J. Trop. Med. Hyg.,** v. 7. p 561-573, 1958.

CLARKE, D. H. Antigenic Analysis of certain group B arthropod-borne viruses by antibody absorption. **J. Exp. Med.,** v. 111, p. 21-32, 1960.

COIMBRA, T. L. M. et al. Investigação epidemiológica de casos de Febre Amarela na Região Noroeste do Estado de São Paulo, Brasil. **Rev. Saúde Publ.,** v. 21, n. 3, p. 193-199, 1987.

CRILL, W. D.; CHANG, G. J. Localization and Characterization of flavivirus envelope glycoprotein cross-reactive epitopes. **J. Virol.,** v. 78, n. 24, p. 13975-13986, 2004.

DAFFIS, S. et al. Antibody responses against wild-type yellow fever virus and the 17D vaccine strain: Characterization with human monoclonal antibody fragments and neutralization escape variants. **Virology,** v. 337, p. 262-272, 2005.

DEGALLIER, N. et al. A comparative study of yellow fever in Africa and South America. **Ciência e Cultura. J. Braz. Assoc. Advanc. Sci.** v., 44(2/3), p.: 143-151, 1992.

DEUBEL, V. et al. Comparison of the enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) with standard tests used to detect yellow fever virus antibodies. **Am. J. Trop. Med. Hyg.,** v. 32, p. 565-568, 1983.

DOBLAS, A. et al. Yellow Fever vaccine-associated Viscerotropic disease and death in Spain. **J. Clin. Virol.,** v. 36, p.156-158, 2006.

DROSTEN C. et al. Molecular diagnostics of viral hemorrhagic fevers. **Antiviral Res.,** v. 57, p. 61-87, 2003.

* De acordo com: Associação Brasileira de Normas Técnicas. NBR 6023: Informação e documentação: referências: elaboração. Rio de Janeiro, 2002.

ENGEL, A. R. et al. Characterization of a viscerotropic yellow fever vaccine variant from a patient in Brazil. **Vaccine**, v. 24, p. 2803-2809, 2006.

FERNANDES, G. C. et al. Neurological adverse events temporally associated to mass vaccination against yellow fever in Juiz de Fora, Brazil, 1999-2005. **Vaccine**, v. 25, p. 3124-3128, 2007.

FERREIRA, W. A. et al. In: FERREIRA, W. A.; ÁVILA, S. L. M. (Ed.). **Diagnóstico Laboratorial das Principais Doenças Infecciosas e Auto-imunes**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2001. p. 9-60.

FIELDS, B. N. et al. **Field's Virology**. 5 ed. New York: Raven Press, 2007.

FIGUEIREDO, L. T. M. Emergent Arboviruses in Brazil. Arboviroses Emergentes no Brasil. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.**, v. 40, n. 2, p. 224-229, 2007.

FIGUEIREDO, L. T. M. Febres hemorrágicas por vírus no Brasil. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.**, v. 39, n. 2, p. 203-210, 2006.

FIGUEIREDO, L. T. M. et al. Identification of Brazilian Flaviviruses by a simplified reverse transcription-polymerase chain reaction method using Flavivirus universal primers. **Am. J. Trop. Med. Hyg.**, v. 59, n. 3, p. 357-362, 1998.

FORATTINI, O. P. et al. Preferências Alimentares de Mosquitos Culicidae no Vale do Ribeira, São Paulo, Brasil. **Rev. Saúde Publ.**, v. 21, n. 3, p. 171-187, 1987.

FOX, J. P.; CABRAL, S. M. The duration of immunity following vaccination with the 17D strain of yellow fever virus. **Am. J. Hyg.**, v. 37, p. 93-120, 1943.

FRANCO, O. **História da Febre Amarela no Brasil**. Ministério da Saúde. DNERU, Rio de Janeiro. 1969.

GALLER, R. et al. The yellow fever 17D vaccine virus: molecular basis of viral attenuation and its use as an expression vector. **Braz. J. Med. Biol. Res.**, v. 30, p. 157-158, 1997.

* De acordo com: Associação Brasileira de Normas Técnicas. NBR 6023: Informação e documentação: referências: elaboração. Rio de Janeiro, 2002.

GOMÉZ, S. Y.; OCAZIONEZ, R. E. Anticuerpos Neutralizantes contra el Virus de la Fiebre Amarilla 17D en Colombianos Vacunados y no Vacunados con Inmunidad a Dengue. **Rev Salud Publica.**, v.10, n. 5, p. 796-807, 2008.

GOULD, E. A. et al. Examination of the Immunological Relationships between Flavivirus Using yellow fever virus Monoclonal Antibodies. **J. Gen Virol.**, v. 66, p. 1369-1382, 1985.

GROOT, H.; BAHIA, R. R. Neutralizing and haemagglutination-inhibiting antibodies ro yellow fever 17 years after vaccination with 17 D vaccine. **Bull World Health.**, v. 27, p. 699-707, 1962.

GUBLER, D. J. et al. Climate Variability and Change in the United States: Potential Impacts on Vector- and Rodent-Borne Diseases. **Environ. Health Perspectives**, v. 109. Suplemento 2, p. 223-233, 2001.

GUERRA, H. L. et al. Efetividade da vacina ANTIAMARÍLICA 17D: Uma avaliação epidemiológica em serviços de Saúde. **Rev. Panam. Salud. Publica/Pan. Am. J. Public Health.**, v. 2, n. 2, p. 115-120, 1997.

HERVÉ, J. P.; ROSA, A. P. A. T. Ecologia da febre amarela no Brasil. **Rev. Fund. Sesp.**, v. 28, n. 1, p.11-19, 1983.

HIRAMATSU, K. et al. Mutational analysis of a neutralization epitope on the dengue type 2 virus (DEN2) envelope protein: monoclonal antibody resistant DEN2/DEN4 chimeras exhibit reduced mouse neurovirulence. **Virology**. v. 224, n. 2, p. 437-445, 1996.

HOFFMANN, B. et al. A universal heterologous internal control system for duplex real-time RT-PCR assays used in a detection system for pestiviruses. **J. Virol. Methods**. v. 136, p. 1-2, 2006.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. IBGE Cidades@. São Paulo, SP, 2007. Disponível em: <<http://www.ibge.gov.br/cidadesat/topwindow.htm?1>>. Acesso em: 20 ago. 2009. Informações sobre os municípios de Jacupiranga e Teodoro Sampaio.

INSTITUTO FLORESTAL (IF). Parque Estadual Morro do Diabo, Teodoro Sampaio; SP. Disponível em: <http://www.iflorestsp.br/dfee/p_e_morro.htm>. Acesso em: 24 ago. 2009.

* De acordo com: Associação Brasileira de Normas Técnicas. NBR 6023: Informação e documentação: referências: elaboração. Rio de Janeiro, 2002.

IVERSSON, L. et al. Estudos sorológicos para pesquisa de anticorpos de arbovírus em população humana da região do vale do ribeira. Ii- inquérito em pacientes do hospital regional de pariquera-açú. **Rev. Saúde Pública**, v. 15, p. 587-602, 1981.

JENNINGS, A. D. et al. Analysis of a yellow fever virus isolated from a fatal case of vaccine-associated human encephalitis. **J. Infect. Dis.**, v. 169, p. 512-518, 1994.

JONES, C. T. et al. Flavivirus Capsid is a dimeric alpha-helical protein. **J. Virol.**, v. 77, n. 12, p. 7143-7149, 2003.

KEELAPANG, P. et al. Alterations of pr-M cleavage and vírus export in pr-M junction chimerik Dengue viruses. **J. Virol.**, v. 78, n.5, p. 2367-2381, 2004.

KOFLER, R. M. et al. Capsid protein C of tick-borne encephalitis virus tolerates large internal deletions and is a favorable target for attenuation of virulence. **J. Virol.**, v. 76, p. 3534-3543, 2002.

KUNO, G. et al. Detecting Artificial Anti-dengue IgM Immune Complexes Using an Enzyme-Linked Immunosorbent Assay. **Am. J. Trop. Med. Hyg.**, v. 36, n. 1, p. 153-159, 1985.

KUNO, G. et al. Phylogeny of the genus Flavivirus. **J. Virol.**, v. 72, p. 73-83, 1998.

LEE, E.; LOBIGS, M. E. Protein III Determinants of Yellow Fever Virus 17D Vaccine Strain Enhance Binding to Glycosaminoglycans, Impede Virus Spread, and Attenuate Virulence. **J. Virol.**, v. 82, p. 6024-6033, 2008.

LEMESHOW S; HOSMER DW, JR. A review of goodness of fit statistics for use in the development of logistic regression models. **Am J Epidemiol.**, v. 115, n.1, p. :92-106, 1982.

LIMA, V. L. C. et al. Dengue: Inquérito sorológico pós-epidêmico em zona urbana do Estado de São Paulo (Brasil). **Rev. Saúde Pública.**, v. 33, n. 6, p.566-574, 1999.

LIN, C.W.; WU, S. C. A Functional Epitope Determinant on Domain III of the Japanese Encephalitis Virus Envelope Protein Interacted with Neutralizing-Antibody Combining Sites. **J. Virol.**, v. 77, n. 4, p. 2600–2606, 2003.

* De acordo com: Associação Brasileira de Normas Técnicas. NBR 6023: Informação e documentação: referências: elaboração. Rio de Janeiro, 2002.

LINDSEY, N. P. et al. Adverse event reports following yellow fever vaccination. **Vaccine**. V 26, n. 48, p. 6077-6082, 2008.

LOPES, O. et al. Studies on yellow fever vaccine. III-Dose response in volunteers. **J Biol Stand.**, v.16, p. 77-82, 1988. *J. Biol. Stand.*, v. 16, p. 77-82, 1988.

LOSEVEI, A. L. Culcideos (mosquitos). In: Marcondes, C. B.; Losevei, A. L.; Dujardim, J. P.; Da Cunha, M. C. I.; Serra-Freire, N. M.; Linardi, P. M.; Gleiser, R. M.; Bassi, R. M. (Org). **Entomologia Médica e Veterinária**. São Paulo: Atheneu, 2001. p. 59-104.

MANDL, C. W. et al. Antigenic Structure of the Flavivirus Envelope Protein E at the Molecular Level, Using Tick-Borne Encephalitis Virus as a Model. **J. Virol.**, v. 63, n. 2, p. 564-571, 1989.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Áreas de risco para a febre Amarela**. Brasília, DF, 2009a. Disponível em: <http://portal.saude.gov.br/portal/saude/visualizar_texto.cfm?idtxt=27941>. Acesso em: 28 ago. 2009. Mapa.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. Centro de Vigilância em Saúde. **Áreas com recomendação de vacina contra a febre amarela no Brasil, 2008/2009**. Brasília, DF, 2009b. Disponível em: <http://www.cve.saude.sp.gov.br/htm/zoo/fa09_novas_areaviaja.htm>. Acesso: 28/08/2009.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. Centro de Vigilância em Saúde. Febre Amarela Silvestre, Estado de São Paulo, 2009. Boletim de Atualização. São Paulo, SP, 2009c. Disponível em: <ftp://ftp.cve.saude.sp.gov.br/doc_tec/ZOO/Boletim_FASP260509.pdf>. Acesso em. 30 ag. 2009.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. Secretaria de Vigilância em Saúde. **Ocorrência de casos de Febre Amarela Silvestre no Estado de São Paulo**. Brasília, DF, 2008b Disponível em: <http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/boletim_fa10062008.pdf>. Acesso em: 30 ago.2009.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. Secretaria de Vigilância em Saúde. **Situação da Febre Amarela Silvestre no Brasil, 2007/2008**. Boletim de Encerramento 2007-2008. Brasília, DF, 2008a Disponível em:<http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/boletim_svs_febre_amarela_11_06.pdf>. Acesso em: 30 ago. 2009.

MODIS, Y. et al. Variable Surface Epitopes in the Crystal Structure of Dengue Virus Type 3 Envelope Glycoprotein. **J. Virol.**, v. 79, p. 1223–1231, 2005.

* De acordo com: Associação Brasileira de Normas Técnicas. NBR 6023: Informação e documentação: referências: elaboração. Rio de Janeiro, 2002.

MONATH, T. P. et al. Limitations of the complement-fixation test for distinguishing naturally acquired from vaccine induced yellow fever infection in Flavivirus-hyperendemic areas. **Am. J. Tropic. Med. Hyg.**, v. 29, p. 624-634, 1980.

MONATH, T. P. Yellow fever. An update. **Lancet infect. Dis.**, v. 1, p. 11-20, 2001.

MONATH, T. P. Yellow Fever. In: Vasconcelos P. F. C. Febre Amarela. **Rev. Soc. Bras. Med. Tropic.** p. 275-293, 1988 .

MONATH, T. P. Yellow Fever. **Medicine.**, v. 33, n. 7, p. 21-23, 2005.

MONATH, T. P. Dengue and Yellow fever. Challenges for the development and use of vaccines. **N. Eng. J. Med.**, v. 357, p. 2222-2225, 2007.

MUBARAK, O. K. et al. Antibody Response to 17D yellow fever vaccine in Ghanaian infants. **Bull. World Health Organ.**, v. 79, n. 11, p. 1056-1059, 2001.

MUTEBI, J. P. et al. Phylogenetic and evolutionary relationships among yellow fever virus isolates in África. **J. Virol.**, v. 75, n. 15, p. 6999-7008, 2001.

NETO, T. J. et al. Pesquisa de anticorpos contra arbovírus e o vírus vacinal da febre amarela em uma amostra da população de Rio Branco, antes e três meses após a vacina 17D. **Rev. Soc. Bra. Med. Trop.**, v. 37, n. 37, p. 1-6, 2004.

NIEDRIG, M. et al. Assessment of IgG antibodies against yellow fever virus after vaccination with 17D by different assays: neutralization test, haemagglutination inhibition test, immunofluorescence assay and ELISA. **Tropic. Med. International Health.** v. 4, n. 12, p. 867-871, 1999.

PALUMBI, S. et al. The simple fools guide to PCR. Special Publ. Dept. Zoology, University of Hawaii, Honolulu, 1991.

PAN AMERICAN HEALTH ORGANIZATION. **Control of Yellow Fever: Field Guide.** WHO, 2005. Disponível em: http://www.paho.org/english/ad/fch/im/fieldguide_yellowfever.pdf. Acesso em: 18 ago. 2009.

* De acordo com: Associação Brasileira de Normas Técnicas. NBR 6023: Informação e documentação: referências: elaboração. Rio de Janeiro, 2002.

PAN AMERICAN HEALTH ORGANIZATION. **Saúde nas Américas**. WHO, 2007. Disponível em: <<http://www.paho.org/HIA/archivosvol2/paisespor/Brazil.l>>. Saúde nas Américas>. Acesso em: 20 ago. 2009

PAN AMERICAN HEALTH ORGANIZATION. **Yellow Fever Situation in the America**. Update. WHO, 2009. Disponível em: <<http://www.paho.org/english/AD/DPC/CD/eid-eer-2009-01-30.pdf>> Acesso: em 20/08/2009.

PATKAR, C. G. et al. Functional Requirements of the Yellow Fever Virus Capsid Protein. **J. Virol.**, 81:6471-6481, 2007.

POLAND, J. D. et al. Persistence of neutralizing antibody 3—35 years after immunization with 17D yellow fever vaccine. **Bull. World Health Organ.**, v. 59, p. 895-900, 1981.

PRATA, A. Febre Amarela. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**. v. 95, n. 1, p. 183-187, 2000.

QUEREC, T. D. et al. Systems biology approach predicts immunogenicity of the yellow fever vaccine in humans. **Nat. Immunol.**, v. 10, n. 1, p. 116-125, 2009.

REED, L. J.; MUENCH, H. A simple method of estimating fifty percent endpoints. **Am. J. Hyg.** v. 27, p. 493-497, 1938.

REED, W. et al. A. The etiology of yellow fever. An additional note. **J. Am. Med. Ass.**, v. 36, n. 7, p. 431-40, 1901.

REGENMORTEL, M. H. V. et al. (org.). In **Virus Taxonomy: The Classification and Nomenclature of Viruses**. The Seventh Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses. Academic Press, San Diego, CA, 2000.

RICE, C. M. et al. Nucleotide Sequence of yellow fever virus: Implications for flavivirus Gene expression and evolution. **Science**. v. 229, n. 4715, p. 726-733, 1985.

ROBERTSON, S. The Immunological Basis for Immunization Series. **Module 8: Yellow Fever**. Geneva: WHO, v. 93, n.18, 14 p, 1993.

* De acordo com: Associação Brasileira de Normas Técnicas. NBR 6023: Informação e documentação: referências: elaboração. Rio de Janeiro, 2002.

ROCCO, I. M. et al. Febre amarela silvestre no Estado de São Paulo, Brasil: casos humanos autóctones. **Rev. Inst. Adolfo Lutz.**, v. 62, n. 3, p. 201-206, 2003.

ROSA, A. P. A .T. et al. Os Arbovírus no Brasil: Generalidades, Métodos e Técnicas de Estudo. **Documento Técnico nº 2**. Instituto Evandro Chagas. Fundação Nacional de Saúde/Belém, PA, 1994.

SÃO PAULO. Centro de Vigilância em Saúde. **Novas Recomendações para Vacinação Contra a Febre Amarela. São Paulo; SP, 2009.** Disponível em: <http://www.cve.saude.sp.gov.br/hm/zoo/fa09_novas_areaviaja.htm>. Acesso em: 20 ago. 2009.

SCHLESINGER, J. J. et al. Monoclonal antibodies distinguish between wild and vaccine strains of yellow fever virus by neutralization, hemagglutination inhibition, and immune precipitation of the virus envelope protein. **Virology**, v. 125, n. 1, p. 8-17, 1983.

SHOPE, R. E.; SATHER, G. Diagnostic procedures for viral, Rickettsial and Chlamydial infections. In: Lenette, E. H.; Schmidt, N. J. (Ed.). **Arboviruses**. Baltimore: American Public Health Association, 1979 p. 767-814.

SISTEMA INTEGRADO DE TRÂNSITO (SIT), disponível em <http://sit.mda.gov.br/images/mapas/tr/tr_100_vale_do_ribeira_sp_abr_2009.jpg>
STAPLES, J. E.; MONATH, T. P.; Yellow fever: 100 years of discovery. **JAMA**. v. 300, n. 8, p. 960-962, 2008.

TESH, R. B. et al. Experimental Yellow fever virus infection in the golden hamster (*Mesocricetus auratus*). 1. Virologic. Biochemical and Immunologic studies. **J. Infect. Dis.**, v.183, p. 1431-1436, 2001.

THEILER, M.; ANDERSON, C. The relative resistance of dengue-immune monkeys to yellow fever virus. **Am. J. Trop. Med. Hyg.**, v. 24, p.:115-117, 1975.

THEILER, M.; CASALS, J. The serological Reactions in Yellow Fever. **Am. J. Trop. Med. Hyg.**, v. 7, n. 6, p. 585-594, 1958.

THOISY, B. et al. Wild terrestrial rainforest mammals as potential reservoirs for flaviviruses (yellow fever, dengue 2 and St Louis encephalitis viruses) in French Guiana. **Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.**, v. 98, p. 409-412, 2004.

* De acordo com: Associação Brasileira de Normas Técnicas. NBR 6023: Informação e documentação: referências: elaboração. Rio de Janeiro, 2002.

TIGERTT, W. D. et al. Experimental yellow fever. **Trans. New York Ac. Sci.**, v. 22, p.323-333, 1960.

TOLLER, M. A. Mosquito-borne Diseases. **Curr. Probl. Pediatr. Adolesc. Health Care.**, v. 39, p. 97-140, 2009.

TORRES, S. S. et al. Estado imune contra o vírus vacinal (17D) da febre amarela em duas populações do Estado da Bahia. **Rev. Soc. Bras. Med. Tropic.**, v. 33, n. 1, p. 39-46, 2000.

TRIVIÑO, N. H. et al. Dengue-Yellow fever sera cross-reactivity; challenges for diagnosis. **Rev. Salud. Pública.** v. 10, n. 2, p. 299-307, 2008.

VASCONCELOS, P. F. C. Yellow fever. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.**, v. 36, n. 2, p. 275-293, 2003.

VASCONCELOS, P. F. C. et al. Genetic Divergence and Dispersal of Yellow Fever Virus, BRAZIL. **Emerg. Infect. Dis.**, v. 10, n. 9, p.1578-1584, 2004.

VASCONCELOS, P. F. C. et al. Epidemic of jungle yellow fever in Brazil, 2000: implications of climatic alterations in disease spread. **J. Med. Virol.**, v. 65, N. 598-604, 2001a.

VASCONCELOS, P. F. C. et al. Inadequate management of natural ecosystem in the Brazilian Amazon region results in the emergence and reemergence of arboviruses. **Cad. Saúde Pública.** v. 17. Suplemento. p. 155-164, 2001b.

VASCONCELOS, P. F.C. Febre Amarela: reflexões sobre a doença, as perspectivas para o século XII e o risco de reurbanização. **Rev. Bras. Epidemiol.**, v. 5, n. 3, p. 254-258, 2002.

VÁZQUEZ, S. et al. MAC-ELISA and ELISA inhibition methods for detection of antibodies after yellow fever vaccination. **J. Virol. Methods**, v. 110, p. 179-184, 2003.

VON LINDERN J. J, et al. Genome analysis and phylogenetic relationships between east, central and west African isolates of Yellow fever virus. **J Gen Virol.**, v. 87, p. 895–907, 2006.

* De acordo com: Associação Brasileira de Normas Técnicas. NBR 6023: Informação e documentação: referências: elaboração. Rio de Janeiro, 2002.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Weekly Epidemiol. Record.** Geneva: WHO, v. 82, p.153-160, 2007.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Weekly Epidemiol. Record.** Geneva: WHO. v. 81, p. 317-324, 2006.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Weekly Epidemiol. Record.** Geneva: WHO. v. 83, p. 61-68, 2008.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Weekly Epidemiol. Record.** Geneva: WHO. v. 84, p. 97-108, 2009.

XIÃO, S.Y. et al. Experimental yellow fever virus infection in the Golden Hamster (*Mesocricetus auratus*). 2. Pathology. **J. Infect. Dis.**, v. 183, p. 1437-1444, 2001.

XIAO, S. Y. et al. Alteration of clinical outcome and histopathology of yellow fever virus infection in a hamster model by previous infection with heterologous flaviviruses. **Am. J. Trop. Med. Hyg.** v. 68, p. 695-703, 2003.