

FERNANDA CARINI DA SILVA

**EFEITOS DA VACINAÇÃO CONTRA FEBRE AMARELA
SOBRE A GESTAÇÃO EM CAMUNDONGOS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biologia Celular e Tecidual do Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo para obtenção do Título de Mestre em Ciências.

Área de concentração: Biologia Celular e Tecidual

Orientadora: Profa. Dra Estela Bevilacqua

**SÃO PAULO
2009**

RESUMO

SILVA, F.C. Efeitos da vacinação contra febre amarela sobre a gestação em camundongos. 2009. 90 f. Tese (Mestrado em Biologia Celular e Tecidual) – Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2009.

A febre amarela é uma doença infecciosa, não contagiosa causada por um RNA vírus, da família *Flaviviridae*. A infecção pode causar lesões no fígado, coração, sistema nervoso central e rim e evoluir para forma grave e morte. A vacina contra febre amarela é uma vacina liofilizada, obtida a partir de cepa atenuada do vírus da febre amarela, chamada de 17D, cultivadas em ovos embrionados de galinha, livres de agentes patogênicos e, capaz de induzir anticorpos neutralizantes. O vírus vacinal perde o viscerotropismo, mas ainda exibe atividade replicativa. O risco potencial de transmissão placentária para o feto, associados à susceptibilidade de neuroinvasão pelo vírus 17D levaram à recomendação geral de que a vacina não fosse administrada durante a gravidez, exceto quando epidemiologicamente justificada. Assim, devido ao importante papel da vacinação contra a febre amarela, este estudo teve como objetivo avaliar o efeito da vacinação no desempenho gestacional de camundongos prenhes correlacionando estes achados com a estrutura placentária, localização do agente patogênico na interface materno-fetal e atividade viral (RNA viral) nos organismos materno e fetal. Nossos resultados mostraram um decréscimo na taxa de viabilidade fetal causado pela vacinação quando esta ocorre em etapas precoces da gestação, na fase de implantação embrionária, particularmente aos 5,5 dias de gestação. Discreta reatividade ao antígeno da febre amarela foi sempre observada nos tecidos hepáticos maternos. Na placenta, o antígeno viral não foi observado na barreira materno-fetal (região do labirinto), embora reatividade tenha sido ocasionalmente encontrada no fígado de fetos vivos e aparentemente normais, sugerindo uma passagem transplacentária. Nos fetos natimortos e principalmente nos fetos em estágio de reabsorção, esta passagem pareceu mais acentuada; reatividade foi observada não só no fígado fetal, mas também no pâncreas, músculo esquelético e células nervosas espalhadas no organismo fetal. A presença do antígeno viral imunodetectado em todas as regiões placentárias corroboram este achado. A detecção de RNA do vírus por RT-PCR em todas as amostras indicam que mesmo em fetos normais com discreta imunoreatividade ao vírus, há atividade viral nos tecidos fetais. Este estudo não nos permitiu definir se as perdas fetais correlacionadas aqui a uma maior expressão do

antígeno viral nos tecidos fetais encontrado nos fetos natimortos é um fator causal direto ou indireto ou ainda, uma consequência oportunista do vírus em colonizar tecidos fetais após a barreira placentária ter sido danificada. Concluindo, estes achados indicam que existem fases gestacionais mais susceptíveis à infecção viral vacinal e que podem determinar perdas fetais. A presença do antígeno e de atividade viral no tecido hepático fetal sugere que o vírus vacinal é transmitido da mãe para o feto apesar da barreira inata representada pela placenta.

Palavras-Chave: Vacina contra febre amarela; Gestação; Interface materno-placentária; Febre amarela.

ABSTRACT

SILVA, F.C. Effects of the yellow fever vaccination in pregnant mice. 2009. 90 f. Thesis (Mestrado em Biologia Celular e Tecidual) – Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2009.

Yellow fever is an infectious disease, non-contagious disease caused by an RNA virus of the *Flaviviridae* family. The infection can cause liver, heart, central nervous system and kidney lesions and develop into a serious form and death. The yellow fever vaccine is a lyophilized vaccine, derived from attenuated strain of yellow fever virus, called 17D, grown in embryonated chicken eggs, free of pathogens and able to induce neutralizing antibodies. The vaccine virus loses viscerotropic, but still displays replicative activity. The potential risk of placental transmission to the fetus, associated with susceptibility to neuroinvasion of the 17 DD led to the general recommendation that the vaccine was not administered during pregnancy except when epidemiologically justified. Thus, given the important role of vaccination against yellow fever, this study aimed to evaluate the effect of vaccination against yellow fever in the gestational performance in mice correlating these data with the placental structure, immunolocalization of the virus antigen in the maternal-fetal interface and the viral activity (viral RNA) in the maternal and fetal organisms. Our results showed a decrease in the rate of fetal viability caused by the vaccine when it occurs in the early stages of pregnancy, in embryo implantation stage, particularly on gestation day 5.5. Discrete reactive areas to the antigen of yellow fever were always found in maternal liver. In the placenta, the viral antigen was not seen at the maternal-fetal barrier (labyrinthine area), although reactivity has been eventually found in the fetal liver of normal fetuses, suggesting a transplacental passage. In stillborn fetuses this passage appears to be more prominent; reactivity to the viral antigen was seen not only in the liver, but also in pancreas, muscle and nerve cells scattered in the fetal body. The immunolocalization of the viral antigen in all placental areas corroborate this finding. Detection of the vaccine virus RNA by RT-PCR in all samples analyzed indicates that even in normal fetuses where the viral antigen was discrete, there is viral activity in fetal tissues. This study did not allow us to define whether the fetal losses correlated here with a high expression of the viral antigen in stillborn is a direct or indirect causal factor or, still a viral opportunist consequence in colonizing fetal tissues after the placental barrier has been damaged. Summarizing, these findings indicate that there

are stages of pregnancy when fetal viability is more susceptible to viral vaccine infection and that may lead to fetal losses. The presence of viral antigen and virus activity in fetal liver tissues suggests that the vaccine virus can be transmitted from mother to fetus in spite of the innate barrier represented by the placenta.

Keywords: Yellow fever vaccine; Pregnancy; Maternal-placental interface; Yellow fever.

1 INTRODUÇÃO

A Febre Amarela é uma doença infecciosa aguda, não contagiosa (MONATH, 2001; TESH et al., 2001), febril, que se manifesta de forma leve a grave associada à vasculopatia, icterícia, hemorragia, falência hepática, renal e eventualmente morte, que pode ocorrer em 50% dos casos (ISHAK et al., 1982; PETERS e ZAKI, 2002; MONATH e BARRETT, 2003; VASCONCELOS et al., 2004). É transmitida, exclusivamente, pela picada de um vetor artrópode, por isso sua denominação de arbovirose (CHANG et al., 1995), do gênero *Flavivirus*. A febre amarela constitui a febre hemorrágica viral original, a primeira descrita no mundo, a que mais temor provoca na sociedade moderna (MONATH, 2001; TESH et al., 2001).

São descritos dois ciclos básicos de transmissão por mosquito: um urbano e outro silvestre, que diferem entre si quanto à natureza dos transmissores e dos hospedeiros vertebrados e o local de ocorrência.

No ciclo urbano, o vetor responsável pela disseminação da doença é o *Aedes aegypti*, e se dá diretamente de pessoa a pessoa, pela picada do mosquito infectado, não necessitando de hospedeiro amplificador, papel este exercido pelo próprio homem infectado, durante o período de viremia, fase em que o vírus pode ser isolado do sangue circulante (VASCONCELOS, 2003). No ciclo silvestre, os vetores responsáveis pela disseminação da doença são os *Haemogogos* e *Sabethes* (na América) e *Aedes* (na África), neste ciclo, o macaco atua como hospedeiro amplificador e o mosquito como reservatório do vírus (**figura 1**)

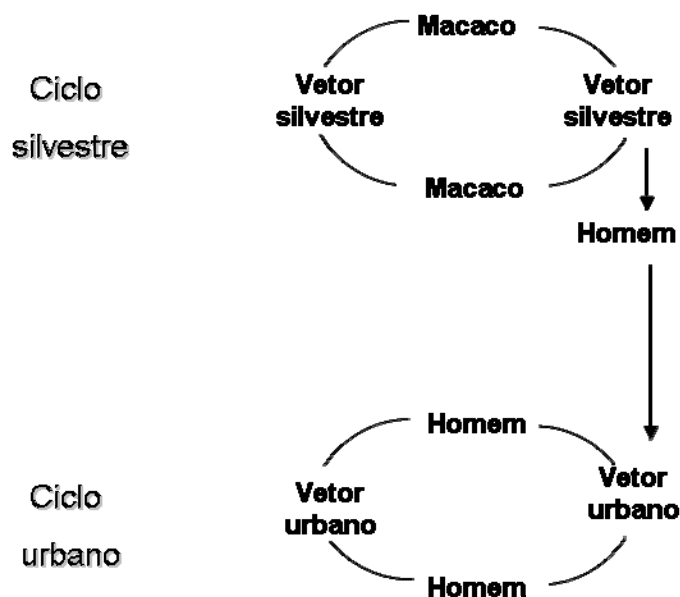


Figura 1. Esquema do ciclo de transmissão da febre amarela.

O agente etiológico da febre amarela é um vírus chamado de vírus da febre amarela, pertencente ao gênero *Flavivirus* (do latim flavus, que significa amarelo), e à família *Flaviviridae* (WESTAWAY et al., 1985). O vírus da febre amarela é uma partícula esférica, com cerca de 50 nm de diâmetro. Seu genoma é constituído de RNA fita simples, não segmentado, polaridade positiva, com aproximadamente 11 kilobases de comprimento. Seu genoma completo é constituído por aproximadamente 10.862 nucleotídeos (RICE et al., 1985, GALLER et al., 1997; JONES et al., 2003; CHAMBERS et al., 2005), que possui uma única fase aberta de leitura (do inglês: *Open Reading Frame* - ORF), contém 10.233 nucleotídeos, que codifica suas proteínas virais (MONATH, 2001) e que é flanqueada por duas regiões não codificantes (5'NCR e 3'NCR), sendo elas importantes para a regulação e expressão do vírus (CHAMBERS et al., 1990; WANG et al., 1996; ZANOTTO et al., 1996).

A regulação gênica do vírus está ligada ao processamento correto de tradução da poliproteína (STOCKS e LOBIGS, 1998). Seu processamento ocorre no lúmen do retículo endoplasmático rugoso (WU et al., 2005) e, ao ser processada, dá origem a três proteínas virais estruturais (Capsídeo - C, Membrana – Pré - M/M, Envelope - E) e a sete proteínas virais não estruturais (NS1, NS2A, NS2B, NS3, NS4A, NS4B, NS5) (VASCONCELOS, 2003; WU et al., 2005), como observado na **figura 2**. As proteínas não estruturais responsáveis pela replicação permanecem nas células infectadas, enquanto que as proteínas estruturais são incorporadas na montagem das partículas virais maduras (MONATH, 2001).

Após a picada pelo mosquito transmissor, o vírus amarelíco é introduzido na circulação e em poucas horas atinge os linfonodos regionais e desaparece da circulação nas 24 horas seguintes. Nos linfonodos, com a infecção de macrófagos e células linfóides, o vírus realiza seu ciclo replicativo (MARCHETTE et al., 1973; WU et al., 2000; ARROYO et al., 2001, 2004; TESH et al., 2002; JOHNSON et al., 2003; MONATH, 2003; MONATH e BARRET, 2003; NG et al., 2003; MINKE et al., 2004; BRANDLER et al., 2005; DEAN et al., 2005; JOHNSON et al., 2005). Após essa fase, há liberação das partículas virais, que são levadas pelos vasos linfáticos para a corrente sanguínea e por via hemática ao fígado, dando início ao período de viremia. O período de viremia pode variar de acordo com a gravidade do quadro e coincide com o surgimento dos sinais e sintomas da doença, constituindo o período em que o sangue humano se torna infectante.

Estrutura genômica do vírus da febre amarela

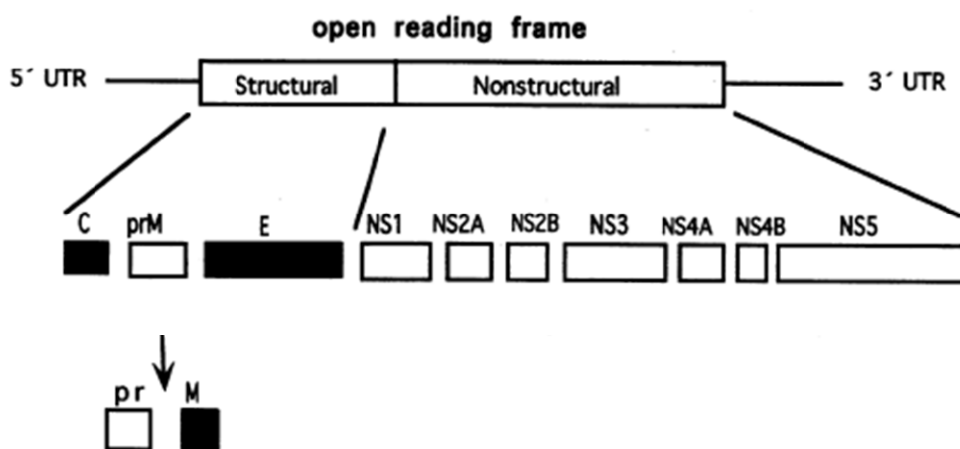


Figura 2. Esquema da estrutura genômica do vírus da febre amarela, mostrando os genes estruturais e não estruturais, as regiões não traduzidas 5'UTR e 3'UTR e a formação das proteínas estruturais C, prM e E e das proteínas não estruturais NS1, NS2A, NS2B, NS3, NS4A, NS4b e NS5 (Adaptado de McMinn, 1997).

A resposta clínica da infecção pelo vírus da febre amarela revela-se ampla e variável, indo desde uma doença febril não específica, até a uma infecção severa, caracterizada por falência hepática e renal, choque e hemorragia (VASCONCELOS, 2003; MONATH, 2005). A doença pode apresentar-se de forma leve, moderada e severa, podendo ocorrer casos assintomáticos (VASCONCELOS, 2002). O período de incubação após a picada do mosquito infectado é de 3 a 6 dias, podendo chegar a 10 dias (MONATH, 2001). Nas formas leve e moderada, a sintomatologia não é característica e pode ser confundida com outras doenças infecciosas. A forma leve apresenta-se, geralmente, com uma febrícula ou febre moderada de início súbito, que pode ou não ser acompanhada de cefaléia, cansaço, indisposição passageira e tontura. No caso de febre amarela moderada, ocorre o surgimento abrupto de febre e cefaléia, que pode ou não ser acompanhado por náuseas com ou sem vômito, dores musculares e nas articulações. Na forma severa da doença, os pacientes apresentam os três sintomas clássicos que caracterizam a falência hepato-renal: hematêmese, icterícia e oligúria ou anúria. (VASCONCELOS, 2003). Os sintomas aparecem de forma repentina, inicialmente com febre elevada, calafrios, cefaléia, dores na região lombar, dores musculares generalizadas, náuseas, vômitos e tontura (MONATH, 2005).

Assim, não se justifica o conceito de que a febre amarela seja uma doença, invariavelmente fatal, uma vez que pelo menos 90% dos casos são classificados como leves e oligossintomáticos e apenas 10% dos casos correlacionam-se às formas graves associadas com elevada letalidade (VASCONCELOS, 2003).

No Brasil, são admitidas três áreas epidemiológicas para o risco da febre amarela, a saber: *área indene*, que corresponde à costa brasileira, indo desde o Piauí até o Rio Grande do Sul; *área de transição*, que compreende a parte ocidental de Minas Gerais, São Paulo, Paraná, Piauí, Bahia, Santa Catarina e Rio Grande do Sul; *área endêmica*, que abriga as áreas de matas em todos os estados das regiões Norte e Centro-Oeste, além do Maranhão, na região Nordeste (**Figura 3**).



Figura 3. Mapa do território brasileiro dividido por regiões de risco para febre amarela silvestre. Disponível em: www.cve.saude.sp.gov.br/htm/zoo/FA_INFORME.htm.

Atualmente, vivemos no Brasil uma situação de controle da febre amarela, a última grande epidemia urbana, ocorreu na cidade do Rio de Janeiro, em 1929. Os

últimos casos de febre amarela urbana foram reportados no município de Sena Madureira, no Acre, em 1942. Porém, a febre amarela silvestre pode aparecer em surtos, conseqüentes a epizootias em macacos. Essas epidemias ocorrem geralmente em intervalos cíclicos que pode variar de cinco a sete anos, intervalo suficiente para o surgimento de novas populações suscetíveis, após cada grande epizootia (AMARAL e TAUIL, 1983). Ao mesmo tempo, não havendo população símia disponível, o vírus se mantém em mosquitos silvestres e de modo a permitir a manutenção natural são transmitidos a novos hospedeiros.

Segundo dados do Centro de Vigilância Epidemiológica (2009) de 2003 a 2007 foram confirmados 80 casos de febre amarela silvestre no Brasil, sendo que destes 36 evoluíram para óbito.

Ainda hoje as epidemias de febre amarela silvestre, mesmo sendo limitadas a pequenos surtos, apresentam grandes repercussões, como a que ocorreu recentemente na qual, até 26 de maio de 2009, foram registradas noventa e duas notificações de casos suspeitos, no estado de São Paulo. Destes, vinte e seis foram confirmados, com nove casos com evolução para o óbito (Centro de Vigilância Epidemiológica, 2009), isso se deve ao fato da febre amarela, ao lado do cólera e da peste, compor o rol das três doenças que estão sujeitas ao Regulamento Sanitário Internacional. A notificação internacional é compulsória a fim de que medidas preventivas sejam adotadas pelos países vizinhos e para proteger os turistas estrangeiros. Políticas de vacinação adequadas têm sido extremamente eficazes como medidas de controle além do combate por diferentes formas do próprio vetor.

O combate ao vetor silvestre é inviável, restando, apenas, o combate ao vetor urbano, que tem sido realizada desde o início do século, em meio a sucessos, como o que ocorreu em 1955 e 1973, quando o vetor chegou a ser erradicado do Brasil, e fracassos, quando ele foi reintroduzido no território brasileiro em 1967 e 1976 (FRANCO, 1976), atingindo cerca de 3.000 municípios em todos os estados brasileiros (BRASIL-FUNASA, 1999). A elevada concentração populacional, a complexidade das áreas urbanas, dificulta não só a eliminação, como o efetivo controle do vetor urbano. Além disso, o processo de globalização, a ocupação de áreas silvestres, o crescimento urbano desordenado, maior competência de mosquitos vetores de transmitirem doenças, associada à maior distribuição de populações primatas não humanas, que atuam como amplificadores do vírus propiciam uma situação que favorece o risco de

reurbanização da doença e o temor de que a febre amarela pode se tornar novamente um grave problema de saúde pública.

Em 1937, logo após o desenvolvimento da cepa 17D, por Theiler e Smith, a partir da atenuação da cepa selvagem Asibi, na Fundação Rockefeller e a constatação de sua capacidade imunogênica para o homem, uma quantidade desta cepa foi trazida para o Brasil, com o objetivo de produzir a vacina em larga escala. Smith e Penna desenvolveram e passaram a utilizar uma nova técnica de produção de vacina que consistia em inocular o vírus 17D em ovos de galinha embrionados em desenvolvimento (BRASIL-FUNASA, 1999).

Em março de 1937, o Instituto Oswaldo Cruz, no Rio de Janeiro, inicia a produção da vacina contra a febre amarela que foi usada pela primeira vez em maior escala durante o surto epidêmico de febre amarela ocorrido no município de Varginha/MG, neste mesmo ano. Depois disso, a vacina foi utilizada em programas de vacinação em outros estados brasileiros, com grande sucesso. E a partir de então, passou a ser aplicada na área endêmica, de forma sistemática como a melhor alternativa para controlar a doença no país.

Somente em abril de 1991, com a criação da Fundação Nacional de Saúde, a execução das atividades de vacinação passou a ser de responsabilidade do Programa Nacional de Imunizações (PNI), e as atitudes operacionais passaram a ser estabelecidas em conjunto com a Gerência Técnica de Febre Amarela e Dengue, levando em consideração a situação epidemiológica da doença no território brasileiro. A partir de 1994, a vacina foi introduzida no esquema básico de imunização do primeiro ano de vida, e para todos os residentes e viajantes nas regiões endêmicas e de transição em 1998 (BRASIL-CVE, 2002).

Assim, a vacina contra febre amarela é produzida com vírus vivo atenuado, linhagem 17D, cultivado em ovos embrionados de galinha, livres de agentes patogênicos, capaz de induzir resposta anticorpo neutralizante e ativação de linfócito T. A vacina difere do vírus selvagem pela mudança de 20 aminoácidos na proteína do envelope e pela perda de viscerotropismo, apesar de manter sua atividade replicativa em cultura celular (LEE e LOBIGS, 2008). Apresenta, também, algumas propriedades que a tornam bastante atraente, como a replicação viral limitada no hospedeiro, porém, com significativa expansão e disseminação viral. É aplicada em única dose, conferindo imunidade por cerca de 10 anos, com dose de reforço a cada década, embora existam dados na literatura relatando que esta confere imunidade por cerca de 30 anos

(POLAND et al., 1981; TAVARES-NETO et al., 1986; SANTOS-TORRES et al., 2000).

Reações adversas da vacina contra febre amarela são tipicamente brandas e inclui febre baixa, cefaléia e em alguns casos sintomas alérgicos (MONATH, 2004; BARWICK et al., 2004; BARNETT, 2007; LINDSEY et al., 2008). São reconhecidas atualmente duas raras, porém severas, complicações clínicas devido à vacinação contra febre amarela. Uma chamada de evento adverso neurotrópico associados à vacina da febre amarela (YF-AND), reação previamente conhecida como encefalite pós-vacina que leva à infecção e lesão das células do sistema nervoso; e outra chamada de efeito adverso viscerotrópico associados à vacina febre amarela (YF-AVD), que consiste no tropismo do vírus pelo fígado, rins e coração, levando a infecção e lesão desses órgãos (MONATH, 2005). Os efeitos colaterais mais graves de reações de hipersensibilidade imediata ocorrem raramente (incidência de 0,8/1.000.000 doses aplicadas), e a encefalite e encefalopatia induzidas pela vacina, ocorrem quase exclusivamente em crianças de baixa idade (FORATTINI, 1999; MONATH, 1999).

A organização mundial de saúde recomenda que a vacina contra febre amarela não seja aplicada a pessoas imunodeprimidas, com história de reação anafilática relacionada a ovo de galinha e seus derivados. O risco hipotético de infecção transplacentária e a constatação de que fetos são susceptíveis a neuroinvasão pelo vírus 17D levam à recomendação geral de que a vacina anti-febre amarela não seja administrada durante a gravidez e permitida somente quando epidemiologicamente justificada, após o sexto mês de gestação (MONATH, 1999).

Os dados da literatura são controversos na orientação quanto à vacinação de gestantes, desta forma se mantêm a orientação geral de que se deve vacina apenas quando epidemiologicamente justificável.

Estudo prospectivo realizado na Nigéria com 101, por Nasidi et al. (1993), demonstrou que não há evidência da transmissão transplacentária do vírus 17D, não encontrando associação da vacina contra febre amarela com efeito adverso no feto ou risco infecção fetal. No estudo realizado em Trindade por Tsai et al. (1993), foi encontrado um caso assintomático de infecção congênita pelo vírus da febre amarela vacinal, detectado em teste sorológico, entre 41 recém-nascidos, cujas mães receberam a vacina sem saber que estavam grávidas. Nishioka et al. (1998) encontraram um risco relativo de 2,29 para aborto espontâneo em mulheres vacinadas contra a febre amarela em Uberlândia (MG), em um estudo caso-controle.

Robert et al. (1999), estudaram prospectivamente 74 gestantes que receberam inadvertidamente a vacina contra febre amarela durante a gravidez, em um estudo multicêntrico europeu, e concluíram que o risco de teratogênese associado à vacina parece baixo, quando comparados à população geral. Também, não foi encontrado maior número de malformações no grupo em que as mães receberam a vacina.

Suzano e colaboradores (2006) analisaram os dados de 480 gestantes que foram imunizadas antes da confirmação de gestação. As taxas de abortamento, natimortos e de malformações observado neste grupo foi semelhante ao encontrado em populações sadias não vacinadas, o que levou os autores a concluir que a vacinação não é causa de perdas fetais quando administrada nas fases iniciais da gestação. Os restos ovulares decorrentes das perdas embrionárias e fetais, entretanto não foram investigados para assegurar o não envolvimento viral no aborto. Os recém nascidos saudáveis por sua vez, não apresentaram soro conversão para o vírus amarelo. Bebês que foram expostos a vacinação precocemente intra-útero, também, não apresentaram risco aumentado de malformações, segundo dados de CAVALCANTI et al. (2007).

Em um estudo longitudinal, D'Acromont et al. (2008), com 53 mulheres que receberam a vacina contra febre amarela quando estavam grávidas, consideram que não há indicação de que a vacina recebida pelas gestantes cause algum efeito deletério na criança e nem em seu desenvolvimento.

Apesar da relevância médica, humana e social envolvidos neste contexto, estudos mais aprofundados sobre os mecanismos inerentes a estes processos, em humanos, são impossíveis de serem delineados.

Observações clínicas acumuladas na literatura mostram que a infecção fetal não é obrigatória, na grande maioria das infecções que acometem o organismo materno. Mesmo quando a barreira placentária mostra-se efetiva para prevenir a passagem do agente infeccioso para o organismo embrionário, outros fatores podem concorrer para a perda embrionária, como a própria resposta imunitária materna contra o agente infeccioso. Nestes casos, o processo de aborto parece ser desencadeado por reações trombóticas e inflamatórias na placenta e não oriundas da disseminação da infecção (CLARK et al., 1998).

A placenta estabelece conexões funcionais que são críticas para a sobrevivência embrionária, como no caso do trofoblasto que redireciona o sistema endócrino materno com a finalidade de criar um meio hormonal levando a alterações uterinas de extrema relevância para a continuidade da gestação. Particularmente em roedores e primatas,

células trofoblásticas expressando proteínas paternas interagem diretamente com células imunitárias maternas, que sob condições normais, não se tornam agentes de rejeição.

Em roedores a implantação do embrião é excêntrica, partindo da cripta uterina antimesometrial e progredindo rapidamente para uma posição intersticial na parede do útero, dada a ação invasiva do trofoblasto e facilitadora do endométrio. A implantação inicia-se ao redor do quinto dia de gestação em camundongos e determina em estágios posteriores uma placentação do tipo hemocorial, em que o trofoblasto após vencer as barreiras representadas pelo epitélio e estroma uterino, se interpõe entre as células endoteliais das vênulas subepiteliais, fazendo contato direto com o sangue materno (MOSSMAN, 1937; SHARKEY e SMITH, 2003; AIN, 2003). É a partir desta superfície de trocas e aquisição de nutrientes que o desenvolvimento embrionário é garantido até a formação da placenta (DAVIES e HESSELDAHL, 1971).

Falhas na implantação, no desenvolvimento placentário e na comunicação materno-fetal são clinicamente importantes, e estão associadas com uma variedade de complicações na gestação (RED-HORSE et al., 2004). Quase 50% de abortos ocorrem antes mesmo que a gestação tenha sido clinicamente detectada (WILCOX et al., 1988), como conseqüência de falhas diversas durante o período de peri-implantação. Em espécies domésticas, falhas no desenvolvimento, durante este período, aparentemente alcançam índices maiores ainda, chegando a quase 80% (ROBERTS et al., 1990, 1992).

A partir de gestações clinicamente reconhecidas, o índice de perda em abortos espontâneos é de 1/3. Mesmo pequenos defeitos ou patologias placentárias representam um índice de relevância nestas perdas. Em humanos, anormalidades nas conexões vasculares maternas com o trofoblasto são atualmente causas de significativa preocupação com altos índices de morbidade e mortalidade para ambos, mãe e feto. Outras causas de perdas embrionárias e fetais incluem traumas, incompetência cervical, fatores hormonais, imunológicos ou uterinos, e em destaque, infecções, que, dependendo da população e espécie considerada, representam cerca de 40%. Infecções útero-placentárias não envolvem somente o patógeno, a resposta imune materna, a imaturidade do sistema imunológico fetal, mas também a relação imunológica mãe-feto (REDLINE e LU, 1988).

Infecções bacterianas e virais representam uma ameaça, significativa para o feto, já que 40% dos trabalhos de parto prematuros estão associados à ocorrência de

infecções (MOR, 2008). Há evidências de que 80% dos partos prematuros que ocorrem antes de 30 semanas de gestação são decorrentes de infecção (GOLDENBERG et al., 2000; LAMONT, 2003a,b). Além disso, as infecções virais representam uma das principais causas de morbidade e mortalidade fetal. A transmissão transplacentária de vírus, mesmo oriunda de sub-infecção clínica materna, pode resultar em síndrome congênita grave (DEGANI, 2009). Apesar de relevância médico-social envolvida na morbi-mortalidade fetal por infecções virais, a literatura é escassa em estudos de infecção congênita pelo vírus selvagem da febre amarela (MAC GOVERN et al., 2007).

6 CONCLUSÃO

Os resultados obtidos neste estudo nos permitem concluir que:

- Há uma diminuição do desempenho reprodutivo nas fêmeas prenhes vacinadas contra febre amarela quando a vacinação ocorre na fase de implantação embrionária.
- Nestas condições, o vírus vacinal da febre amarela é capaz de atravessar a barreira placentária.
- Em comparação com fetos viáveis que só apresentam reatividade ao antígeno viral no tecido hepático, fetos natimortos contem maior número de órgãos e tecidos reativos.
- Fetos natimortos, reabsorvidos e viáveis compartilham um mesmo corno uterino o que sugere que as perdas fetais estão associadas ao patrimônio gênico/genético de cada feto/placenta e não a variabilidades na resposta materna inflamatória/imunológica à vacinação.

REFERÊNCIA BIBLIOGRAFICA

ADAMSON, S. L.; LU, Y.; WHITELEY, K. J.; HOLMYARD, D.; HEMBERGER, M.; PFARRER, C.; CROSS, J. C. Interactions between trophoblast cells and the maternal and fetal circulation in the mouse placenta. **Dev. Biol.**, v. 250, n. 2, p. 358-373, 2002.

AIN, R.; CANHAM, L. N.; SOARES, M. J. Gestation stage-dependent intrauterine trophoblast cell invasion in the rat and mouse: novel endocrine phenotype and regulation. **Dev. Biol.**, v. 260, p. 179-190, 2003.

AMARAL, R.; TAUIL, P. L. Duas ameaças de um mosquito: febre amarela e dengue. **A Saúde no Brasil.**, v.1, n. 4, p. 236-238, 1983.

ARROYO, J.; GUIRAKHOO, F.; FENNER, S.; ZHANG, Z. X.; MONATH, T. P.; CHAMBERS, T. J. Molecular basis for attenuation of neurovirulence of a yellow fever Virus/Japanese encephalitis virus chimera vaccine (ChimeriVax-JE). **J. Virol.**, v. 75, p. 934-942, 2001.

ARROYO, J.; MILLER, C.; CATALAN, J.; MYERS, G. A.; RATTERREE, M.; TRENT, D. W.; MONATH, T. P. ChimeriVax-West Nile virus live-attenuated vaccine: preclinical evaluation of safety, immunogenicity, and efficacy. **J. Virol.**, v. 78, p. 12497-12507, 2004.

BARNETT, E. D. Yellow fever: epidemiology and prevention. **Clin. Infect. Dis.**, v. 44, p. 850-856, 2007.

BARWICK, R. S.; MARFIN, A. A.; CETRON, M. S.; Yellow fever vaccine associated disease. In: SCHELD, W. N.; MURRAY, B. E.; HUGHES, J. M. (eds.) **Emerging infections**. 6. ed. . Washington: ASM Press, 2004. p. 25-34.

BAUMGARTNER, W.; BACHMANN, S. Histological and immunocytochemical characterization of *Coxiella burnetii*-associated lesions in the murine uterus and placenta. **Infect. Immun.**, v. 60, p. 5232-5241, 1992.

BASAK, S.; DUBANCHET, S.; ZOURBAS, S.; CHAOUAT, G.; DAS, C. Expression of pro-inflammatory cytokines in mouse blastocysts during implantation: modulation by steroid hormones. **Am. J. Reprod. Immunol.**, v, 47, n. 1, p. 2-11, 2002.

De acordo com: ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR 6023:** Informação e documentação: referências: elaboração. Rio de Janeiro, 2002.

BEVILACQUA, E.; ABRAHAMSOHN, P. A. Ultrastructure of trophoblast giant cell transformation during the invasive stage of implantation of the mouse embryo. **J. Morphol.**, v. 198, p. 341-345, 1988.

BEVILACQUA, E.; ABRAHAMSOHN, P. A. Trophoblast invasion during implantation of the mouse embryo. **Arch. Biol. Med. Exp.**, v. 22, p.107-118, 1989.

BRANDLER, S.; BROWN, N.; ERMAK, T. H.; MITCHELL, F.; PARSONS, M.; ZHANG, Z.; LANG, J.; MONATH, T. P.; GUIRAKHOO, F. Replication of chimeric yellow fever virus-dengue serotype 1-4 virus vaccine strains in dendritic and hepatic cells. **Am. J. Trop. Med. Hyg.**, v. 72, p. 74-81, 2005.

BRASIL. FUNDAÇÃO NACIONAL DE SAÚDE (FUNASA) – **Manual de vigilância epidemiológica de febre amarela**. Brasília: Ministério da Saúde, 1999. 60p.

BRASIL. FUNDAÇÃO NACIONAL DE SAÚDE (FUNASA). **Análise molecular dos vírus de febre amarela vacinal cêpa 17DD associado a eventos pós-vacinais no Brasil**. Brasília: Ministério da Saúde, 2000. 11p.

BUENDÍA, A. J.; SÁNCHEZ, J.; MARTÍNEZ, M. C.; CÁMARA, P.; NAVARRO, J. A.; RODOLAKIS, A.; SALINAS, J. Kinetics of infection and effects on placental cell population in murine model of *Clamidia psittaci*-induced abortion. **Infect. Immun.**, v. 66, p. 2128-2134, 1988.

CAVALCANTI, D. P.; SALOMÃO, M. A.; LOPEZ-CAMELO, J.; PESSOTO, M. A.; CAMPINAS GROUP OF YELLOW FEVER IMMUNIZATION DURING PREGNANCY. Early exposure to yellow fever vaccine during pregnancy. **Trop. Med. Int. Health.**, v. 7, p. 833-887, 2007.

CENTRO DE VIGILANCIA EPIDEMIOLÓGICA – CVE-SES/SP [online] Disponível em: <http://www.cve.saude.sp.gov.br/htm/zoo/FA> (23/11/2009).

CHAMBERS, T. J.; HAHN, C. S.; GALLER, R.; RICE, C. M. Flavivirus genome organization, expression, and replication. **Annu. Rev. Microbiol.**, v. 44, p.649-488, 1990.

CHAMBERS, T. J.; DROLL, D. A.; TANG, Y.; LIANG, Y.; GANESH, V. K.; MURTHY, K. H.; NICKELLS, M. Yellow fever virus NS2B-NS3 protease: characterization of charged-to-alanine mutant and revertant viruses and analysis of polyprotein-cleavage activities. **J. Gen. Virol.**, v. 86, p. 1403-1413, 2005.

CHAN, R. C.; PENNEY, D. J.; LITTLE, D.; CARTER, I. W.; ROBERTS, J. A.; RAWLINSON, W. D. Hepatitis and death following vaccination with 17D-204 yellow fever vaccine. **Lancet**, v. 358, p. 121-122, 2001.

CHANG, G. J.; CROPP, B. C.; KINNEY, R. M.; TRENT, D. W.; GUBLER, D. J. Nucleotide sequence variation of the envelope protein gene identifies two distinct genotypes of yellow fever virus. **J. Virol.**, v. 69, n. 9, p. 5773-5780, 1995.

CHAOUAT, G.; MENU, E.; CLARK, D. A.; DY, M.; MINKOWSKI; WEGMAN, T. G. Control of fetal survival in CBA x DBA/ 2 mice by lymphokne therapy. **J. Reprod. Fertil.**, v. 89, p. 447- 458, 1990.

CHOMICZYNSKI, P.; SACCHI, N. Single-step method of RNA isolation by acid guanidinium thiocyanate phenol chloroform extration. **Anal. Biochem.**, v. 162, p. 156-159, 1987.

CLARK, D. A.; CHAOUAT G.; ARCH, P .C.; MITTRUECKER, H. W.; LEVY, G. A. cytokine dependent abortion in CBA x DBA/2 mice is mediated by the procoagulant fgl2 protombinase. **J. Immunol.**, v.160, p. 545-549, 1998.

D' ACREMONT, V.; TREMBLAY, S.; GENTON, B. Impact of vaccines given during pregnancy on the offspring of women consulting a travel clinic: a longitudinal study. **J. Travel. Med.**, v. 15, p. 77 – 81, 2008.

DAVIES, J.; HESSELD AHL, H. Comparative embryology of mammalian blastocyst. In: BLANDA U, R. J. **The biology of blastocyst**. Chicago: University Chicago Press, 1971. p.27-48.

DEAN, C. H.; ALARCON, J. B.; WATERSTON, A. M.; DRAPER, K.; GUIRAKHOO, F.; MONATH, T. P.; MIKSZTA, J. A. Cutaneous delivery of a live, attenuated chimeric flavivirus vaccine against Japanese encephalitis (ChimeriVax)-JE) in non-human primates. **Hum. Vaccines.**, v. 1, p. 106-111, 2005.

DEGANI, S. Ultrasound in the evaluation of intrauterine infection during pregnancy. **Harefuah**, v. 148, n. 7, p. 460-464, 474, 2009.

DEUBEL, V.; HUERRE, M.; CATHOMAS, G.; DROUET, M. T.; WUSCHER, N.; LE GUENNO, B.; WIDMER, F. Molecular detection and characterization of yellow fever virus in blood and liver specimens of a non-vaccinated fatal human case. **J. Med. Virol.**, v. 53, p. 212-217, 1997.

DROSTEN, C.; GÖTTIG, S.; SCHILLING, S.; ASPER, M.; PANNING, M.; SCHMITZ, H.; GÜNTHER, S. Rapid detection and quantification of RNA of Ebola and Marburg viruses, Lassa virus, Crimean-Congo hemorrhagic fever virus, Rift Valley fever virus, dengue virus, and yellow fever virus by real-time reverse transcription-PCR. **J. Clin. Microbiol.**, v. 40, n. 7, p. 2323-2330, 2002.

DJURKOVIC-DJAKOVIC, O. Toxoplasma infection and pathological outcome of pregnancy. **Gynecol. Obstet. Investig.**, v. 40, p. 36-41, 1995.

ELDADAH, Z. A.; ASHER, D. M.; GODEC, M. S.; POMEROY, K. L.; GOLDFARB, L.G.; FEINSTONE, S. M.; LEVITAN, H.; GIBBS, C. J.; GAJDUSEK, D. C. Detection of flaviviruses by reverse-transcriptase polymerase chain reaction. **J. Med. Virol.**, v. 33, n. 4, p. 260-267, 1991.

FERRO, E. A. V.; SILVA, D. A. O.; BEVILACQUA, E.; MINEO, J. R. Effect of *Toxoplasma gondii* infection kinetics on trophoblast cell population in *Calomys callosus*, a model of congenital toxoplasmosis. **Infect. Immun.**, v. 70, p. 7089-7094, 2002.

FORATTINI, O. P. Yellow fever. **Rev. Saude Públ.**, v. 33, p. 534-537, 1999.

FRANCO, O. **História da febre amarela no Brasil**. Rio de Janeiro: SUCAM/Ministério da Saúde, 1976.

GALLER, R.; FREIRE, M. S.; JABOR, A. V.; MANN, G. F. 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, n. 2, p. 157-168, 1997.

GALLER, R.; PUGACHEV, K. V.; SANTOS, C. L.; OCRAN, S. W.; JABOR, A. V.; RODRIGUES, S. G.; MARCHEVSKY, R. S.; FREIRE, M. S.; ALMEIDA, L. F.; CRUZ, A. C.; YAMAMURA, A. M.; ROCCO, I. M.; DA ROSA, E. S.; SOUZA, L. T.; VASCONCELOS, P. F.; GUIRAKHOO, F.; MONATH, T. P. Phenotypic and molecular analyses of yellow fever 17DD vaccine viruses associated with serious adverse events in Brazil. **Virology**, v. 290, n. 2, p.309-319, 2001.

GERASIMON, G.; LOWRY, K. Rare case of fatal yellow fever vaccine-associated viscerotropic disease. **South Med. J.**, v. 98, p. 653-656, 2005.

GOLDENBERG, R. L.; HAUTH, J. C.; ANDREWS, W. W. Intrauterine infection and preterm delivery. **N. Engl. J. Med.**, v. 342, p. 1500-1507, 2000.

HALL, W. C.; CROWELL, T. P.; WATTS, D. M.; BARROS, V. L. R.; KRUGER, H.; PINHEIRO, F.; PETERS, C. J. Demonstration of yellow fever and dengue antigens in formalin-fixed paraffin-embedded human liver by immunohistochemical analysis. **Am. J. Trop. Med. Hyg.**, v. 45, p. 408-417, 1991.

HAYES, E. B. Acute viscerotropic disease following vaccination against yellow fever. **Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.**, v. 101, p. 967-971, 2007.

ISHAK, K. G.; WALKER, D. H.; COETZER, J. A.; GARDNER, J. J.; GORELKIN, L. Viral hemorrhagic fevers with hepatic involvement: pathologic aspects with clinical correlations. **Prog. Liver Dis.**, v. 7, p. 495-515, 1982.

JOHNSON, B. W.; CHAMBERS, T. V.; CRABTREE, M. B.; ARROYO, J.; MONATH, T.; MILLER, B. M. Growth characteristics of the veterinary vaccine candidate ChimeriVax-West Nile (WN) virus in *Aedes* and *Culex* mosquitoes. **Med. Vet. Entomol.**, v. 17, p. 235-243, 2003.

JOHNSON, C.; MONATH, T. P.; KANESA-THASAN, N.; MATHIS, D.; MILLER, C.; SHAPIRO, S.; NICHOLS, R.; MCCARTHY, K.; DEARY, A.; BEDFORD, P. Exercise-induced serum enzyme elevations confounding the evaluation of investigational drug toxicity. Report of two cases in a vaccine trial. **Hum. Vaccines.**, v. 1, p. 24-29, 2005.

JONES, C. T.; MA, L.; BURGNER, J. W.; GROESCH, T. D.; POST, C. B.; KUHN, R. J. Flavivirus capsid is a dimeric alpha-helical protein. **J. Virol.**, v. 77, n. 12, p. 7143-7149, 2003.

LAMONT, R. F. The role of infection in preterm labour and birth. **Hosp. Med.**, v. 64, p. 644-647, 2003a.

LAMONT, R. F. Infection in the prediction and antibiotics in the prevention of spontaneous preterm labour and preterm birth. **Bjog.**, v. 110, n. 20, p. 71-75, 2003b.

LEE, E.; LOBIGS, M. E Protein domain 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.

LINDSEY, N. P.; SCHROEDER, B. A.; MILLER, E. R.; BRAUN, M. M.; HINCKLEY, A. F.; MARANO, N.; SLADE, B. A.; BARNETT, E. D.; BRUNETTE, G. W.; HORAN, K.; STAPLES, J. E.; KOZARSKY, P. E.; HAYES, E. B. Adverse event reports following yellow fever vaccination. **Vaccine**, v. 26, n. 48, p. 6077-6082, 2008.

MANTEL, N.; AGUIRRE, M.; GULIA, S.; GIRERD-CHAMBAZ, Y.; COLOMBANI, S.; MOSTE, C.; BARBAN, V. Standardized quantitative RT-PCR assays for quantitation of yellow fever and chimeric yellow fever-dengue vaccines. **J. Virol. Methods.**, v. 51, n. 1, p. 40-46, 2008.

MARCHETTE, N. J.; HALSTEAD, S. B.; FALKLER, R.; STENHOUSE, A.; NASH, D. Studies on the pathogenesis of dengue infection in monkeys. 3. sequential distribution of virus in primary and heterologous infections. **J. Infect. Dis.**, v. 128, p. 23-30, 1973.

MATEO, R. I.; XIAO, S. Y.; TRAVASSOS DA ROSA, A. P.; LEI, H.; GUZMAN, H.; LU, L.; TESH, R. B. Yellow fever 17-D vaccine is neurotropic and produces encephalitis in immunosuppressed hamsters. **Am. J. Trop. Med. Hyg.**, v. 77, n. 5, p. 919-924. 2007.

MCGAVRAN, M. H.; WHITE, J. D. Electron microscopic and immunofluorescent observations on monkey liver and tissue culture cells infected with the Asibi Strain of Yellow Fever Virus. **Am. J. Pathol.**, v. 45, p. 501-517, 1964.

MCGOVERN, L. M.; BOYCE, T. G.; FISCHER, P. R. Congenital infections associated with international travel during pregnancy. **J. Travel. Med.**, v.14, n. 2, p. 117-128, 2007.

MCMANUS, J. F. H.; MOWRY, R. W. **Staining methods histologic and histochemical.** New York, Paul B. Hoeber Inc., 1960. 406p.

MCMINN, P. C. The molecular basis of virulence of the encephalitogenic flaviviruses. **J. Gen. Virol.**, v. 78, p.2711-2722, 1997.

MINISTÉRIO DA SAÚDE – MS-SVS [online] Disponível em: http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/boletim_svs_febre_amarela_040408.pdf (30/07/08).

MINKE, J. M.; SIGER, L.; KARACA, K.; AUSTGEN, L.; GORDY, P.; BOWEN, R.; RENSHAW, R. W.; LOOSMORE, S.; AUDONNET, J. C.; NORDGREN, B. Recombinant canarypoxvirus vaccine carrying the prM/E genes of West Nile virus protects horses against a West Nile virus-mosquito challenge. **Arch. Virol. Suppl.**, v. 18, p. 221-230, 2004.

MONATH, T. P.; BRINKER, K. R.; CHANDLER, F. W.; KEMP, G. E.; CROPP, C. B. Pathophysiologic correlations in a rhesus monkey model of yellow fever: with special observations on the acute necrosis of B cell areas of lymphoid tissues. **Am. J. Trop. Med. Hyg.**, v. 30, p. 431-443, 1981.

MONATH, T. P. Yellow fever. In: PLOTKIN, S. A.; ORENSTEIN, W. A. eds. **Vaccines**. 3. ed. Philadelphia: Saunders, 1999. p.815-879.

MONATH, T. P. Yellow fever: an update. **Lancet Infect. Dis.**, v. 1, p. 11-20, 2001.

MONATH, T. P.; BARRETT, A. D. T. Pathogenesis and pathophysiology of yellow fever. **Adv. Virus Res.** v. 60, p. 343-395, 2003.

MONATH, T. P., Yellow fever vaccine. In: PLOTKIN, S. A; ORENSTEIN, W. A. eds. **Vaccines**. 4.ed. Philadelphia: Elsevier, 2004. p.1095–1176.

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

MONATH, T. P. Treatment of yellow fever. **Antiviral Res.**, v. 78, p. 116-124, 2008.

MOR, G. Inflammation and pregnancy: the role of toll-like receptors in trophoblast–immune interaction. **Ann. N.Y. Acad. Sci.**, v. 1127, p. 121–128, 2008.

MOSSMAN, H. W. Comparative morphogenesis of the fetal membranes and accessory uterine structures. **Contr. Embryol.**, v. 26, p. 133-246, 1937.

NASIDI, A.; MONATH, T. P.; VANDERBERG, J.; TOMORI, O.; CALOSHER, C. H.; HUNRTGEN, X.; MUNUBE, G. R. R.; SORUNGBE, A. O. O.; OKAFOR, G. C.; WALI, S. Yellow fever vaccination and preagnancy: a four-year prospective study. **Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.**, v. 87, p. 337-339, 1993.

NG, T.; HATHAWAY, D.; JENNINGS, N.; CHAMP, D.; CHIANG, Y.; CHU, H. J. Equine vaccine for West Nile virus. **Dev. Virol.**, v. 114, p. 221-227, 2003.

NISHIOKA, S.; NUNES-ARAÚJO, F. R.; PIRES, W. P.; SILVA, F. A.; COSTA, H. L. Yellow fever vaccination during pregnancy and spontaneous abortion: a case control study. **Trop. Med. Int. Health.**, v. 3, p. 29-33, 1998.

PETERS, C. J.; ZAKI, S. R. Role of the endothelium in viral hemorrhagic fevers. **Crit. Care Med.**, v. 30, p. S268-S273, 2002.

POLAND, J. D.; CALISHER, C. H.; MONATH, T. P.; DOWNS, W. G.; MURPHY, K. Persistence of neutralizing antibody 30-35 years after immunization with 17D yellow fever vaccine. **Bull. World Health Organ.**, v. 59, p. 895-900, 1981.

POST, P. R.; DE CARVALHO, R.; DA SILVA FREIRE, M.; GALLER, R. The early use of yellow fever virus strain 17D for vaccine production in Brazil--a review. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz.**, v. 96, n. 6, p. 849-857, 2001.

QUARESMA, J. A. S.; BARROS, V. L. R. S.; FERNANDES, E. R.; PAGLIARI, C.; GUEDES, F.; VASCONCELOS, P. F. C. **Virus Res.**, v.116, p. 91-97, 2006.

RED-HORSE, K.; ZHOU, Y.; GENBACEV, O.; PRAKOBPHOL, A.; FOULK, R.; MCMASTER, M.; FISHER, S. J. Trophoblast differentiation during embryo implantation and formation of the maternal-fetal interface. **J. Clin. Invest.**, v. 114, p. 744-754, 2004.

REDLINE, R. W.; LU, C. Y. Specific defects in the anti-listerial immune response in discrete regions of the murine uterus and placenta account for susceptibility to infection. **J. Immunol.**, v.140, p. 3947-3955, 1988.

RICE, C. M.; LENCHES, E. M.; EDDY, S. R.; SHIN, S. H.; STRAUSS, J. H. Nucleotide sequence of yellow fever virus: implications for flavivirus gene expression and evolution. **Science**, v. 229, p.726-733, 1985.

ROBERT, E.; VIAL, T.; SCHAEFER, C.; ARNON, J.; REUVERS, M. Exposure to yellow fever vaccine in early pregnancy. **Vaccine**, v. 17, p. 283-285, 1999.

ROBERTS, R. M.; FARIN, C. E.; CROSS J. C. Trophoblast proteins and maternal recognition of pregnancy. **Oxf. Rev. Reprod. Biol.**, v. 12, p. 147-180, 1990.

ROBERTS, R. M.; CROSS, J. C.; LEAMAN, D. W. Interferons as hormones of pregnancy. **Endocr Rev.**, v. 13, p. 432-452, 1992.

ROBERTSON, S. E. **The immunological basis for immunization series: yellow fever.** Geneva, World Health Organization, 1993. (Document WHO/EPI/GEN/93.18).

SALEWSKY, E. Färbemethode zum makroskopischen nachweis von implantationsstellen am uterus der ratte. **Arch. Exp. Path. Pharm.**, v. 247, p. 367, 1964.

SALLIS, E. S. V.; GARMATZ, S. L.; FUGHERA, R. A.; BARROS, V. L. R. S.; GRAÇA, D. L. Surto de febre amarela em Bugios. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 31, p. 115-117, 2003.

SAMBROOK, J.; FRITSCH, E. F.; MANIATIS, T. **Molecular cloning - a laboratory manual**. 2 ed. New York. Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1989. 3v.

SANTOS, A. P.; BERTHO, A. L.; DIAS, D. C.; SANTOS, J. R.; MARCOVISTZ, R. Lymphocyte subset analyses in healthy adults vaccinated with yellow fever 17DD virus. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**. v. 100, n. 3, p. 331-337, 2005.

SANTOS-TORRES, S.; STRAATMANN, A.; MOTA, K.; VASCONCELOS, P. F.; DA ROSA, A. P.; TAVARES-NETO, J. The immune state against yellow fever vaccinal virus (17D) in 2 populations of Bahia State, Brazil. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.**, v. 33, n. 1, p. 39-46, 2000.

SHARKEY, A. M.; SMITH, S. K. The endometrium as a cause of implantation failure. **Best Pract. Res. Clin. Obstet. Gynaecol.**, v. 17, p. 289-307, 2003.

STEPHENSON, J. R. Flavivirus vaccines. **Vaccine**. v. 6, n. 6, p. 471-480, 1988.

STOCKS, C. E.; LOBIGS, M. Signal peptidase cleavage at the flavivirus C-prM junction: dependence on the viral NS2B-3 protease for efficient processing requires determinants in C, the signal peptide, and prM. **J. Virol.**, v. 72, n. 3, p. 2141-2149, 1998.

SUZANO, C. E. S.; AMARAL, E.; SATO, H. K.; PAPAORDANOU, P. M. The effects of yellow fever immunization (17DD) inadvertently used in early pregnancy during a mass campaign in Brazil. **Vaccine**, v. 24, p.1421-1426, 2006.

TAVARES-NETO, J.; TRAVASSOS DA ROSA, A. P. A.; VASCONCELOS, P. F. C.; COSTA, J. M. L.; TRAVASSOS DA ROSA J. F. S.; MARSDEN, P. D. Pesquisa de anticorpos para arbovírus no soro de residentes no povoado de Corte de Pedra, Valença, Bahia. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz.**, v. 81, p. 351-358, 1986.

TESH, R. B.; GUZMAN, H.; TRAVASSOS DA ROSA A. P. A.; VASCONCELOS P. F. C.; DIAS L. B.; BUNNELL J. E.; ZHANG H.; XIAO S. Y. 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.

TESH, R. B.; ARROYO, J.; TRAVASSOS DA ROSA, A. P. A.; GUZMAN, H.; XIAO, S. Y.; MONATH, T. P. Efficacy of killed virus vaccine, live attenuated chimeric virus vaccine, and passive immunization for prevention of West Nile virus encephalitis in hamster model. **Emerg. Infect. Dis.**, v. 8, p. 1392-1397, 2002.

TOBIAS, L.; CORDE, D. O.; SCHURIG, G. G. Placental pathology of the pregnant mouse inoculated with *Brucella abortus* strain 2308. **Vet. Pathol.**, v. 30, p. 119-129, 1993.

TSAI, T. F. Congenital yellow fever virus infection after immunization in pregnancy. **J. Infect. Dis.**, v. 168, p. 1520-1523, 1993.

TSAI, T. F. Congenital arboviral infections: something new, something old. **Pediatrics**, v. 117, p. 537-545, 2006.

VASCONCELOS, P. F.; LUNA, E. J.; GALLER, R.; SILVA, L. J.; COIMBRA, T. L.; BARROS, V. L.; MONATH, T. P.; RODRIGUES, S. G.; LAVAL, C.; COSTA, Z. G.; VILELA, M. F.; SANTOS, C. L.; PAPAORDANOU, P. M.; ALVES, V. A.; ANDRADE, L. D.; SATO, H. K.; ROSA, E. S.; FROGUAS, G. B.; LACAVA, E.; ALMEIDA, L. M.; CRUZ, A. C.; ROCCO, I. M.; SANTOS, R. T.; OLIVA, O. F. Serious adverse events associated with yellow fever 17DD vaccine in Brazil: a report of two cases. **Lancet**, v. 358, p. 91-97, 2001.

VASCONCELOS, P. F. C. Febre amarela: reflexões sobre a doença, as perspectivas para o século XXI e o risco da reurbanização. **Rev. bras. epidemiol.**, v. 5, n. 3, p. 244-258, 2002.

VASCONCELOS, P. F. C. Febre Amarela. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.**, v. 32, p. 275-293, 2003.

VASCONCELOS, P. F.; BRYANT, J. E.; DA ROSA, T. P.; TESH, R. B.; RODRIGUES, S. G.; BARRETT, A. D.. Genetic divergence and dispersal of yellow fever virus, Brazil. **Emerg. Infect. Dis.**, v. 10, p. 1578-1584, 2004.

WANG, E.; WEAVER, S. C.; SHOPE, R. E.; TESH, R. B.; WATTS, D. M.; BARRETT, A. D. T. Genetic variation in yellow fever virus: duplication in the 3' noncoding region of strains from Africa. **Virology**, v. 225, p.274-281, 1996.

WESTAWAY, E. G.; BRITON, M. A.; GAIDAMOVICH, S. Y.; HORZINEK, M. C.; IGARASHI, A.; KAARIAINEN, L.; LVOV, D. K.; PORTERFIELD, J. L.; RUSSELL, P. K.; TRENT, D. W. Flaviviridae. **Intervirology**, v. 24, p.183-192, 1985.

WILCOX, A. J.; WEINBERG, C. R.; O'CONNOR, J. F.; BAIRD, D. D.; SCHLATTERER, J. P.; CANFIELD, R. E.; ARMSTRONG, E. G.; NISULA, B. C. Incidence of early loss of pregnancy. **N. Engl. J. Med.**, v. 319, p. 189-194, 1988.

WU, S. J.; GROUARD-VOGEL, G.; SUN, W.; MASCOLA, J. R.; BRACHTEL, E.; PUTVATANA, R.; LOUDER, M. K.; FILGUEIRA, L.; MAROVICH, M. A.; WONG, H. K. Human skin Langerhans cells are targets of dengue virus infection. **Nat. Med.**, v. 6, p. 816-820, 2000.

WU, J.; BERA, A. K.; KUHN, R. J.; SMITH, J. L. Structure of the Flavivirus helicase: implications for catalytic activity, protein interactions, and proteolytic processing. **J. Virol.**, v. 79, n. 16, p. 10268-10277, 2005.

ZANOTTO, P.M.A.; GOULD, E.A.; GAO, G.F.; HARVEY, P.H.; HOLMES, E.C. Population dynamics of flaviviruses revealed by molecular phylogenies. **Proc. Natl. Acad. Sci U.S.A.**, v. 93, p. 548-553, 1996.