



FACULDADE DE MEDICINA DA UNIVERSIDADE DE COIMBRA

**TRABALHO FINAL DO 6.º ANO MÉDICO COM VISTA À ATRIBUIÇÃO DO
GRAU DE MESTRE NO ÂMBITO DO CICLO DE ESTUDOS DE MESTRADO
INTEGRADO EM MEDICINA**

ANA SOFIA GERALDES VAZ

CONTROLO E PREVENÇÃO DA CÓLERA

ARTIGO DE REVISÃO

ÁREA CIENTÍFICA DE INFECCIOLOGIA

**TRABALHO REALIZADO SOB A ORIENTAÇÃO DE:
MESTRE JOAQUIM OLIVEIRA
DR. NUNO MARQUES**

MARÇO 2013

*Whatever you do will be insignificant,
but it is very important that you do it.*

Mahatma Gandhi

TRABALHO FINAL DO 6.º ANO MÉDICO

CONTROLO E PREVENÇÃO DA CÓLERA

Aluna: Ana Sofia Gerales Vaz

Afiliação: Faculdade de Medicina, Universidade de Coimbra, Portugal

Correspondência:

Ana Sofia Gerales Vaz

Mestrado Integrado em Medicina – 6.º ano

Faculdade de Medicina da Universidade de Coimbra

Morada: Avenida D. Afonso Henriques, n.º 134, 2.ºB, 3000-009 Coimbra

Email: anasgvaz@hotmail.com

Nota: Trabalho final escrito segundo o Acordo Ortográfico da Língua Portuguesa de 16 de Dezembro de 1990.

Índice

Lista de abreviaturas.....	VI
Resumo.....	1
Abstract.....	2
Materiais e métodos.....	4
1. Introdução.....	5
2. A cólera – enquadramento do tema.....	8
2.1. História e epidemiologia.....	8
2.2. Etiologia.....	10
2.3. Patogenia.....	11
2.4. Clínica.....	14
2.5. Diagnóstico.....	15
2.6. Tratamento.....	15
3. Prevenção e controlo da cólera.....	17
3.1. Resposta aos surtos de cólera.....	17
3.1.1. Detecção dos casos e transporte dos doentes.....	17
3.1.2. Distribuição dos recursos terapêuticos e acesso ao tratamento.....	17
3.1.3. Organização do sistema de triagem e de prestação dos cuidados de saúde.....	18
3.1.4. Recursos humanos.....	19
3.2. Medidas higiénico-sanitárias e educação das populações.....	19
3.3. Abastecimento de água e saneamento público.....	20
3.4. Vacinas.....	24

3.4.1. Patogénese da infecção por <i>Vibrio cholerae</i>	24
3.4.2. Marcadores de imunidade.....	25
3.4.3. Vacinas injectáveis.....	26
3.4.4. Vacinas orais.....	27
3.4.4.1. Vacinas mortas.....	28
3.4.4.2. Vacinas vivas atenuadas.....	34
3.4.4.3. Vacinas em desenvolvimento.....	34
3.4.5. Novas abordagens.....	35
3.4.6. Factores que influenciam a efectividade das vacinas.....	37
3.4.6.1. Endemicidade.....	37
3.4.6.2. Imunidade de grupo.....	39
3.4.6.3. Estratégias adjuvantes.....	40
3.4.7. Estudos de custo-efectividade.....	41
3.4.8. Estratégias de vacinação.....	42
3.4.8.1. Controlo da cólera endémica.....	44
3.4.8.2. Controlo de surtos de cólera.....	45
3.4.9. Obstáculos e soluções.....	47
3.4.9.1. A escassez de recursos e a importância da colaboração internacional.....	47
3.4.9.2. Aspectos culturais e comportamentais na aceitação da vacinação.....	49
3.4.10. Vacinação do viajante.....	50
4. Quimioprofilaxia.....	51
5. Comparação de diferentes estratégias de controlo e de prevenção.....	52
6. Importância de uma abordagem integrada, complementar e abrangente.....	54

7. Vigilância.....	55
8. Conclusão.....	57
9. Agradecimentos.....	59
10. Referências bibliográficas.....	60

Lista de abreviaturas

ADN	Ácido desoxirribonucleico
BS	Subunidade B da toxina colérica (do inglês, <i>B subunit</i>)
CTC	Centros de Tratamento da Cólera
ETEC	<i>Escherichia coli</i> enterotoxigénica (do inglês, <i>enterotoxigenic E.coli</i>)
GbpA	<i>GlcNAc-binding protein</i>
LPS	Lipopolissacárido
ODM	Objectivos de Desenvolvimento do Milénio
OMS	Organização Mundial de Saúde
PBEID	Proliferação Bacteriana Excessiva no Intestino Delgado
PRO	Pontos de Reidratação Oral
rBS	Subunidade B recombinante da toxina colérica (do inglês, <i>recombinant B subunit</i>)
SRO	Solução de Reidratação Oral
TC	Toxina Colérica
TCP	<i>toxin-coregulated pilus</i>
UTC	Unidades de Tratamento da Cólera
VIH	Vírus da Imunodeficiência Humana
VME	Vesículas da Membrana Externa
WC	Vacina de células mortas (do inglês, <i>whole cell</i>)

Resumo

Introdução: A cólera é uma doença infecciosa causada por *Vibrio cholerae*, transmitida por via fecal-oral, cuja manifestação clínica sob a forma de diarreia aquosa profusa pode, em apenas algumas horas, levar à morte. Apesar do vasto conhecimento actual acerca da sua epidemiologia, patogénese e meios de transmissão, a cólera permanece um importante problema de saúde pública à escala global, que acarreta custos económicos e sociais consideráveis. A sua incidência e mortalidade são significativas e têm vindo a aumentar nos últimos anos, o que aponta para a premência do desenvolvimento e aplicação de medidas eficazes para a sua prevenção e controlo.

Objectivos: O presente trabalho pretendeu efectuar uma revisão das estratégias de prevenção e controlo da cólera e elencar, para cada realidade epidemiológica, as vantagens de cada medida e os obstáculos que se colocam à sua execução prática.

Material e métodos: Para este efeito, realizou-se uma pesquisa utilizando as bases de dados *Pubmed* e *b-ON*, tendo-se seleccionado a bibliografia mais relevante publicada entre Janeiro de 2007 e Março de 2013.

Resultados: O combate à cólera assenta primariamente no desenvolvimento das condições de saneamento, com o tratamento adequado dos dejectos humanos, e de fornecimento de água com qualidade às populações. O ideal, a longo prazo, será a criação de infra-estruturas para este efeito; dada a frequente escassez de recursos, algumas medidas, de mais fácil aplicação, poderão ser implementadas para prevenir e controlar surtos e doença endémica, tais como a sensibilização da população para questões de higiene (lavagem das mãos com sabão) e sistemas de armazenamento, filtração e desinfecção da água. As vacinas poderão também ajudar no controlo da

doença. Três vacinas orais contra a cólera, com efectividade e segurança comprovadas, estão aprovadas pela OMS; a sua aplicação por antecipação e/ou de forma reactiva obteve resultados consideráveis na prevenção da doença. A vigilância é uma ferramenta de apoio no delineamento das estratégias, possibilitando uma actuação dirigida. No entanto, diversos obstáculos se colocam à implementação prática destas medidas, particularmente de carácter social, cultural, ético, político, logístico e económico.

Conclusão: Embora existam as ferramentas necessárias para a prevenção e controlo da endemia e de surtos epidémicos de cólera, a sua implementação prática encontra dificuldades importantes. O sucesso das acções desenvolvidas dependerá essencialmente da melhoria das condições higiénico-sanitárias das populações afectadas e em risco, reforçada de forma positiva pelo uso criterioso das vacinas disponíveis. Espera-se que a investigação actualmente em curso possa levar ao desenvolvimento de vacinas com melhor perfil de segurança e efectividade.

Palavras-chave: cólera, prevenção, controlo, vacinas, *Vibrio cholerae*.

Abstract

Introduction: Cholera is an infectious disease caused by *Vibrio cholerae*, transmitted by fecal-oral route, whose clinical presentation as a profuse, watery diarrhea, can, in a few hours, lead to death. In spite of the broad knowledge on its epidemiology, pathogenesis and transmission pathways, cholera remains an important public health problem at global scale, which entails a significant economic and social

burden. Its incidence and mortality are meaningful and have been increasing throughout the past few years, which points out the urgency of developing and applying effective measures for the disease prevention and control.

Objectives: The present paper intended to make a review of the strategies for the prevention and control of cholera and to list, for each epidemiological context, the advantages of each action and the barriers to its practical execution.

Methods: To accomplish this purpose, a research on *Pubmed* and *b-ON* was performed, selecting the most relevant literature published between 2007 and March 2013.

Results: The fight against cholera lays primarily on the development of the sanitary conditions, with an appropriate human excreta management, and on a safe water supply to the population. The main target, on a long-term basis, will be constructing infrastructures to achieve this goal; given the frequent lack of resources, some measures, easier to accomplish, can be used to prevent and control outbreaks and endemic disease, such as education on hygiene care (hand-washing with soap) and systems for the storage, filtration and disinfection of water. Vaccines can also help to control the disease. Three oral vaccines against cholera, of proven effectiveness and safety, are licensed by the World Health Organization; its preemptive and/or reactive use has achieved meaningful results on the disease prevention. Surveillance is a helpful tool to outline strategies, enabling a targeted operation. Nevertheless, many barriers are placed to the practical application of these measures, particularly those of social, cultural, ethical, political, logistical and economical order.

Conclusions: Even though the needed tools for the prevention and control of endemic and epidemic cholera exist, its practical execution faces important challenges. The success of the adopted strategies will mainly depend on the improvement of

hygiene and sanitary conditions of the populations affected and at risk of cholera, positively reinforced by the judicious use of the available vaccines. It is expected that the ongoing research can lead to the development of safer and more effective vaccines.

Keywords: cholera, prevention, control, vaccines, *Vibrio cholerae*.

Materiais e métodos

O presente trabalho consiste numa revisão da literatura existente sobre as estratégias de controlo e prevenção da cólera. A informação foi obtida através de pesquisa nas bases de dados informatizadas *PubMed* e *b-ON*, com as seguintes palavras-chave: *cholera*; *cholera prevention*; *cholera control*; *cholera vaccines*; *vibrio cholerae*. A bibliografia seleccionada inclui as meta-análises, artigos originais e artigos de revisão mais relevantes publicados em inglês entre Janeiro de 2007 e Março de 2013

1. Introdução

A cólera é uma doença infecciosa que se manifesta clinicamente sob a forma de diarreia aguda secretora, sendo causada pelos serotipos toxigénicos de *Vibrio cholerae* (O1 e O139) (1). Esta doença pode matar uma pessoa saudável em 12 a 24 horas a partir do início da diarreia e origina surtos explosivos, o que provavelmente torna o *V. cholerae* no patógeno que consegue matar o maior número de seres humanos num mais curto espaço de tempo (2).

A cólera acompanha a humanidade há, pelo menos, um milénio, tempo ao longo do qual foi a causa de centenas de milhares de mortes. Ocorrendo como epidemia, associada frequentemente a desastres ambientais, estabelece-se também como doença endémica, actualmente predominante na Ásia e em África (3).

Entre 1817 e 1923, ocorreram seis pandemias, todas com origem na Ásia. A sétima pandemia de cólera, causada pelo biótipo O1 *El Tor*, teve início em 1961, na Indonésia, tendo-se propagado para a Ásia e África, e continua até hoje (1).

Ao contrário das pandemias anteriores, com duração entre cinco e vinte anos, a actual é a mais longa de que se tem conhecimento, não existindo evidências de abrandamento. Pelo contrário, os surtos de cólera parecem estar a aumentar em frequência, duração e gravidade (4).

Actualmente, a cólera é endémica em mais de 50 países, estando profundamente enraizada em diversas áreas da África subsariana e da Ásia. Nos últimos anos, ocorreram surtos de cólera na Nigéria, Sudão, Somália, Angola, Zimbabué e Haiti (4).

A maioria dos países afectados apresenta uma taxa de mortalidade inferior a 5%, embora em determinados locais esta ascenda aos 50%, particularmente nos grupos

populacionais mais vulneráveis, como as crianças e os infectados por Vírus da Imunodeficiência Humana (VIH) (5).

Em 2011, foram registados pela Organização Mundial de Saúde (OMS) 589 854 casos e 7 816 mortes por cólera, a nível mundial. A dimensão exacta do problema é, no entanto, incerta, devido às limitações dos sistemas de vigilância e do processo de notificação dos casos à OMS, pelo que é altamente provável que exista uma subestimativa relativamente à verdadeira prevalência da doença (6).

Os números reais estimados apontam para 3 a 5 milhões de casos mundiais e 100 000 a 130 000 mortes por ano (5).

Entre 2000 e 2010, registou-se um aumento da incidência da cólera de cerca de 130% e, em 2011, uma subida de 85% relativamente a 2010 (6).

Estes dados, referentes à última década, sugerem uma notória insuficiência das actividades actualmente em curso para a prevenção da cólera.

A elevada incidência mundial desta doença contrasta com o conhecimento de longa data acerca das medidas efectivas de prevenção da sua transmissão. Com efeito, entre 1849 e 1854, John Snow, médico britânico, propôs que a cólera seria uma doença transmissível e que as fezes conteriam material infeccioso, sugerindo, ainda, que este material poderia contaminar locais de abastecimento de águas de consumo, resultando na transmissão da doença (1). Também no século XIX, Joseph Bazalgette estabeleceu meios eficazes para a prevenção da cólera, como o fornecimento de água potável e o tratamento dos dejectos humanos. A cólera é, por isso, uma das primeiras infecções cujo modo de transmissão foi compreendido e para o qual medidas efectivas de prevenção foram desenvolvidas e implementadas (7)

Em 2011, a 64.^a Assembleia Mundial de Saúde adoptou a resolução 64.15, reconhecendo a reemergência da cólera como uma situação de saúde pública

importante, apelando à implementação de uma abordagem integrada e abrangente para o controlo da doença. Diversos foram os elementos que motivaram esta decisão, entre eles os dados epidemiológicos mundiais mais recentes acerca da incidência e mortalidade por cólera, a emergência de novas estirpes de *V. cholerae*, responsáveis por manifestações clínicas de maior gravidade e por uma resistência aumentada aos antibióticos, assim como as recentes alterações climáticas, com consequências de relevo na epidemiologia do vibrião (6).

As principais medidas preconizadas pela OMS para a prevenção da cólera consistem na promoção de um diagnóstico e tratamento precoces e adequados dos casos identificados, na melhoria das condições básicas de saneamento, de fornecimento de água e de segurança alimentar, na educação e mobilização das populações e na utilização adequada de vacinas contra a cólera – área que é alvo de activa investigação e constante actualização (5).

Neste contexto, pretende-se, com o presente trabalho, abordar cada uma destas medidas de prevenção da cólera, procurando responder às seguintes questões:

- Quais as estratégias para a prevenção e controlo da cólera, tendo em conta o actual impacto da doença a nível mundial;
- De que modo se deve proceder à implementação destas medidas de controlo e prevenção, quer nos países em que a cólera é endémica, quer nos países onde ocorrem surtos de cólera;
- Qual a importância de cada uma das estratégias ou da sua actuação conjunta;
- Quais os obstáculos à sua execução prática;
- Em que campos se deverá investir em termos de investigação nesta área.

Para desenvolver estas questões, procurou valorizar-se a experiência adquirida mundialmente nos estudos em áreas endémicas e nos surtos mais recentes de cólera.

2. A cólera – enquadramento do tema

2.1. História e epidemiologia

Foram encontradas descrições em sânscrito, datando do século V a.C., de uma doença que se assume como sendo a cólera. A doença em causa terá, desde então, permanecido no subcontinente indiano durante séculos. Em 1817, a cólera propagou-se para além desta região, dando origem à primeira pandemia. Entre 1817 e 1923, registou-se a ocorrência de seis pandemias, todas elas com origem na Ásia. A sétima pandemia de cólera, que continua até aos nossos dias, começou na Indonésia em 1961, tendo-se estendido posteriormente aos continentes asiático e africano (1).

Ao contrário das anteriores pandemias, com duração entre cinco e vinte anos, a actual conta já com mais de cinco décadas de existência, sendo a mais longa de que se tem conhecimento, sem mostrar sinais de declínio. Pelo contrário, os surtos de cólera parecem estar a aumentar em frequência, duração e gravidade (4).

Actualmente, a cólera é endémica em mais de 50 países, estando profundamente enraizada em diversas áreas da África subsariana e da Ásia (4).

Em 2011, 58 países notificaram 589 854 casos cumulativos e 7 816 mortes por cólera, calculando-se uma taxa de letalidade média de 1,3%. Relativamente a 2010, verificou-se um aumento de 85% do número de casos. O continente africano, que entre 2001 e 2009 foi responsável por 93-98% de todos os casos mundiais, contabilizou em 2011 menos de 50% dos casos totais. Esta situação foi atribuída ao surto de cólera com início no Haiti em Outubro de 2010, no qual tiveram origem 61% dos casos notificados em 2011 (6).

É sabido que o número de casos reais de cólera é muito superior ao daqueles que são notificados. As discrepâncias devem-se, sobretudo, à subnotificação evidente, assim como às limitações dos sistemas de vigilância, que incluem inconsistências nas definições de casos e falta de terminologia padronizada. Por exemplo, os números excluem os cerca de 500 000 a 700 000 casos anuais classificados como “diarreia aguda aquosa” que ocorrem no sudeste e centro do continente asiático. No Bangladesh, em particular, são registados mais de dois milhões de casos de diarreia aquosa aguda em cada ano; a proporção destes casos causada por *V. cholerae* é desconhecida. O receio de sanções sobre o comércio e o turismo, nos países notificantes, tem igualmente implicações em termos de casos não comunicados à OMS (6).

Os números reais estimados apontam para 3 a 5 milhões de casos mundiais e 100 000 a 130 000 mortes por ano (5).

Considera-se que cerca de 1,4 mil milhões de pessoas se encontram em risco de cólera nos países endémicos, nos quais há uma estimativa de cerca de 1,8 milhões de casos de cólera por ano. Cerca de 87 000 casos ocorrem, por ano, em países não endémicos, sendo que a maior incidência se verifica nas crianças com menos de 5 anos (8).

Na última década, registaram-se epidemias devastadoras em Angola, Etiópia, Zimbabué, Paquistão, Somália, Sudão, Vietname e Haiti (9).

A epidemia do Zimbabué, que deflagrou em 2008, durou um ano e envolveu mais de 100 000 casos, tendo resultado em pelo menos 4 000 mortes (9).

O surto de cólera com início no Haiti em Outubro de 2010 prolongou-se até 2012, tendo totalizado 577 858 casos e 7 413 mortes notificados até 5 de Julho de 2012. O surto propagou-se para a República Dominicana, que notificou 20 851 casos, incluindo 336 mortes (6).

A 7 de Setembro de 2012, a OMS identificou um surto de cólera na Serra Leoa. De 1 de Janeiro a 30 de Agosto de 2012, foram notificados 13 934 casos de cólera, incluindo 232 mortes (taxa de letalidade de 1,7%). O aparecimento de novos casos acelerou rapidamente desde o início de Agosto. O Presidente deste país declarou a epidemia crescente de cólera uma “crise humanitária”, tendo sido estabelecido um Centro de Controlo e Comando da Cólera no “*WHO Country Office*”, em Freetown. Esta mesma abordagem havia sido previamente utilizada no surto do Zimbabué de 2008-2009, tendo alcançado bons resultados (10).

2.2. Etiologia

A cólera é causada por infecção pelo vibrião colérico, *Vibrio cholerae*, um bacilo Gram-negativo, classificado em mais de 200 serogrupos baseados no antígeno O do seu lipopolissacárido (LPS); destes, só o O1 e o O139 causam cólera epidémica. O *V. cholerae* O1 é, ainda, classificado em dois biótipos – *clássico* e *El Tor*-, de acordo com características fenotípicas específicas, e em três serotipos – Inaba, Ogawa e Hikojima-, de acordo com a presença de antígenos somáticos. O *V. cholerae* O139 foi pela primeira vez identificado em 1992, no sul da Ásia, como estando na origem de epidemias coléricas. Este microrganismo deriva do *V. cholerae* O1 *El Tor* por transferência lateral de uma ilha genómica, sendo, de resto, quase idêntico ao *V. cholerae* O1 *El Tor*. Apesar de o *V. cholerae* O1 *clássico* ter sido responsável pela quinta e pela sexta pandemia (e presumivelmente também pelas anteriores), a sétima pandemia é atribuída ao biótipo *El Tor*, que substituiu agora o biótipo *clássico* (1). Comparativamente com este, o primeiro apresenta uma maior capacidade de sobrevivência em reservatórios aquáticos e está associado a uma maior frequência de

infecções assintomáticas (4).

Embora os primeiros isolados de *V. cholerae* O1 fossem susceptíveis à maioria dos antibióticos, *V. cholerae* O139 e alguns isolados de *V. cholerae* O1 *El Tor* adquiriram um elemento STX, um elemento genético auto-transmissível, que inclui genes associados à resistência ao cotrimoxazol e à estreptomicina; este elemento é encontrado em quase todas as estirpes isoladas na última década. Nos últimos anos, na Ásia, foram encontradas estirpes de *V. cholerae* O1 resistentes a tetraciclina, eritromicina ou ciprofloxacina e suas combinações; algumas destas estirpes adquiriram genes adicionais de resistência no elemento STX. Estas estirpes multirresistentes não foram ainda encontradas noutros locais.

A dose infectante de *V. cholerae* O1 foi estimada entre 10^5 e 10^8 , mas pode baixar para 10^3 na presença de acloridria. O período de incubação situa-se entre 12 horas e 5 dias (1).

2.3. Patogenia

Entre 1849 e 1854, John Snow, médico britânico, propôs que a cólera seria uma doença transmissível e que as fezes conteriam material infeccioso, sugerindo, ainda, que este material poderia contaminar locais de abastecimento de águas de consumo, com consequente transmissão da doença (1).

Também no século XIX, Joseph Bazalgette identificou meios eficazes para a prevenção da cólera, nomeadamente o fornecimento de água potável e o tratamento dos dejectos humanos. A cólera é, por isso, uma das primeiras infecções cujo modo de transmissão foi compreendido e para o qual medidas efectivas de prevenção foram desenvolvidas e implementadas (7).

No entanto, só mais recentemente se começaram a entender as capacidades evolucionárias do microrganismo e a complexidade das suas vias de transmissão, elementos cuja compreensão será fulcral ao desenvolvimento de estratégias eficazes para o controlo da doença (3).

A transmissão do *V. cholerae* ocorre, como já referido, por via fecal-oral, estando implicadas duas formas principais de transmissão: pessoa-a-pessoa e ambiente-pessoa.

No que diz respeito à segunda forma, os reservatórios aquáticos ambientais são críticos para a manutenção a longo termo de *V. cholerae*. Correspondem a sistemas biológicos complexos, em que as populações de vibrião colérico são moduladas por condições ambientais (factores macroambientais, como tornados ou sismos), assim como por populações de bacteriófagos líticos e flutuações nas populações de zooplâncton e copépodes. Os surtos de cólera ocorrem, pois, frequentemente relacionados com colapsos em termos de saneamento e com o desmantelamento de infra-estruturas de saúde, nomeadamente aquando da ocorrência de desastres naturais complexos (3).

A incidência de cólera aumenta nas cheias. As alterações na temperatura das águas e o seu grau de salinidade têm importantes implicações na epidemiologia da doença. O *V. cholerae* desenvolve-se melhor em presença de sal, mas pode crescer em águas de baixa salinidade, quando são quentes e contêm nutrientes orgânicos, como zooplâncton e conchas, uma vez que utiliza a quitina como fonte de carbono e azoto. Desta forma, o entendimento das variações sazonais da temperatura da água pode ajudar a prever a probabilidade de uma epidemia de cólera (1).

A maioria de *V. cholerae* existente nos reservatórios aquáticos está associado a biofilmes, principalmente sob uma forma activa ou viável mas não cultivável, que

corresponde a um gérmen não cultivável mas infectante, que desempenha um papel de relevo no ressurgimento da cólera aquando de um surto. No entanto, a forma cultivável do vibrião é o principal factor que contribui para a transmissão no decorrer de uma epidemia na população humana (1).

A excreção do *V. cholerae* nas fezes ocorre durante dias (nos doentes assintomáticos) a semanas (nos sintomáticos), podendo verificar-se de duas formas: como células planctónicas ou como agregados de biofilmes. Após excreção, o vibrião encontra-se no denominado “estado hiperinfectioso”, cuja dose infectante é 10 a 100 vezes inferior à dos microrganismos não excretados por humanos. Esta forma persiste na água entre 5 e 24 horas, mas o efeito dilucional no ambiente condiciona uma queda na sua infectiosidade. Esta situação sugere que os microrganismos transmitidos pessoa-a-pessoa podem ser mais infectiosos do que aqueles provenientes do ambiente e adaptados a ele, realçando a relevância de uma prevenção com enfoque sobre os contactos a nível doméstico e na janela de tempo referente ao estado hiperinfectioso, nomeadamente através da educação das populações para cuidados higiénico-sanitários (1,4).

Esta hiperinfectiosidade explica que o potencial de infecção a partir de fontes ambientais aumente claramente no contexto de condições de saneamento deficitário durante epidemias e, quando inserida em modelos matemáticos, explica melhor a natureza explosiva de um surto do que nos casos em que esta variável não é tida em consideração (3).

Outros factores implicados na patogenia da cólera são: a concentração de *V. cholerae* O1 ou O139 nas fezes; diferenças de infectiosidade entre as células planctónicas e os agregados de biofilmes; a rapidez da transmissão pessoa-a-pessoa e a concentração na água das formas activas não cultiváveis (1).

2.4. Clínica

Clinicamente, a cólera é uma doença “simples”. As suas manifestações resultam quase inteiramente da acção da toxina colérica (TC), uma enterotoxina proteica excretada pela bactéria. A subunidade A desta toxina activa a enzima adenilato ciclase, levando a um aumento da secreção de ião cloreto pelas células das criptas intestinais e a uma redução da absorção acoplada de sódio e cloreto pelas células das vilosidades intestinais, o que resulta num movimento massivo de electrólitos e água para o lúmen intestinal. A gravidade da doença varia de forma ampla (3).

Na forma mais grave da doença - *cholera gravis* - ocorre uma diarreia aquosa profusa, tipo “água de arroz”, em volumes que chegam a atingir 1 litro por hora, podendo originar choque hipotensivo e morte em poucas horas a partir da instalação dos sintomas. Nestes casos, se não tratados, a taxa de mortalidade atinge os 70%.

Os vómitos estão muitas vezes presentes, sobretudo na fase inicial da doença. A diarreia é tipicamente indolor e não acompanhada de tenesmo; alguns doentes apresentam também desconforto ou cólicas abdominais devido à distensão intestinal pelos fluidos. As principais complicações da cólera são a desidratação e as alterações hidroelectrolíticas (1).

O choque, mesmo se tratado de forma adequada, pode precipitar a ocorrência de insuficiência renal aguda. Este quadro, associado à considerável perda fecal de bicarbonato, resulta numa acidose láctica grave (3).

Apesar do impacto, ainda considerável, destas formas aparatosas, a cólera endémica apresenta-se sob a forma assintomática em 40 a 80% dos casos e, se sintomática, pode manifestar-se de forma ligeira, indistinguível da infecção por qualquer outro enteropatógeno. Nesta forma endémica, os casos mais graves afectam

crianças e indivíduos não expostos previamente ao bacilo. No contexto epidémico, a doença grave afecta igualmente adultos e crianças, resultando em elevadas taxas de letalidade (1).

2.5. Diagnóstico

Segundo a OMS, deve suspeitar-se de um caso de cólera quando um doente com idade igual ou superior a 5 anos desenvolve desidratação grave ou morre por diarreia aquosa aguda, mesmo numa região onde se desconhece a presença de cólera, assim como no caso de um doente com idade igual ou superior a 2 anos que desenvolva diarreia aquosa aguda numa área endémica.

Se houver possibilidade de diagnóstico microbiológico, a infecção por *V. cholerae* pode ser confirmada pelo isolamento do microrganismo a partir das fezes, nomeadamente através de microscopia de fundo escuro, meios de cultura selectivos, testes bioquímicos e da utilização de anticorpos específicos para a serotipagem (1).

2.6. Tratamento

A reposição da perda de fluidos, no tratamento da desidratação, é o aspecto central da abordagem clínica dos doentes com cólera. A solução de reidratação oral (SRO) e a utilização de fluidos intravenosos, medidas de baixo custo e fácil distribuição, são a chave para salvar vidas (11). A introdução da SRO levou a uma diminuição da taxa de letalidade de valores superiores a 30% para menos de 1%. A solução aprovada pela OMS utiliza a glucose como fonte de hidratos de carbono. Com concentrações equimolares de sódio e glucose, permite maximizar a reabsorção sódica

no intestino delgado e substituir as perdas de fluidos (1). Mais de 80% dos doentes podem ser tratados eficazmente apenas com a SRO (11). Nos doentes gravemente desidratados (perda de, pelo menos, 10% do peso), a reidratação endovenosa é quase sempre necessária, ao passo que os doentes com ligeiro grau de desidratação deverão utilizar primariamente a via oral (3).

Os antibióticos devem ser implementados como terapia adjuvante, em doentes com desidratação moderada a grave, ou seja, em todos os doentes hospitalizados. Nestes casos, a utilização de antibióticos adequados (como tetraciclina, ciprofloxacina ou azitromicina), cuja escolha deverá ser baseada nos padrões de resistência locais, demonstrou uma acção benéfica a vários níveis, nomeadamente no encurtamento da duração da diarreia e da excreção de vibriões viáveis nas fezes e na redução do volume das fezes em cerca de 50%, efeitos com impacto positivo em termos de limitação da transmissão.

A introdução de uma dieta hiperenergética, imediatamente após a correcção da perda de fluidos, contribui para prevenir a malnutrição e evitar complicações imediatas como a hipoglicémia e hipocaliémia.

Nas crianças, os suplementos de zinco reduzem a duração da diarreia e o volume de fezes, assim como a incidência de episódios subsequentes; a suplementação com vitamina A é igualmente benéfica para as crianças com diarreia nos países de baixa renda. O aleitamento materno deverá ser encorajado, complementado com a solução de reidratação oral (1).

3. Prevenção e controlo da cólera

3.1. Resposta aos surtos de cólera

3.1.1. Detecção dos casos e transporte dos doentes

Mesmo que a rede de prestação de cuidados de saúde se encontre operacional e devidamente abastecida com os recursos necessários, muitos doentes são incapazes de aceder atempadamente aos centros de tratamento da cólera. Nestes casos, além das consequências nefastas para estes indivíduos, cuja degradação do estado clínico pode culminar na morte, eles contribuem ainda para a disseminação da infecção.

No início da epidemia no Haiti, foi estimado que cerca de 40% das mortes por cólera teriam sido devidas à falta de acesso atempado aos cuidados adequados de saúde. A maior parte dos doentes tratados chegou aos locais de tratamento da cólera através da ajuda de familiares e não como resultado de esforços dirigidos no sentido de os identificar e tratar. A escassez de ambulâncias para transporte de doentes e a falta de meios para cuidados de saúde *in loco* teriam estado na base desta problemática (11).

3.1.2. Distribuição dos recursos terapêuticos e acesso ao tratamento

Com a actual padronização terapêutica, a mortalidade da cólera grave pode ser reduzida a menos de 0,2%, mesmo em contextos com recursos limitados. No entanto, as taxas de mortalidade podem exceder os 10% antes de os recursos adequados estarem disponíveis (1).

No início do surto de cólera no Haiti, por exemplo, foi identificado um deficitário acesso à SRO. Com o aumento deste acesso, nos meses que se seguiram, verificou-se uma considerável diminuição dos índices de mortalidade. Será, portanto, fundamental garantir o acesso rápido das populações em risco de infecção à SRO, assim como a existência de reservas desta solução para eventuais futuros surtos a ocorrer na região (11).

Os problemas burocráticos são, muitas vezes, um obstáculo importante à prestação adequada dos cuidados de saúde. Esta é, contudo, uma área de debate bastante vasta, cuja discussão não se enquadra no âmbito da questão que se propôs abordar. Apenas a título de exemplo, pode referir-se uma situação ocorrida durante a epidemia de cólera que deflagrou no Zimbabué em 2008, em que foram necessárias várias semanas até que os Médicos Sem Fronteiras tivessem autorização para libertar uma ala do hospital de doenças infecciosas em Harare para o tratamento de doentes com cólera (12).

3.1.3. Organização do sistema de triagem e de prestação dos cuidados de saúde

No Haiti, foi utilizado um sistema de triagem utilizando locais de tratamento independentes – *centros de tratamento da cólera (CTC)*, *unidades de tratamento da cólera (UTC)* e *pontos de reidratação oral (PRO)*. Os PRO e as UTC funcionam como primeira porta de acesso ao sistema de saúde dos indivíduos com diarreia aquosa grave, onde são estabilizados e de onde são referenciados para os CTC ou têm alta para o domicílio. Esta organização teve o objectivo de possibilitar a continuidade da oferta dos normais serviços de saúde nos hospitais e em outros centros de cuidados de saúde. No

entanto, as áreas rurais, onde o maior número de casos de cólera foi registado, encontram-se frequentemente a distâncias consideráveis dos centros de assistência médica, situação agravada pela insuficiência e inadequação dos serviços de transporte existentes nestes locais, como anteriormente referido no ponto 3.1.1, comprometendo a eficiência da implementação do sistema descrito (11).

3.1.4. Recursos humanos

Um dos maiores obstáculos à efectiva prestação de cuidados de saúde no Haiti foi a falta de prestadores de cuidados de saúde. Neste contexto, foram desenvolvidos diversos esforços no sentido de ensinar trabalhadores da área da saúde a prevenir, identificar e tratar a cólera. Estas iniciativas de “formação de formadores” contribuíram para a redução da incidência e das taxas de mortalidade registadas (11).

3.2. Medidas higiénico-sanitárias e educação das populações

Os contactos próximos entre pessoas, nomeadamente a nível domiciliário e em locais de aglomerados populacionais (bairros de lata, prisões, campos de refugiados, locais de tratamento de cólera), colocam esses indivíduos em elevado risco de infecção pela cólera, devido ao estado hiperinfectioso de *V. cholerae* aquando da sua excreção nas fezes (conforme explicado anteriormente). Deste modo, medidas que evitem a transmissão fecal-oral deste patógeno terão grande valor no combate à cólera, nomeadamente a lavagem das mãos com água e sabão, a melhoria e instalação de

latrinas e sistemas de drenagem de dejectos humanos, o tratamento adequado dos resíduos e o controlo das águas, assim como o manuseamento dos cadáveres de forma higiénica.

Segundo a OMS, a lavagem das mãos com sabão, de forma sistemática, antes da manipulação dos alimentos e após a defecação, continua a ser uma das medidas mais seguras de prevenir a transmissão da cólera. A promoção de uma educação adequada das populações neste sentido será uma medida de grande relevância e impacto (11).

Um estudo realizado em campos de refugiados no Quénia, publicado em 2009, a propósito de um dos cinco surtos de cólera que aí ocorreram em 2005, realça importantes factores relacionados com as condições higiénico-sanitárias implicadas na transmissão da cólera, que se apresentam como obstáculos no combate a epidemias desta doença em locais com características semelhantes. De facto, os campos de refugiados apresentam características que os tornam particularmente vulneráveis à cólera, tais como as fracas condições de saneamento (falta de latrinas), o armazenamento inadequado de alimentos e a disponibilidade escassa e desajustada de água potável, associados ao sistema imunitário deprimido dos refugiados, consequência da malnutrição e de outras infecções (13). Nestes locais, foi demonstrada a eficácia da implementação de medidas de baixo custo, tais como o fornecimento de sabão, em associação com educação das populações, com enfoque na sensibilização para a importância de uma técnica correcta de lavagem das mãos, e o armazenamento da água em condições de segurança (14).

3.3. Abastecimento de água e saneamento público

Actualmente, cerca de 13% da população mundial ainda não tem acesso a água

potável. Para corrigir esta disparidade, seria necessário assegurar água potável a um número adicional de 240 000 pessoas por dia, durante dez anos. Como tal, será fácil compreender que o fornecimento de água potável a toda a população mundial tem de ser encarado como um objectivo a longo termo, que pode levar décadas a ser alcançado (2).

Alguns progressos já desenvolvidos serão, contudo, de realçar. A proporção de população sem acesso a água potável, a nível global, foi reduzida em mais de metade desde 1990; este foi um dos Objectivos de Desenvolvimento do Milénio (ODM), que foi atingido antes da data limite de 2015. No entanto, este sucesso tem sido assimétrico e não equitativo. No que respeita a condições de saneamento, a situação não é melhor: de acordo com a actual taxa de progresso, este ODM não será atingido até 2026. Dois mil milhões e meio de pessoas continuam a viver sem condições mínimas de saneamento. Com efeito, 15% da população mundial, mais de mil milhões de pessoas, ainda defeca ao ar livre (15).

Assegurar água potável e saneamento, a nível global, é um projecto difícil. Os desafios apresentam-se em diversas vertentes, nomeadamente a nível tecnológico, económico-financeiro, cultural e político.

A nível tecnológico, o rápido crescimento urbano e a formação de megacidades sobrecarregam as redes urbanas de distribuição de águas, que não conseguem corresponder às crescentes necessidades de construção e de manutenção. A utilização de tecnologias de filtração e de tratamento das águas de consumo com métodos *point-of-use* e *point-of-access*, tais como a desinfecção química e solar e o armazenamento da água nas habitações em condições de segurança, constituem medidas de aplicação ao nível doméstico que poderão, a curto-prazo, melhorar o acesso a água potável (15).

A epidemia que afectou o Zimbabué entre 2008 e 2009 foi precedida por pequenos surtos, que foram sendo registados neste país desde 1992. De facto, a

conjunção de diversos factores foi predispondo o país para uma provável epidemia de cólera devastadora. A instabilidade política e crise económica concomitante serão de destacar, tendo inviabilizado o fornecimento de água potável à população e exacerbado as más condições higiénico-sanitárias existentes: a população defecava ao ar livre, os cortes de água e de energia eléctrica eram frequentes, conduzindo ao recurso a fontes de água facilmente contamináveis (12,16).

No Haiti, a grave escassez de água que se seguiu ao sismo de 2010 veio sobrepor-se às precárias condições de abastecimento de água previamente existentes. Com efeito, o Haiti foi considerado o país ocidental do hemisfério norte com piores condições a nível de infra-estruturas de água e saneamento (17). A instabilidade política, nomeadamente por afectar a rede de distribuição de água, desempenhou um papel notável no agravamento da epidemia de cólera que se instalou no país. Os bloqueios à passagem de camiões utilizados para o fornecimento de água potável impediram a implementação de importantes medidas para o controlo da transmissão da doença (18).

Dois anos após o sismo, três entidades internacionais - a *Organização Pan-americana de Saúde*, os *Centros para o Controlo e Prevenção de Doenças* e a *UNICEF* - apelaram a que a construção de infra-estruturas higiénico-sanitárias e para o fornecimento de água fosse tida como prioridade pelos governos do Haiti e da República Dominicana, assim como pela comunidade internacional, ao invés de medidas a curto termo, com o objectivo de evitar que a cólera se tornasse endémica nestes países (19). Um exemplo do sucesso da implementação desta estratégia foi o investimento realizado aquando da epidemia de cólera que deflagrou na América Central e do Sul na década de 1990, e que afectou mais de vinte países em dois anos, que contribuiu notavelmente para a eliminação virtual da cólera nestas regiões (17).

A expressão “*cholera forcing*” refere-se ao papel impulsionador que as epidemias de cólera poderão ter na implementação de melhorias a nível de saúde pública, ao chamar a atenção para deficiências em sistemas e serviços básicos que necessitam de ser corrigidos. No México, em 2008, a epidemia de cólera coincidiu com um esforço governamental para melhorar o acesso à água, que resultou num controlo eficaz desta doença. Também a chegada da cólera à Europa e à América do Norte, no século XIX, é tida como responsável, pelo menos em parte, pelo desenvolvimento de sistemas de saneamento público e, em termos mais latos, pela revolução sanitária nestes continentes. No entanto, estudos acerca das origens das infra-estruturas sanitárias, em particular acerca das redes de abastecimento de água, apontam para uma ténue correlação com preocupações de saúde pública. As necessidades de ordem industrial e económica prevaleceram na aquisição de sistemas urbanos de distribuição de água, por exemplo, em algumas cidades alemãs, entre 1873 e 1883, assim como na Inglaterra do pós-Segunda Guerra Mundial. O estímulo da cólera para o desenvolvimento de infra-estruturas deverá ser complementado por outros factores, como estabilidade económica, política, administrativa e “expertise” (20).

Os custos implicados na criação de infra-estruturas de saneamento poderão ser assustadores. No entanto, este deverá ser um investimento encarado a longo-termo, que tenha em consideração o benefício alcançado pela redução do número de epidemias de cólera e dos custos que estas inevitavelmente acarretam. Análises de custo-eficácia serão úteis na justificação destes empreendimentos dispendiosos e deverão ter em conta tanto os benefícios directos, a nível da redução da incidência de cólera e de outras doenças diarreicas de transmissão fecal-oral e da mortalidade a elas inerentes, como outros benefícios de carácter político e social (15).

3.4. Vacinas

3.4.1. Patogénese da infecção por *Vibrio cholerae*

O desenvolvimento de vacinas eficazes para prevenção e controlo da cólera terá de ter por base uma compreensão aprofundada dos mecanismos fisiopatológicos inerentes a esta infecção, com o objectivo de seleccionar os alvos mais adequados para essa intervenção.

A infecção por *Vibrio cholerae* desenvolve-se através da colonização da superfície epitelial do intestino delgado. Os factores de virulência que medeiam esse processo foram identificados e caracterizados através da utilização de modelos animais. *V. cholerae* utiliza factores de adesão, alguns dos quais foram já elucidados: O1 LPS, *GlcNAc-binding protein* (GbpA), uma proteína (tcpF) secretada pelo aparelho de biogénese do *toxin-coregulated pilus* (TCP), a proteína da membrana externa OmpU e a toxina da cólera (TC). O TCP facilita as interacções interbacterianas, auxiliando a colonização. Uma vacina efectiva contra a cólera poderia prevenir a colonização, ao induzir a produção de anticorpos que neutralizassem directamente a função dos factores-chave de colonização e/ou facilitassem a fagocitose e morte das bactérias através de opsonização. Por outro lado, a acção da TC apresenta-se como responsável pela diarreia secretora profusa que caracteriza clinicamente a cólera (21). Esta toxina é constituída por duas subunidades diferentes: a subunidade B liga a bactéria à superfície da célula epitelial, estimulando a resposta imunitária, sem ter qualquer efeito tóxico, enquanto a subunidade A, por sua vez, quando libertada, estimula uma cascata bioquímica celular que conduz a uma secreção aumentada de água e electrólitos, com consequente diarreia secretora (22).

3.4.2. Marcadores de imunidade

Após infecção natural por *V. cholerae*, o sistema imune inato é activado, sendo de grande interesse a identificação de marcadores de imunidade que possam ser correlacionados com a protecção contra subsequentes infecções sintomáticas por cólera. O marcador melhor estudado é o título de anticorpos vibriocidas, que apresenta uma correlação positiva com a protecção contra a cólera (21). Este é considerado um marcador de protecção, uma vez que detecta a presença, no sangue periférico, de anticorpos anti-*V. cholerae* que se ligam ao complemento. No entanto, não existe um título de anticorpo vibriocida que esteja inequivocamente associado a uma protecção contra a cólera (23).

A resposta vibriocida é, em larga medida, dirigida contra o LPS, tendo sido demonstrado que as respostas IgA (respostas imunológicas iniciadas pela secreção destas imunoglobulinas pela mucosa intestinal, aquando da infecção por *V. cholerae*) contra LPS, assim como as respostas IgA contra a subunidade B da TC, também se correlacionam com protecção contra a cólera (23). De facto, as IgA secretadas pela mucosa intestinal, mais resistentes à degradação por enzimas proteolíticas, são mais provavelmente responsáveis pela protecção contra a colonização pelo patógeno da cólera do que as IgG (21). Assim, as vacinas orais, apresentadas adiante, têm como objectivo a indução da produção de anticorpos protectores produzidos localmente no intestino, que não serão detectados em testes para anticorpos séricos; é possível, em consequência, que alguns indivíduos desenvolvam imunidade intestinal, não reflectida por um título elevado de anticorpos vibriocidas séricos, o que conduzirá a uma subvalorização do seu nível de imunidade (24).

3.4.3. Vacinas injectáveis

A primeira vacina efectivamente utilizada contra a cólera foi, provavelmente, a vacina desenvolvida por Jaime Ferrán, em 1884, que terá controlado, aparentemente, uma epidemia em Espanha e que foi, mais tarde, na década de 1920, produzida no Instituto *Pasteur*.

No entanto, a utilização mais difundida de vacinas contra a cólera teve início na década de 1960. Nessa altura, foram realizados ensaios clínicos de grande dimensão no então Paquistão Oriental (actual Bangladesh), na Índia e nas Filipinas, utilizando vacinas injectáveis que consistiam em células de *V. cholerae* O1, mortas através de formol, fenol ou calor, em preparações monovalentes ou bivalentes, isto é, com um ou ambos os serotipos Inaba e Ogawa.

As vacinas parenterais cresceram em popularidade até aos anos 70. Desde então, foram caindo em desuso, devido à demonstração da sua eficácia limitada, da sua protecção de curta duração, assim como devido às evidências de que causariam efeitos adversos com uma frequência considerável (25).

Num ensaio clínico, levado a cabo entre 1963 e 1964 no então Paquistão Ocidental, testou-se uma vacina bivalente, com ambos os serotipos Ogawa e Inaba, tendo-se observado a indução de níveis séricos elevados de anticorpo vibriocida e atingido uma eficácia protectora de 76% nos primeiros seis meses após imunização e protecção ainda significativa até aos 18 meses em adultos, mas não em crianças. O mesmo estudo demonstrou, no entanto, diversas reacções adversas, principalmente febre, dor e edema no local da injeção (21).

Apesar destas falhas, historicamente atribuídas às vacinas administradas por esta via, uma revisão recente, de 2010, por *Graves, P. et al.*, obteve resultados bem menos

negativos (25). Este estudo concluiu que as vacinas injectáveis seriam, no geral, seguras, bem toleradas e relativamente eficazes, apresentando uma eficácia combinada de 57% no primeiro ano e de 47% no segundo ano, atingindo este nível de eficácia após uma única injeção ou um esquema curto de duas injeções; a eficácia seria equivalente nas crianças com idades inferiores a 5 anos e após os 5 anos, durante o primeiro ano, persistindo até 3 anos apenas nas crianças mais velhas e adultos. No entanto, pela superioridade das vacinas orais, adiante explanada, estas vacinas já não estão disponíveis, não sendo, portanto, recomendado o seu uso.

Actualmente, a investigação está centrada no desenvolvimento de vacinas administradas por via oral, que apresentam vantagens consideráveis, adiante descritas, relativamente às injectáveis (25).

As vacinas injectáveis poderiam ainda ser uma opção a considerar para a prevenção da cólera em crianças a ser amamentadas, em alternativa à vacinação oral, que se pode revelar ineficaz, devido aos anticorpos maternos presentes no leite (21).

3.4.4. Vacinas orais

A atenção voltou-se das vacinas parentéricas para as vacinas orais, após o reconhecimento de que a protecção imunitária contra a cólera resultaria primariamente de anticorpos secretados localmente na mucosa intestinal (anticorpos IgA) e, conseqüentemente, de que a administração oral de antigénios seria um método eficiente para desencadear esta resposta imune (22). Além dessa mais-valia, as vacinas administradas por via oral apresentam uma série de vantagens, quando comparadas com as vacinas injectáveis, como sejam: a mais fácil administração, que não exige agulhas esterilizadas ou pessoal qualificado, uma vantagem importante em países de baixos

recursos, que reduz também a transmissão de doenças transmissíveis por via sanguínea; a sua logística simples, compatível com a realização de campanhas de vacinação em massa; a aceitação é superior, tanto por crianças como por adultos (24).

As vacinas administradas por via oral representam, pois, actualmente, o foco do desenvolvimento de estratégias de vacinação contra a cólera. Apenas três vacinas, administradas por via oral, foram aprovadas pela OMS, estando disponíveis no mercado: Dukoral®, Shanchol® e mORCVAX®. São vacinas mortas; a Dukoral® contém também a subunidade B da TC como adjuvante. A descoberta de que esta subunidade poderia induzir uma resposta imune, sem a toxicidade induzida pela TC completa (que inclui a subunidade A), foi um avanço importante (21). Outras vacinas orais contra a cólera continuam em desenvolvimento, não estando ainda disponíveis, como é o caso das vacinas vivas atenuadas. Algumas representam soluções promissoras, sendo também referidas adiante, como a CVD 103-HgR (Orochol® ou Mutacol®), Peru-15 e a *V. cholerae* 638.

3.4.4.1. Vacinas mortas

Dukoral® (WC-rSB)

Foi desenvolvida na Suécia, tendo sido a primeira vacina licenciada internacionalmente, em 1991. Actualmente está licenciada em mais de 60 países, incluindo Portugal (26). Foi também já usada, em situações críticas, na Indonésia, Sudão e Uganda, assim como num projecto de demonstração, numa área endémica em Moçambique.

Esta vacina consiste numa mistura de vibriões mortos (WC, do inglês, *whole-*

cell), de ambos os biótipos (*El Tor* e clássico) e dos serotipos Inaba e Ogawa do *V. cholerae* O1, associada à subunidade B recombinante da toxina da cólera (rBS, do inglês, *recombinant B subunit*). Esta subunidade foi inicialmente produzida por métodos químicos (BS), sendo actualmente produzida através de tecnologia recombinante (rBS). BS e rBS são praticamente idênticas, em termos de resposta imune. A vacina exige a administração concomitante de um tampão de bicarbonato, de forma a evitar a destruição da subunidade B da toxina pelo ácido gástrico. Deve ser conservada a 2-8°C, tendo uma durabilidade, nestas condições, de 3 anos; a 37°C permanece estável durante 1 mês.

A vacina está aprovada para indivíduos com idade igual ou superior a 2 anos. Para adultos e crianças com idade igual ou superior a 6 anos, é necessária a administração de duas doses, com um intervalo entre elas igual ou superior a 7 dias (mas inferior a 6 semanas), sendo recomendadas três doses para crianças entre os 2 e os 5 anos de idade (5,22).

O seu bom perfil de segurança foi demonstrado em vários estudos realizados antes e após a sua comercialização (5,27), inclusivamente quando utilizada em grávidas e em doentes imunocomprometidos. Os raros efeitos adversos, sobretudo dor ou desconforto abdominal ligeiros e diarreia, foram atribuídos principalmente à solução tampão.

A sua imunogenicidade e eficácia foram avaliadas em diversos ensaios clínicos; as conclusões de alguns deles apresentam-se em seguida.

O estudo realizado em Matlab, no Bangladesh, na década de 1980, demonstrou uma eficácia combinada de protecção, contra ambos os biótipos, de 85% (intervalo de confiança [IC] de 95%, 56-95%), 4 a 6 meses após a imunização, em vacinados com idade igual ou superior a 2 anos, caindo para 62% (IC de 95%, 46-74%) ao fim de um

ano e para 58% (IC de 95%, 40-71%) e 18% (IC de 95%, 40-60%) no segundo e no terceiro anos de seguimento, respectivamente. Nas crianças com menos de 6 anos de idade, a protecção foi de 100% (IC de 95%, 80-100%) nos primeiros 4 a 6 meses, decrescendo depois rapidamente, atingindo 0% após o segundo ano (22).

No Peru, durante as epidemias de cólera que aí deflagraram nos anos 90, foram conduzidos diversos estudos, semelhantes ao anteriormente descrito, em militares voluntários, que confirmaram uma elevada eficácia (86%) contra o *El Tor*, 4 a 5 meses após a vacinação (22). No entanto, não se poderá extrapolar estes resultados para além da protecção a curto-termo, sendo necessária, de igual forma, a demonstração de eficácia clínica para idades inferiores a 5 anos (27).

Entre 2003 e 2004, foram desenvolvidos estudos de eficácia na cidade de Beira, em Moçambique, uma área de alta prevalência da infecção por VIH e onde a cólera é endémica, que demonstraram uma protecção de 84%, para todos os vacinados com idade igual ou superior a 2 anos, e de 82%, para idades inferiores a 5 anos (5,22).

Um ensaio clínico recente, levado a cabo durante uma campanha de vacinação a populações de alto risco em Zanzibar, na África ocidental, área afectada pela cólera desde 1978, registou uma protecção de 79% (IC 95%, 47-92%) após a administração de duas doses da vacina (28).

Além da eficácia comprovada contra a cólera, Dukoral® demonstrou, em vários estudos, alguma eficácia cruzada contra infecções pela *Eschechiria coli* enterotoxigénica (ETEC), devido à semelhança estrutural e funcional entre a subunidade B da TC e a toxina termolábil da ETEC, acrescentando outra vantagem à utilização desta vacina. O estudo em Matlab acima citado relatou uma protecção de 67% contra a infecção por ETEC (5).

Embora aprovada pela OMS, esta vacina tem sido utilizada maioritariamente

como vacina do viajante, sobretudo devido ao seu preço elevado (22,29).

Shanchol® e mORCVAX® (WC)

Com base nos resultados encorajadores obtidos com a Dukoral®, a tecnologia de produção da vacina foi transferida da Suécia para o Vietname na década de 1980, onde foi iniciada a produção da vacina de vibrião morto de *V. cholerae* O1, desprovido da subunidade B da TC. Ensaio clínicos demonstraram uma protecção de 66% dos vacinados, com idade igual ou superior a 1 ano, 8 a 10 meses após a vacinação, durante uma epidemia de cólera. A vacina foi subsequentemente elaborada como formulação bivalente, baseada nos serogrupos O1 e O139. Por não conter a subunidade B da TC, esta vacina não requer a administração de tampão bicarbonatado nem de água, o que facilita a sua utilização prática, baixando também o seu custo de produção. No entanto, perde a vantagem de protecção adicional contra a infecção por ETEC (29).

A ORCVAX® original foi aprovada no Vietname em 1997. Entre 1998 e 2009, mais de 200 milhões de doses desta vacina foram administradas a crianças de áreas de alto risco no Vietname, tendo sido a primeira vacina utilizada primariamente em populações endémicas (5). No entanto, esta vacina não era apropriada para uso internacional devido aos seus métodos de produção e porque a autoridade nacional de regularização do Vietname não estava aprovada pela OMS. Por esse motivo, os processos de produção e os constituintes da vacina foram reformulados de modo a satisfazer as exigências da OMS, no Instituto Internacional da Vacina da Coreia do Sul, e transferidos para a Índia (*Shantha Biothecnics Ltd*, Hyderabad, Índia), onde as vacinas passaram a ser produzidas (5,22). As alterações efectuadas incluíram a substituição de uma estirpe altamente produtora de toxina pelas duas estirpes de *V. cholerae* contidas na

vacina sueca original e a duplicação da quantidade de antígeno LPS. Após ensaios clínicos de fase II bem-sucedidos na Índia e Vietname, a vacina foi aprovada no Vietname como mORCVAX®, apenas para uso doméstico nesse país, e na Índia como Shanchol®, onde é produzida para os mercados indiano e internacional; esta última foi pré-qualificada pela OMS em Setembro de 2011, o que tornou possível a sua aquisição pelas agências das Nações Unidas e o alargamento da sua implementação em países de recursos limitados (29). A vacina tem uma durabilidade de 2 anos a 2-8°C. De acordo com o produtor, a Shanchol® deve ser administrada em duas doses líquidas, com um intervalo de 14 dias entre elas, estando aprovada para indivíduos com idade igual ou superior a 1 ano. É recomendada uma dose de reforço após 2 anos (5). Um estudo clínico aleatorizado e controlado efectuado na Índia observou que apenas uma dose de Shanchol® induzia respostas imunes vibriocidas, comparáveis ou superiores às aquelas registadas após duas doses da vacina(30).

A Shanchol® e a mORCVAX® são consideradas vacinas seguras (5). Dados sobre a segurança da vacina em 32 190 participantes que receberam a vacina bivalente Shanchol®, em 4 ensaios clínicos aleatorizados e controlados, não detectaram diferenças significativas, em termos de efeitos adversos, entre os grupos de vacinados e os grupos placebo. Os sintomas mais frequentemente relatados (dor abdominal, cefaleias, febre e náuseas) foram raros e, em geral, descritos como ligeiros (27).

Ensaio clínicos de fase III, com a administração de duas doses de Shanchol®, em Calcutá, na Índia, mostraram segurança e eficácia de 67%, em indivíduos de idade igual ou superior a um ano, ao fim de dois anos de seguimento (31), e níveis de protecção de 66% durante o terceiro ano após a vacinação (32). A protecção durante o terceiro ano foi claramente evidente para idades iguais ou superiores a 5 anos, tendo, no

entanto, demonstrado resultados inferiores nas crianças com idades entre 1 e 4 anos. Este estudo continuará a analisar os resultados acerca da duração da protecção dos indivíduos vacinados até aos 5 anos após a sua imunização (32).

Comparação entre WC e WC-rBS

As três vacinas já referidas demonstraram ser seguras e assegurar uma protecção superior a 50% durante, pelo menos, dois anos, em populações endémicas (5).

No entanto, algumas diferenças, relativas à durabilidade do efeito protector, serão de realçar. Os resultados dos estudos anteriormente apresentados denotam uma duração de protecção induzida pela Shanchol® superior àquela associada à Dukoral® (32). Relativamente à protecção efectiva a curto prazo, a Dukoral® demonstrou superioridade em resultados obtidos no Bangladesh, aos 4 a 6 meses após imunização. Outra vantagem, já citada, da Dukoral® é a protecção cruzada que ela oferece contra a infecção por ETEC (5).

Em termos de logística e manuseamento, ambas requerem uma cadeia de frio, o que dificulta e encarece a sua produção, transporte e armazenamento. No entanto, em comparação com a Dukoral®, a Shanchol® e a mORCVAX® exigem menor espaço de armazenamento e, como anteriormente referido, a omissão da subunidade B nestas vacinas reduz os seus custos de produção (5).

3.4.4.2. Vacinas vivas atenuadas

CVD 103-HgR (Orochol®; Mutacon®)

Esta foi a primeira vacina viva atenuada contra a cólera a ser aprovada, elaborada a partir da estirpe originalmente virulenta do *V. cholerae clássico* O1 Inaba 569B, através da deleção de 94% do gene da subunidade A da TC e da inserção de um gene de resistência ao mercúrio no gene da hemolisina A, utilizando técnicas de ADN recombinante (21). Foi estudada em vários ensaios clínicos de fase I e II, envolvendo mais de 7 000 indivíduos na Ásia, América Latina, África, Europa e América do Norte, nos quais se mostrou consistentemente segura e imunogénica. Estas características levaram à sua aprovação como vacina do viajante, em 1993. No entanto, devido aos seus fracos resultados em ensaios de fase III, nunca chegou a ser aprovada para utilização em contextos de endemicidade. A sua produção foi, entretanto, suspensa, embora a sua comercialização esteja a ser reconsiderada (22).

3.4.4.3. Vacinas em desenvolvimento

Actualmente, a investigação no campo das vacinas orais contra a cólera procura desenvolver uma vacina com a possibilidade de protecção eficaz e duradoura, se não definitiva, conseguida após administração de uma única dose. A vacina ideal será, ainda, passível de armazenamento por longos períodos de tempo à temperatura ambiente e terá baixo custo de produção, pelo menos semelhante ao das vacinas WC já aprovadas (33). Outra área importante de desenvolvimento no melhoramento das vacinas contra a cólera é a protecção mais eficaz das crianças (21). Algumas vacinas em desenvolvimento apresentam-se como candidatos promissores.

A vacina **Peru-15** foi desenvolvida por engenharia genética a partir de uma estirpe de *V. cholerae* O1 *El Tor* Inaba isolada no Peru em 1991. Um regime de apenas uma dose demonstrou ser seguro e imunogénico, tanto em populações endémicas (Bangladesh) como em populações não endémicas (voluntários dos EUA) (34).

V. cholerae 638 é uma estirpe atenuada de *V. cholerae* O1 *El Tor* Ogawa que está a ser desenvolvida em Cuba, tendo já completado ensaios clínicos de fases I e II, nos quais se demonstrou imunogénica e protectora em adultos cubanos.

V. cholerae IEM 101 é uma estirpe do *V. cholerae* O1 *El Tor* Ogawa da China, que naturalmente não possui o gene que codifica a TC e vários outros factores de virulência; demonstrou, em estudos humanos, ser imunogénica e sem efeitos adversos. Dois derivados desta estirpe – *IEM 108 e 109* – são igualmente candidatos promissores, embora não existam ainda conclusões acerca do seu uso em humanos.

A *VAI.3* é outra estirpe do *V. cholerae* O1, da Índia, alterada por recombinação genética para produzir a subunidade B da TC, sendo naturalmente deficiente no gene da TC; revelou-se segura e imunogénica em adultos em Calcutá.

CVD 112 e Bengal 15 são dois candidatos recombinantes vivos atenuados a partir do *V. cholerae* O139, que conferiram cerca de 80% de protecção nos indivíduos vacinados quando infectados por estirpes selvagens de O139 (22).

3.4.5. Novas abordagens

Em 1967, Chatterjee *et al.* observaram a libertação de vesículas pela membrana externa do *V. cholerae* (VME). Estas VME poderão ser utilizadas como sistema de libertação mucosa de vacina materna, ao induzirem a produção de anticorpos secretados no leite materno, que protegem passivamente os recém-nascidos contra a infecção,

através da amamentação. O estudo mais robusto demonstrou eficácia desta imunização por via intra-nasal, embora as vias oral e intra-peritoneal também se tenham revelado imunogénicas e protectoras (35,36).

Outros sistemas de libertação oral de antigénios, que pretendem ultrapassar a eventual tolerância induzida pela administração de antigénios por via oral, incluem lipossomas sintéticos e células fantasma (bactérias das quais o citoplasma foi removido por uma toxina de bacteriófago formadora de poros) (21).

Com o objectivo de obter uma vacina oral que possibilite uma libertação controlada das bactérias, para atingir títulos vibriocidas elevados e prolongados, com baixos custos de produção, estão em desenvolvimento variadas técnicas, das quais a microencapsulação por secagem com *spray* de *V. cholerae* inactivado já demonstrou alguma capacidade de aplicação (37). O bioencapsulamento de antigénios vacinais em células de origem vegetal poderá constituir outra solução, enquanto sistema de libertação com baixo custo de produção, conferindo ainda uma dupla protecção, por via sistémica e mucosa. Uma protecção duradoura e eficaz contra a toxina da cólera e o *Plasmodium* (parasita responsável pela malária) foi observada em ratinhos imunizados com antigénios derivados de cloroplastos (38).

As vacinas combinadas, que permitam a expressão de antigénios heterólogos de outros patógenos de relevo, na vacina contra a cólera, poderão conferir protecção contra mais do que uma doença com uma única vacina, nomeadamente através de sistemas de libertação de antigénios acima referidos. Células fantasma de *V. cholerae*, transportando antigénios de *Chlamydia trachomatis*, administrados por via intramuscular, poderão vir a ser aplicados numa vacina combinada; a eficácia deste método foi já testada em ratinhos (39). Outros ensaios utilizaram estirpes vivas atenuadas de *V. cholerae*, que foram recombinadas para expressar antigénios heterólogos de microrganismos como

Shigella dysenteriae tipo 1 e *Clostridium difficile* (21).

3.4.6. Factores que influenciam a efectividade das vacinas

3.4.6.1. Endemicidade

À semelhança de outras vacinas orais, como a vacina Sabin® contra a poliomielite, também algumas vacinas contra a cólera demonstraram uma menor resposta imune e menor eficácia em países de baixa renda, comparativamente com países de alta renda, nomeadamente a vacina viva atenuada CDV 103-HgR e a vacina WC-rBS. Este fenómeno foi observado em todos os grupos etários, desde as crianças aos adultos. Através da análise de diversos estudos sobre a imunogenicidade da CVD 103-HgR, foram identificados uma série de factores que modularam a resposta de anticorpos vibriocidas, com importância nos países de baixos recursos, nomeadamente aqueles em que a cólera se manifesta na sua forma endémica (24).

O primeiro factor foi a exposição prévia ao *V. cholerae* O1, com consequentes títulos basais elevados de anticorpos vibriocidas (24). Num estudo desenvolvido no Bangladesh, já anteriormente referido, adultos com títulos elevados de anticorpos (iguais ou superiores a 80) não responderam, após vacinação com anticorpos vibriocidas específicos para O1. Cerca de 86% destes adultos não exibiram seroconversão (40). Em zonas em que a cólera é endémica, estes títulos aumentam com a idade, provavelmente reflectindo a exposição prévia ao vibrião (23).

Outros factores identificados foram: o nível socioeconómico (as populações

sujeitas a piores condições sociais e económicas demonstraram menores títulos de anticorpos); infecção por VIH (os títulos de anticorpos em indivíduos infectados por VIH foram substancialmente inferiores àqueles dos indivíduos não infectados por VIH); a infecção grave por helmintas intestinais, nomeadamente por *Ascaris lumbricóides*, que foi associada a resposta vibriocida diminuída; e a proliferação bacteriana excessiva no intestino delgado (PBEID), que frequentemente acompanha a enteropatia associada a exposição contínua a condições ambientais de contaminação fecal, em contexto de pobreza. De facto, o intestino das crianças que vivem em pobreza em países de baixa renda reflecte esta situação, apresentando um conjunto de alterações histopatológicas e funcionais inespecíficas, que caracterizam a chamada síndrome de “enteropatia ambiental”. A PBEID poderá bloquear a resposta imune à CVD 103-HgR, pela produção de cadeias curtas de ácidos gordos, como ácido butírico e ácido propiónico, ou outras pequenas moléculas, que poderão inibir directamente a vacina. O efeito da PBEID pode ser, ainda, indirecto, através da alteração da arquitectura intestinal e do aumento do número de plasmócitos e linfócitos na mucosa, podendo a vacina ser destruída por um sistema imune inato excessivamente activado.

Outro factor foi o grupo sanguíneo O (um factor de risco reconhecido para o desenvolvimento de *cholera gravis*), que levou a respostas séricas vibriocidas mais acentuadas, especialmente em indivíduos imunologicamente *naive* (sem exposição prévia ao *V. cholerae* O1).

Os factores previamente enunciados poder-se-ão aplicar a todas as faixas etárias. Contudo, existem factores adicionais associados às crianças, nos primeiros meses de vida, que também influenciam a imunogenicidade e eficácia das vacinas orais. Neste grupo etário, é provável que exista algum nível de imunidade conferido pelos anticorpos IgG do soro materno, transferidos *in utero* por via placentar, assim como pela IgA

secretora materna, células imunes e factores protectores não específicos (como lactoferrina) contidos no leite materno (24).

3.4.6.2. Imunidade de grupo

Foi demonstrado que a imunização de apenas uma fracção da população permite que os membros não vacinados dessa população beneficiem da redução do risco de doença, fenómeno que se denomina de imunidade de grupo (33). Esta situação resulta da capacidade de a imunização reduzir a transmissão pessoa-a-pessoa, conferindo protecção aos não vacinados, assim como aumentando a protecção dos vacinados que residem em áreas de população vacinada (41). De facto, modelos matemáticos baseados na análise de dados obtidos de ensaios clínicos com vacinas mortas no Bangladesh (tanto WC-rBS como WC) previram que a vacinação de apenas aproximadamente 50% da população, numa área de cólera endémica, reduziria a incidência da doença em cerca de 93%, na população global. No entanto, essa possível imunidade de grupo terá de ser explorada em outros contextos, uma vez que ela poderá ser afectada pela epidemiologia local de transmissão (5). Dois estudos recentes, um utilizando uma vacina morta bivalente nos bairros de lata de Calcutá, na Índia (42), e outro um estudo observacional de coorte acerca dos resultados de uma campanha de vacinação em massa, desenvolvido em Zanzibar (28), confirmaram a ocorrência deste fenómeno de protecção indirecta pela vacinação contra a cólera.

Diversos factores espaciais e comportamentais alteram as taxas de contacto entre indivíduos infectados e susceptíveis, situação que tem implicações importantes na escolha e sucesso de estratégias de vacinação e na avaliação de campanhas de vacinação. Deste modo, a rede de contactos de uma pessoa é um importante

determinante da transmissão da doença, assim como o nível de vacinação dentro dessa rede. Com a finalidade de incluir estas variáveis na avaliação da eficácia das vacinas, ao contrário daquilo que acontece nos métodos tradicionais de ensaios clínicos com vacinas, uma série de novos métodos tem vindo a ser desenvolvida. É o caso dos *Ecological vaccine trials*, que integram informação geográfica na análise da eficácia das vacinas em subpopulações específicas; baseiam-se na premissa de que os indivíduos terão maior probabilidade de interagir com outros que estejam próximos, em termos espaciais, do que com aqueles que estejam mais longe. A *epidemiologia de redes de contacto* e a *análise de redes sociais* representam outros métodos novos para caracterizar os padrões de interações entre indivíduos que podem influenciar a transmissão de uma doença infecciosa; assumem que indivíduos socialmente ligados através de relações de parentesco, de amizade ou no trabalho interagirão mais frequentemente do que aqueles que não o estão (43).

3.4.6.3. Estratégias adjuvantes

Têm vindo a ser desenvolvidas novas estratégias para potenciar o efeito da vacinação, aumentando a sua eficácia de protecção, nomeadamente através da administração de suplementos como zinco e probióticos. Este esforço será de particular interesse no caso das crianças dos países de baixo rendimento, que apresentam uma imunogenicidade reduzida em resposta às vacinas orais. Um ensaio clínico desenvolvido através da administração da vacina Dukoral® a crianças até aos 18 meses de idade, no Bangladesh, obteve um aumento da magnitude da resposta pelos anticorpos vibriocidas, pela administração de 20 mg de zinco por dia, durante 42 dias (79%, em comparação com as respostas de 57%, na ausência deste suplemento). Ainda no mesmo

estudo, a interrupção temporária da amamentação, durante 3 horas antes da imunização, conseguiu desencadear respostas de anticorpos vibriocidas igualmente superiores, relativamente aos casos em que a amamentação foi mantida (77%, em comparação com 57%, na ausência de interrupção) (44). Por outro lado, ensaios clínicos desenvolvidos para avaliar o papel dos probióticos neste contexto não foram ainda conclusivos na demonstração da sua eficácia (45,46).

3.4.7. Estudos de custo-efectividade

Foram efectuadas diversas análises de custo-efectividade, tanto em situações endémicas como em populações de refugiados. No entanto, muitos desses estudos não contabilizaram os custos de distribuição das vacinas, enquanto outros não reconheceram a redução das despesas no tratamento como resultado do efeito de imunidade de grupo (5). Outra vantagem das vacinas contra a cólera, a ter em conta, é a redução da necessidade de utilização de antibióticos, com consequente aumento da relação custo-eficácia que lhes é atribuída (47).

Um dos mais recentes e abrangentes estudos deste tipo utilizou os resultados de ensaios clínicos realizados em 4 locais (Matlab, Bangladesh; Calcutá, Índia; Jacarta), Indonésia; Beira, Moçambique) para avaliar o custo-efectividade da vacinação com Shanchol®, tendo tido em consideração os efeitos da imunidade de grupo. Sem incluir estes efeitos, a utilização da vacina demonstrou-se custo-efectiva apenas nos programas desenvolvidos em Calcutá e Beira, em crianças entre os 5 e os 14 anos. Por outro lado, incluindo a protecção indirecta conferida pela imunidade de grupo, todos os programas nos 4 países se demonstraram custo-efectivos e, ainda, muito custo-efectivos em Calcutá e Beira. A custo-efectividade foi definida como o custo/esperança de vida

corrigida pela incapacidade, sendo inferior a 3 vezes o produto interno bruto *per capita* (48).

Verifica-se, ainda, uma escassez de análises que avaliem o impacto sinérgico da vacinação quando associada a intervenções tradicionais de saúde pública, como a educação das populações e a melhoria das condições da água de consumo e das condições higiénico-sanitárias (5). Esta abordagem complementar será discutida adiante.

3.4.8. Estratégias de vacinação

No que diz respeito à implementação do uso de vacinas orais contra a cólera, será importante estabelecer a distinção entre cólera endémica e cólera epidémica, já que a estratégia de vacinação adoptada será determinada de forma importante pelo contexto em que a cólera se manifesta, numa dada área (41).

A cólera epidémica ocorre de forma imprevisível, num cenário de pouca ou nenhuma imunidade natural à infecção, em populações em risco, estando frequentemente associada a emergências humanitárias e tendendo a afectar todos os grupos etários por igual. Por outro lado, a cólera endémica ocorre de forma recorrente, num padrão previsível no espaço e no tempo, conferindo imunidade natural contra a cólera às populações afectadas. Neste último caso, dado o facto de os adultos estarem dotados de níveis superiores de imunidade relativamente às crianças, as crianças são afectadas com maiores taxas de incidência e maior gravidade clínica (49).

As estratégias de vacinação num e noutro contexto serão, conseqüentemente, distintas. Enquanto no controlo da cólera em áreas endémicas fará sentido, em termos epidemiológicos, a implementação de imunização de forma regular e periódica, esta não

seria uma estratégia racional para a cólera epidémica, que beneficiará quer de uma vacinação selectiva, preferencialmente dirigida a populações de alto risco de epidemia, quer de uma administração reactiva, imediatamente após o início do surto.

Dadas as diferenças acima referidas, em termos de imunidade basal da população, poder-se-á concluir que as vacinas para a cólera epidémica terão de ser eficazes em indivíduos imunologicamente *naïve* e em todos os grupos etários, enquanto aquelas dirigidas a populações de cólera endémica deverão funcionar em situações de imunidade natural adquirida, podendo ser dirigidas sobretudo a crianças e adolescentes.

As próprias características desejáveis de durabilidade e início do efeito de protecção das vacinas serão diferentes. Em situações de cólera epidémica, será de grande importância um início rápido de protecção após a primeira dose de vacina, ao passo que, na cólera endémica, a duração da protecção a longo-termo será uma característica mais crítica para o sucesso da vacinação (41).

Até 2002, altura em que a OMS mencionou, pela primeira vez, o uso potencial de vacinas orais contra a cólera em situações endémicas e epidémicas, estas vacinas estavam recomendadas apenas para viajantes para países endémicos em cólera, mas não para utilização em saúde pública nesses países. Contudo, mesmo então, a vacinação ficou longe de ser adoptada para o controlo universal da cólera; ao invés disso, os peritos da OMS recomendaram a aquisição de mais experiência através de projectos de demonstração. Desde então, diversas vacinações em massa foram conduzidas, demonstrando a sua viabilidade e eficácia nas condições de saúde pública actuais (33).

Em 2010, a OMS recomendou a implementação das vacinas orais já aprovadas (anteriormente apresentadas), em conjunto com outras estratégias de controlo e prevenção, em áreas de cólera endémica, podendo ser considerado também o seu uso em áreas em risco de surtos de cólera. É salientada a importância de se assegurar que a

vacinação não interrompa a provisão de outras intervenções de saúde de alto grau de prioridade, como a melhoria das condições higiénico-sanitárias (5).

3.4.8.1. Controlo da cólera endémica

Em países de cólera endémica, a vacinação de toda a população dificilmente poderá ser garantida. Desse modo, a vacinação deverá ser direccionada para as áreas e grupos populacionais de alto risco. Os objectivos primários da vacinação contra a cólera em muitos países endémicos são as crianças em idade escolar e pré-escolar. Outros grupos especialmente vulneráveis a doença grave, e para os quais as vacinas não estejam contra-indicadas, como mulheres grávidas e indivíduos infectados por VIH, poderão também ser alvos preferenciais. Se os fundos disponíveis forem suficientes, os países poderão considerar, ainda, vacinar grupos etários de maior idade.

As campanhas periódicas de vacinação em massa são provavelmente a opção mais prática de distribuição das vacinas, nomeadamente utilizando escolas, instalações de cuidados de saúde, instituições religiosas e outras estruturas comunitárias, como locais para a sua realização. A incorporação da vacinação contra a cólera em calendários vacinais de rotina poderá ser uma estratégia alternativa ou complementar à vacinação em massa, nomeadamente para vacinar crianças pequenas entre campanhas (5).

Estudos de demonstração provaram a viabilidade do uso de vacinas orais contra a cólera em contextos de endemicidade, no Vietname e em Moçambique (22).

Utilizando um modelo estocástico de transmissão de cólera em grande escala, em Matlab, no Bangladesh, foi estimado que a cólera endémica poderia ser reduzida para uma incidência igual ou inferior a um caso por cada 1 000 pessoas numa população endémica, com uma vacinação bianual, se a cobertura da população alcançada for entre

50 e 70%, dependendo do nível de imunidade prévia da população (50).

3.4.8.2. Controlo de surtos de cólera

A linha de conduta principal a ser aplicada durante surtos de cólera inclui, como previamente referido, o tratamento apropriado dos doentes, a implementação de intervenções para melhorar a qualidade da água e do saneamento e a mobilização e educação das populações. Além dessas medidas, a vacinação deverá ser considerada como estratégia adjuvante.

A **vacinação por antecipação** deverá ser considerada pelas autoridades de saúde locais, no auxílio à prevenção de potenciais surtos ou da disseminação para novas áreas dos surtos em curso. A OMS recomenda ainda que a elaboração de ferramentas preditivas do risco de um surto seja completada e testada em campo o mais brevemente possível, possibilitando aos países determinar as situações em que esta vacinação deverá ser implementada de forma urgente (5).

Em caso de limitação do fornecimento de vacinas, como é frequente, a intervenção mais eficaz será concentrar os recursos disponíveis para atingir uma cobertura de 50 a 70% da população nas áreas de maior risco de cólera, como é o caso daquelas junto a rios e outros cursos de água. Sendo difícil a identificação das populações imunologicamente *naïve* em maior risco, as decisões deverão ser baseadas nos factores de risco reconhecidos em regiões onde a cólera é endémica (51).

Outro estudo, que analisou de forma detalhada o uso de vacinas orais mortas, num esquema de duas doses, para o controlo de surtos de cólera em campos de refugiados, preconiza uma vacinação por antecipação em detrimento de uma vacinação

reactiva, devido ao tempo necessário para desencadear uma imunidade protectora neste tipo de regimes – pelo menos 7 dias, após a segunda dose (29).

A vacinação por antecipação demonstrou ser viável em campos de refugiados de alto risco no norte do Uganda e em Darfur, no Sudão (41).

A **vacinação reactiva**, por sua vez, foi pela primeira vez recomendada pela OMS em Outubro de 2009 (52), enquanto estratégia a ser equacionada como medida de controlo adicional de surtos, dependendo das infra-estruturas locais e após uma investigação adequada da situação local actual e histórica e identificação clara das áreas geográficas a serem alvo da campanha. Esta medida foi aceite na sequência da emergência de surtos de grande dimensão e prolongados no tempo, particularmente na África subsariana. A OMS recomendou ainda a documentação e disseminação dos resultados sobre a viabilidade e o impacto das campanhas de vacinação em curso nos surtos actuais de cólera (5).

Uma análise recente, com base nos dados existentes de surtos de cólera, simulou o número de casos de cólera que seriam eventualmente prevenidos por uma vacinação reactiva em massa da população. Foi concluído que esta estratégia seria especialmente eficaz no caso de surtos de cólera prolongados e de grande dimensão, mais prováveis em populações não endémicas, como foi o caso do surto de cólera que deflagrou no Zimbabué entre 2008 e 2009, no qual 40% dos casos de cólera e 40% das mortes por cólera teriam sido evitados se uma resposta rápida tivesse sido instituída após a identificação dos primeiros 400 casos. Em surtos de menor duração, em locais endémicos, como Calcutá e Zanzibar, o impacto de uma vacinação em massa seria menor, embora uma actuação imediata pudesse também prevenir um número substancial de casos (53). Experiências de vacinação em massa na Micronésia e no Vietname mostraram a viabilidade deste tipo de abordagem no controlo de surtos de

cólera (29,54).

Tanto a vacinação por antecipação como a reactiva deverão cobrir o máximo número possível de indivíduos elegíveis para receber a vacina e ser conduzidas o mais rapidamente possível (5).

3.4.9. Obstáculos e soluções

3.4.9.1. A escassez de recursos e a importância da colaboração internacional

Apesar da existência de vacinas produzidas a baixo custo, nomeadamente a Shanchol®, produzida na Índia para ser comercializada a nível internacional, continua a haver uma escassez de recursos necessários para fazer face ao aparecimento de eventuais epidemias de cólera, assim como uma reduzida acessibilidade aos recursos existentes.

Um exemplo desta problemática é o caso do Paquistão, um país com milhões de sem-abrigo, escassez de recursos higiénico-sanitários, em que as doenças de transmissão a partir de águas contaminadas, nomeadamente a cólera, são uma das maiores ameaças, especialmente nas regiões afectadas pelas cheias sazonais. As dificuldades que se colocam, nesta situação, à implementação de um plano de vacinação contra a cólera são variadas: o sistema de saúde já sobrecarregado, incapaz de assegurar uma vacinação a tão grande escala; decisões éticas acerca de como aplicar as vacinas doadas, em quantidades insuficientes para cobrir toda a população em alto risco; a competição pela doação de fundos da vacina contra a cólera com diversas outras vacinas (contra o rotavírus e pneumococos, por exemplo) (55).

Com o objectivo de criar condições para garantir uma adequada vacinação às populações afectadas, no caso de um eventual surto de cólera, diversos autores sugerem e reiteram a necessidade da criação de uma “reserva global” de vacinas orais contra a cólera, passível de mobilização e de rápida utilização nessas situações (41,51,56). Uma forte colaboração internacional será fulcral para atingir este fim, nomeadamente por parte dos países mais favorecidos (56,57). O custo da criação da dita “reserva global” seria relativamente baixo para países como os Estados Unidos da América, que poderiam, além de salvar anualmente milhares de vidas nos países com baixos rendimentos, alcançar benefícios diplomáticos, promovendo a paz e a estabilidade internacionais (56). O custo das vacinas poderá, ainda, ser reduzido através da compra de grandes quantidades, encomendas antecipadas, aquisição conjunta e de outras estratégias baseadas no mercado (58).

No entanto, mesmo que os recursos sejam suficientes, outros obstáculos dificultam a colocação em prática das campanhas de vacinação, tal como aconteceu no caso do surto de cólera no Haiti. Só 18 meses após os primeiros casos terem sido documentados foi iniciada a distribuição das vacinas orais contra a cólera. O atraso ficou a dever-se a diversas questões levantadas: o receio de que a distribuição de um número limitado de doses disponíveis não fosse equitativa e pudesse gerar inquietude social, num ano de eleições; o receio de que a capacidade logística (nomeadamente pela necessidade de armazenamento em condições de refrigeração) fosse insuficiente para implementar o programa de forma eficiente; o receio de que o uso da vacina pudesse reduzir as outras práticas preventivas, como as medidas de higiene e o consumo de água potável; o receio de que o projecto interferisse com outras vacinações infantis, como a da poliomielite; e incertezas acerca da utilização da vacina em condições epidémicas, uma vez que esta teria sido estudada em regiões endémicas (59).

3.4.9.2. Aspectos culturais e comportamentais na aceitação da vacinação

O sucesso das campanhas de vacinação nos países de baixa renda requer a disseminação de informação, o diálogo e a discussão com os líderes de determinada comunidade, assim como o encorajamento da participação de cada um dos seus elementos. Apesar desses esforços, nem todos poderão desejar participar numa campanha de vacinação ou ensaio clínico (60).

Programas de vacinação desenvolvidos em países de baixos rendimentos têm registado uma cobertura reduzida da população ou foram mesmo interrompidos devido à sua implementação na ausência de conhecimento acerca da realidade sociocultural local. De facto, para assegurar o sucesso de campanhas de vacinação, não basta que a vacina em causa seja eficaz e custo-efectiva; será igualmente relevante ter em consideração as ideias, crenças, receios e comportamentos relativamente à doença infecciosa e à vacina, vigentes na comunidade em que se pretende intervir. Vários estudos recentes (nomeadamente relacionados com a shigellose e a febre tifóide) demonstraram a importância do contexto social e cultural, que deverá ser cuidadosamente estudado, de modo a melhorar a cobertura populacional pela vacina (28).

Um estudo acerca da participação da comunidade em dois ensaios clínicos de vacinação contra a febre tifóide e a cólera em zonas desfavorecidas de Calcutá, na Índia, concluíram que esta fora influenciada por diversos factores, quer a nível individual, quer comunitário. A nível individual, foi identificada uma maior participação de jovens, mulheres e indivíduos de famílias com menor nível educacional. A nível comunitário, as populações predominantemente hindus (em oposição às muçulmanas) e com inferior *status* social (aferido pela presença de indivíduo com posse de mota no agregado

familiar) apresentaram maior taxa de participação (60).

Outro estudo, desenvolvido na província de Katanga, na República Democrática do Congo, avaliou as percepções locais relativamente à cólera, nomeadamente quanto às suas causas, meios de transmissão e à provável aceitação de uma vacina oral contra a cólera, eventualmente distribuída à população. Foi obtida uma aceitação antecipada de 97%, no caso de a vacina vir a ser fornecida gratuitamente, o que representa uma boa motivação por parte da população no geral, tendo-se igualmente identificado grupos socialmente mais isolados que poderão vir a necessitar de uma particular atenção aquando da campanha de vacinação, como o caso de pescadores (61).

Um estudo acerca dos factores socioeconómicos e comportamentais com influência na aceitação das vacinas orais contra a cólera, num contexto endémico, em Zanzibar, foi recentemente desenhado neste sentido, com vista a estabelecer recomendações a implementar, pelo Ministério da Saúde desse país, como parte de uma estratégia sustentada a longo-termo para a prevenção da cólera (28).

3.4.10. Vacinação do viajante

Na prevenção da cólera no viajante para áreas endémicas ou com epidemias activas de cólera, aplicam-se as mesmas medidas de prevenção preconizadas para a prevenção da diarreia do viajante, no que diz respeito a cuidados de higiene e segurança alimentar e da água de consumo. Nestes casos, a OMS não recomenda quimioprofilaxia preventiva e a vacinação não está generalizada, podendo justificar-se apenas em determinadas situações. A vacinação contra a cólera não é, actualmente, requisito oficial de entrada em nenhum país.

A vacina Dukoral® está actualmente aprovada como vacina do viajante, também

em Portugal, podendo ser considerada nas seguintes situações:

- viajantes de longa duração para países onde a cólera é endémica, especialmente aqueles em visita a familiares ou amigos;
- trabalhadores humanitários em locais de epidemia ou campos de refugiados;
- viajantes em visita a áreas endémicas que tenham acloridria (em maior risco de desenvolver uma forma grave da doença) ou condições que possam ser agravadas pela cólera, como doença inflamatória intestinal e malabsorção, infecção por VIH ou imunodepressão devida a outras causas, *diabetes mellitus* complicada ou mal controlada e doença cardiovascular grave.

Esta vacina oral contra a cólera pode ainda ser considerada para a prevenção da diarreia provocada pela infecção por ETEC, para a qual Dukoral® demonstrou uma protecção cruzada parcial (atrás discutida), no caso de indivíduos com maior risco de diarreia grave ou complicada. Viajantes de curta duração que não possam correr o risco de ficar doentes, tais como viajantes em negócios e atletas, podem beneficiar desta protecção parcial, embora as estratégias preventivas primeiramente referidas continuem a desempenhar um papel de primordial importância (62).

4. Quimioprofilaxia

A quimioprofilaxia diz respeito à administração de fármacos para prevenir uma doença ou infecção. No caso da cólera, trata-se da administração de antibióticos a indivíduos saudáveis, com o objectivo de os proteger contra a doença, limitando a disseminação da doença e actuando no controlo de uma epidemia.

A OMS não recomenda a quimioprofilaxia contra a cólera, fundamentando que o tratamento por rotina de uma comunidade com antibióticos ou a quimioprofilaxia em massa não têm qualquer efeito na disseminação da doença, podem ter efeitos adversos, ao aumentar a resistência antimicrobiana, e conduzem a uma falsa sensação de segurança. A quimioprofilaxia é igualmente limitada pela falta de acesso, pelos seus custos e contra-indicações.

No entanto, a profilaxia antibiótica selectiva em grande escala foi já fornecida aos contactos dos indivíduos com cólera, no decorrer de surtos, como parte de intervenções comunitárias abrangentes. Alguns peritos afirmam que uma quimioprofilaxia utilizando antibióticos selectivos e bem dirigidos pode reduzir a transmissão directa da cólera entre humanos.

Uma revisão sistemática recente verificou um benefício provável de acções de quimioprofilaxia em contactos de doentes, no auxílio ao controlo da disseminação da doença, embora este estudo tenha estado associado a diversas limitações, apresentando um elevado risco de viés, pelo que estudos com adequado tamanho de amostra e duração do seguimento serão necessários para a obtenção de resultados mais significativos (63).

5. Comparação de diferentes estratégias de controlo e de prevenção

As agências internacionais, doadores internacionais que asseguram fundos e decisores políticos dos diversos países utilizam, frequentemente, os resultados de análises de custo-efectividade, como aquelas atrás referenciadas, para fundamentar a

implementação de programas de vacinação. No entanto, estes dados não alcançaram sucesso em persuadir alguns decisores políticos de países de baixa renda acerca dos benefícios económicos deste tipo de campanhas, que pretendem avaliar em que medida os programas de vacinação podem ser comparados com os efeitos dos investimentos públicos em outros sectores, nomeadamente na água e saneamento.

Neste sentido, foi recentemente conduzido um estudo que comparou o custo-benefício de investimentos nos sistemas de fornecimento de água e de programas de vacinação contra a cólera. Foram consideradas cinco combinações de quatro intervenções diferentes: duas intervenções a nível do melhoramento do fornecimento de água (construção de poços profundos com bombas manuais públicas e filtros de areia [*biosand filters*]) e dois tipos de programas de vacinação (um dirigido a toda a comunidade e outro a crianças em idade escolar). Os resultados demonstraram que os dois primeiros são, na maior parte das situações, mais economicamente atractivos relativamente aos programas de vacinação, devido a outras vantagens, além da prevenção e controlo da cólera, que lhes estão inerentes (benefícios estéticos, de economia de tempo e prevenção de outras doenças infecciosas, além da cólera). Por outro lado, os programas de vacinação demonstraram superioridade económica em contextos de elevada incidência de cólera e de baixo custo por indivíduo vacinado. A protecção indirecta é, também, um factor relevante que aumenta a efectividade destas estratégias e contribui para a complexidade da avaliação do seu custo-benefício. Os programas de vacinação têm a vantagem de ser menos dispendiosos do que as intervenções no desenvolvimento dos sistemas de fornecimento de água, por agregado familiar; a sua aplicação pode ser preferível nos casos de grandes limitações em termos de fundos disponíveis, permitindo que estes beneficiem, de forma mais equitativa, um maior número de indivíduos. Outras condicionantes de ordem prática e logística, como

a limitação de espaço físico para a instalação de sistemas, nomeadamente nos bairros de lata densamente povoados de cidades africanas e do sul asiático, poderão apoiar, igualmente, a aplicação das estratégias de vacinação (64).

6. Importância de uma abordagem integrada, complementar e abrangente

Apesar da utilidade potencial deste tipo de análises na escolha e implementação de medidas para o controlo e prevenção da cólera, em determinados contextos, sobretudo nas habituais situações de escassez de fundos e recursos, é importante realçar que os decisores políticos, nesta acção, deverão evitar uma falsa escolha dicotómica entre o uso de programas de vacinação ou de intervenções de outro tipo no controlo da cólera. A combinação de estratégias de vacinação com a melhoria das condições higiénico-sanitárias e de segurança da água de consumo terá, muito provavelmente, um impacto protector sinérgico e uma relação custo-efectividade aumentada (41).

Além dos programas de vacinação e da melhoria dos sistemas de saneamento e do fornecimento de água potável, ambas estratégias centrais na prevenção e controlo da cólera, o combate à cólera deverá consistir numa resposta coordenada e abrangente, que as associe a uma rápida e eficaz detecção e tratamento dos casos identificados, assim como a um esforço de intervenção a nível da educação das populações. É necessária, pois, uma abordagem completa em todos estes campos, que associe a prevenção ao tratamento (29).

A análise matemática de um modelo de cólera avaliou o impacto das diferentes estratégias de controlo, tendo inferido o papel complementar das mesmas intervenções:

enquanto a detecção e o tratamento precoce dos casos de cólera, associados a uma eficaz educação da população, representam as melhores medidas de controlo num surto de cólera, a vacinação mostra-se mais eficaz no período de abrandamento da epidemia; quando se tecem considerações a longo termo, o melhoramento dos sistemas de saneamento e de fornecimento de água apresentam-se como intervenções de maior impacto (65).

7. Vigilância

Além de todas as medidas já referidas, uma vigilância epidemiológica contínua é essencial para o controlo eficaz da cólera. Os locais e períodos de persistência e ressurgência da cólera devem ser determinados e devem ser tidos em conta factores climáticos e socio-antropológicos. Isto permitirá, em situações de emergência, desenvolver uma resposta de forma focalizada e direccionada (66).

A OMS recomenda que sejam desenvolvidos esforços no sentido de melhorar o diagnóstico, a colheita, compilação e análise de dados, de modo a que as populações mais vulneráveis, em áreas de maior risco, possam ser identificadas e, assim, beneficiar atempada e adequadamente de actividades de controlo da epidemia. A utilização dos critérios recomendados pela OMS para o diagnóstico clínico de cólera (anteriormente referidos no ponto 2.5.) poderá permitir uma estimativa mais precisa da incidência e do impacto da doença. A vigilância da cólera deverá fazer parte de um sistema integrado de notificação de doença, que inclua um retorno da informação a nível local e uma partilha de informação a nível global (6).

Um bom sistema de vigilância de rotina fornece informações de base para prever

e ajudar na confirmação epidemiológica de surtos, quando se descobre um conjunto de casos ou quando há um aumento súbito do número de casos ou de mortes por uma síndrome de diarreia aguda. A análise regular de dados de referência (pessoa, lugar, tempo) é, por conseguinte, valiosa para uma preparação adequada e de uma monitorização eficaz da situação de cólera (67).

A capacidade de prever surtos de cólera iminentes e de identificar grupos populacionais vulneráveis permite aumentar, em larga medida, os benefícios obtidos pelas estratégias de intervenção preventivas desenvolvidas, possibilitando que estas sejam colocadas no terreno de forma precoce, em tempo útil. É aquilo a que se pode chamar “prevenção auxiliada pela previsão” (ou, em inglês, *prediction-aided prevention*). Além de uma vigilância eficiente, outras metodologias poderão auxiliar neste propósito, tais como a monitorização por satélite dos ecossistemas costeiros e terrestres que sejam reservatórios de *V. cholerae* e sistemas de aviso baseados em alterações climáticas (68). Um estudo recente sugeriu que os movimentos populacionais durante desastres e surtos, responsáveis por importantes variações na mortalidade e morbidade, poderão ser estimados de forma rápida e válida através da identificação posicional de portadores de cartões SIM, em áreas de grande utilização de telemóveis (69).

No Uganda, em 2000, foi adoptada uma estratégia de *Integrated Disease Surveillance and Response*, com o objectivo de criar uma abordagem coordenada para a colecção, análise, interpretação, uso e disseminação de dados de vigilância para orientar as decisões de saúde pública nesse país. Entre 2001 e 2007, registou-se uma diminuição da taxa de letalidade da cólera de 7 para 2%, maioritariamente devido à melhoria da resposta aos surtos (70).

8. Conclusão

O aumento da incidência e do número de mortes por cólera nos últimos anos espelha o impacto mundial que esta doença representa, ainda, na actualidade, tanto a nível social como económico, assim como a urgência da implementação de medidas eficazes para fazer frente a esta situação. A patogenia e via de transmissão de *V. cholerae* tornam especialmente susceptíveis à infecção as populações que vivem em condições higiénico-sanitárias precárias, nomeadamente aquelas de países de baixa renda. Este deverá ser, pois, o alvo primordial das acções desenvolvidas para a prevenção e o controlo da cólera, através da melhoria das condições de vida das populações, com o fornecimento de água potável e o tratamento adequado dos dejectos humanos. As vacinas disponíveis, criteriosamente aplicadas, são uma arma importante no combate aos surtos e no controlo da endemia. Espera-se que a investigação em curso nesta área possa levar ao desenvolvimento de vacinas com melhor perfil de segurança e efectividade.

As diferentes estratégias apresentadas deverão ser encaradas mais como medidas complementares entre si do que como medidas isoladas, avaliadas de modo separado. A existência de um sistema de vigilância eficaz, que forneça dados epidemiológicos precisos e fiáveis, é igualmente essencial a uma actuação dirigida e efectiva. Por outro lado, é vital o desenvolvimento adequado e atempado de uma resposta integrada aos surtos de cólera, nomeadamente no que diz respeito a uma identificação e tratamento precoces dos casos de cólera e a uma gestão e distribuição adequadas dos recursos materiais e humanos disponíveis.

No entanto, apesar da existência de meios de tratamento (solução de reidratação

oral, antibióticos) e de prevenção (vacinas, medidas higiénico-sanitárias) eficazes, diversas são as dificuldades que se colocam à implementação dessas medidas, em várias vertentes, nomeadamente de ordem social, ético, político, cultural, logístico e económico. A questão da escassez de recursos económico-financeiros afigura-se como um dos principais desafios, cuja resolução passará muito provavelmente por uma alargada colaboração de várias nações, nomeadamente a nível da criação de uma “reserva global” de vacinas e da consignação de fundos para investimentos a longo prazo, tais como o desenvolvimento de infra-estruturas de saneamento público e de abastecimento de água potável às populações mais ameaçadas pela cólera, nas regiões mais desfavorecidas do planeta.

Em conclusão final, poder-se-á reiterar a urgência de desenvolver esforços no sentido de identificar, compreender e ultrapassar os obstáculos que se colocam no combate à cólera, nomeadamente através de uma abordagem abrangente, coordenada e realista, que envolva diferentes estratégias de prevenção e controlo sinérgicas entre si, assim como uma activa cooperação internacional na procura das soluções mais desejáveis e exequíveis para pôr fim a este flagelo mundial.

9. Agradecimentos

Ao Dr. Joaquim Oliveira e ao Dr. Nuno Marques, pela disponibilidade, atenção, compreensão e profissionalismo, ao longo de todo o processo de elaboração do trabalho.

Aos meus pais e irmã, por todo o suporte, preocupação e incentivo, absolutamente fulcrais para o meu sucesso em todos os passos deste percurso académico.

Ao Paulo, pelo apoio, paciência e encorajamento constantes.

À Ana e à Beatriz, por toda a amizade e conselho, que tornaram esta jornada em comum mais simples nas dificuldades e mais saborosa nas conquistas.

Ao *Coro Misto da Universidade de Coimbra*, por todos os ensinamentos acerca do mundo, determinantes na minha formação enquanto pessoa, e que não vêm nos livros.

10. Referências bibliográficas

1. Harris JB, LaRocque RC, Qadri F, Ryan ET, Calderwood SB. Cholera. *Lancet*. 2012; 379 (9835):2466–76.
2. Ryan ET. The cholera pandemic, still with us after half a century: time to rethink. *PLoS Negl Trop Dis*. 2011; 5(1):e1003.
3. Morris JG. Cholera--modern pandemic disease of ancient lineage. *Emerg Infect Dis*. 2011; 17(11):2099-104.
4. Charles RC, Ryan ET. Cholera in the 21st century. *Curr Opin Infect Dis*. 2011; 24(5):472–7.
5. World Health Organization (WHO). Cholera vaccines: WHO position paper-Recommendations. *Vaccine*. 2010; 28(30):4687–8.
6. Cholera annual report 2011. *Wkly Epidemiol Rec*. 2012; 87:289–304.
7. Mintz ED, Guerrant RL. A lion in our village--the unconscionable tragedy of cholera in Africa. *N Engl J Med*. 2009; 360(11):1060–3.
8. Ali M, Lopez AL, You YA, et al. The global burden of cholera. *Bull World Health Organ*. 2012; 90(3):209–218A.
9. Harris JB, Larocque RC, Charles RC, Mazumder RN, Khan AI, Bardhan PK. Cholera's western front. *Lancet*. 2010; 376(9757):1961–5.

10. Outbreak news. Cholera, Sierra Leone. *Wkly Epidemiol Rec.* 2012; 87(36):337–8.
11. Farmer P, Almazor CP, Bahnsen ET, et al. Meeting cholera's challenge to Haiti and the world: a joint statement on cholera prevention and care. *PLoS Negl Trop Dis.* 2011; 5(5):e1145.
12. Chambers K. Zimbabwe's battle against cholera. *Lancet.* 2009;373(9668):993–4.
13. Shultz A, Omollo JO, Burke H, et al. Cholera outbreak in Kenyan refugee camp: risk factors for illness and importance of sanitation. *Am J Trop Med Hyg.* 2009; 80(4):640–5.
14. Mahamud AS, Ahmed JA, Nyoka R, et al. Epidemic cholera in Kakuma Refugee Camp, Kenya, 2009: the importance of sanitation and soap. *J Infect Dev Ctries.* 2012;6(3):234–41.
15. Waldman RJ, Mintz ED, Papowitz HE. The Cure for Cholera - Improving Access to Safe Water and Sanitation. *N Engl J Med.* 2013; 368(7):592-4.
16. Nelson E. Beyond cholera-the Zimbabwe health crisis. *Lancet Infect Dis.* 2009; 9(10):587–8.
17. Periago MR, Frieden TR, Tappero JW, De Cock KM, Aasen B, Andrus JK. Elimination of cholera transmission in Haiti and the Dominican Republic. *Lancet.* 2012; 379(9812):e12–3.
18. Webster PC. Lack of clean water exacerbates cholera outbreak in Haiti. *CMAJ.* 2011; 183(2):E83–4.

19. Gulland A. Building hygiene infrastructure is key to ending Haitian cholera epidemic, agree agencies. *BMJ*. 2012 ; 344:e395.
20. Hamlin C. “Cholera forcing”. The myth of the good epidemic and the coming of good water. *Am J Public Health*. 2009; 99(11):1946–54.
21. Bishop AL, Camilli A. *Vibrio cholerae*: lessons for mucosal vaccine design. *Expert Rev Vaccines*. 2011; 10(1):79–94.
22. Shin S, Desai SN, Sah BK, Clemens JD. Oral vaccines against cholera. *Clin Infect Dis*. 2011; 52(11):1343–9.
23. Leung DT, Rahman MA, Mohasin M, et al. Comparison of memory B cell, antibody-secreting cell, and plasma antibody responses in young children, older children, and adults with infection caused by *Vibrio cholerae* O1 El Tor Ogawa in Bangladesh. *Clin Vaccine Immunol*. 2011; 18(8):1317–25.
24. Levine MM. Immunogenicity and efficacy of oral vaccines in developing countries: lessons from a live cholera vaccine. *BMC Biol*. 2010; 8:129.
25. Graves PM, Deeks JJ, Demicheli V, Jefferson T. Vaccines for preventing cholera: killed whole cell or other subunit vaccines (injected). *Cochrane Database Syst Rev (Online)*. 2010;(8):CD000974.
26. Infarmed; disponível em www.infarmed.pt, acessado em 15/01/2013.
27. Sinclair D, Abba K, Zaman K, Qadri F, Graves PM. Oral vaccines for preventing cholera. *Cochrane Database Syst Rev (Online)*. 2011; (3):CD008603.

28. Khatib AM, Ali M, Von Seidlein L, et al. Effectiveness of an oral cholera vaccine in Zanzibar: findings from a mass vaccination campaign and observational cohort study. *Lancet Infect Dis.* 2012; 12(11):837–44.
29. Desai SN, Clemens JD. An overview of cholera vaccines and their public health implications. *Curr Opin Pediatr.* 2012; 24(1):85–91.
30. Kanungo S, Paisley A, Lopez AL, et al. Immune responses following one and two doses of the reformulated, bivalent, killed, whole-cell, oral cholera vaccine among adults and children in Kolkata, India: a randomized, placebo-controlled trial. *Vaccine.* 2009; 27(49):6887–93.
31. Sur D, Lopez AL, Kanungo S, et al. Efficacy and safety of a modified killed-whole-cell oral cholera vaccine in India: an interim analysis of a cluster-randomised, double-blind, placebo-controlled trial. *Lancet.* 2009; 374(9702):1694–702.
32. Sur D, Kanungo S, Sah B, et al. Efficacy of a low-cost, inactivated whole-cell oral cholera vaccine: results from 3 years of follow-up of a randomized, controlled trial. *PLoS Negl Trop Dis.* 2011; 5(10):e1289.
33. Von Seidlein L. Vaccines for cholera control: does herd immunity play a role. *PLoS Med.* 2007; 4(11):e331.
34. Chowdhury MI, Sheikh A, Qadri F. Development of Peru-15 (CholeraGarde), a live-attenuated oral cholera vaccine: 1991-2009. *Expert Rev Vaccines.* 2009; 8(12):1643–52.

35. Schild S, Nelson EJ, Bishop AL, Camilli A. Characterization of *Vibrio cholerae* outer membrane vesicles as a candidate vaccine for cholera. *Infect Immun.* 2009;77(1):472–84.
36. Bishop AL, Tarique AA, Patimalla B, Calderwood SB, Qadri F, Camilli A. Immunization of mice with *vibrio cholerae* outer-membrane vesicles protects against hyperinfectious challenge and blocks transmission. *J Infect Dis.* 2012; 205(3):412–21.
37. Año G, Esquisabel A, Pastor M, et al. A new oral vaccine candidate based on the microencapsulation by spray-drying of inactivated *Vibrio cholerae*. *Vaccine.* 2011; 29(34):5758–64.
38. Davoodi-Semiromi A, Schreiber M, Nalapalli S, et al. Chloroplast-derived vaccine antigens confer dual immunity against cholera and malaria by oral or injectable delivery. *Plant Biotechnol J.* 2010; 8(2):223–42.
39. Eko FO, Okenu DN, Singh UP, He Q, Black C, Igietseme JU. Evaluation of a broadly protective *Chlamydia*-cholera combination vaccine candidate. *Vaccine.* 2011; 29(21):3802–10.
40. Saha A, Chowdhury MI, Khanam F, et al. Safety and immunogenicity study of a killed bivalent (O1 and O139) whole-cell oral cholera vaccine Shanchol, in Bangladeshi adults and children as young as 1 year of age. *Vaccine.* 2011; 29(46):8285–92.

41. Clemens J, Holmgren J. Urgent need of cholera vaccines in public health-control programs. *Future Microbiol.* 2009; 4(4):381–5.
42. Ali M, Sur D, You YA, et al. Herd Protection by a Bivalent Killed Whole-Cell Oral Cholera Vaccine in the Slums of Kolkata, India. *Clin Infect Dis* [Internet]. 2013; Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23362293>
43. Root ED, Giebultowicz S, Ali M, Yunus M, Emch M. The role of vaccine coverage within social networks in cholera vaccine efficacy. *PloS One.* 2011; 6(7):e22971.
44. Ahmed T, Svennerholm A-M, Al Tarique A, Sultana GNN, Qadri F. Enhanced immunogenicity of an oral inactivated cholera vaccine in infants in Bangladesh obtained by zinc supplementation and by temporary withholding breast-feeding. *Vaccine.* 2009; 27(9):1433–9.
45. Matsuda F, Chowdhury MI, Saha A, et al. Evaluation of a probiotics, *Bifidobacterium breve* BBG-01, for enhancement of immunogenicity of an oral inactivated cholera vaccine and safety: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial in Bangladeshi children under 5 years of age. *Vaccine.* 2011; 29(10):1855–8.
46. Hajela N, Nair GB, Ganguly NK. Are probiotics a feasible intervention for prevention of diarrhoea in the developing world? *Gut Pathog.* 2010; 2(1):10.
47. Okeke IN. Cholera vaccine will reduce antibiotic use. *Science.* 2009; 325(5941):674.

48. Jeuland M, Cook J, Poulos C, Clemens J, Whittington D. Cost-effectiveness of new-generation oral cholera vaccines: a multisite analysis. *Value Health*. 2009; 12(6):899–908.
49. Clemens JD. Vaccines in the time of cholera. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2011; 108(21):8529–30.
50. Longini IM, Nizam A, Ali M, Yunus M, Shenvi N, Clemens JD. Controlling endemic cholera with oral vaccines. *PLoS Med*. 2007; 4(11):e336.
51. Chao DL, Halloran ME, Longini IM. Vaccination strategies for epidemic cholera in Haiti with implications for the developing world. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2011; 108(17):7081–5.
52. World Health Organization (WHO). Meeting of the Strategic Advisory Group of Experts on immunization, October 2009 - conclusions and recommendations. *Wkly Epidemiol Rec*. 2009; 84(50):517–32.
53. Reyburn R, Deen JL, Grais RF, et al. The case for reactive mass oral cholera vaccinations. *PLoS Negl Trop Dis*. 2011; 5(1):e952.
54. Anh DD, Lopez AL, Thiem VD, et al. Use of oral cholera vaccines in an outbreak in Vietnam: a case control study. *PLoS Negl Trop Dis*. 2011; 5(1):e1006.
55. Enserink M. Public health - No vaccines in the time of cholera. *Science*. 2010; 329(5998):1462–3.
56. Waldor MK, Hotez PJ, Clemens JD. A national cholera vaccine stockpile--a new

- humanitarian and diplomatic resource. *N Engl J Med*. 2010; 363(24):2279–82.
57. Bhattacharya S, Black R, Bourgeois L, et al. Public health. The cholera crisis in Africa. *Science*. 2009; 324(5929):885.
58. Frew SE, Liu VY, Singer PA. A business plan to help the “global South” in its fight against neglected diseases. *Health Aff (Millwood)*. 2009; 28(6):1760–73.
59. Ivers LC, Farmer PE, Pape WJ. Oral cholera vaccine and integrated cholera control in Haiti. *Lancet*. 2012; 379(9831):2026–8.
60. Ali M, Sur D, Lopez AL, et al. Community participation in two vaccination trials in slums of Kolkata, India: a multi-level analysis. *J Health Popul Nutr*. 2010; 28(5):450–7.
61. Merten S, Schaetti C, Manianga C, et al. Local perceptions of cholera and anticipated vaccine acceptance in Katanga province, democratic republic of Congo. *BMC Public Health*. 2013; 13(1):60.
62. Neilson AA, Mayer CA. Cholera - recommendations for prevention in travellers. *Aust Fam Physician*. 2010; 39(4):220–6.
63. Reveiz L, Chapman E, Ramon-Pardo P, et al. Chemoprophylaxis in contacts of patients with cholera: systematic review and meta-analysis. *PloS One*. 2011; 6(11):e27060.
64. Jeuland M, Whittington D. Cost-benefit comparisons of investments in improved water supply and cholera vaccination programs. *Vaccine*. 2009; 27(23):3109–20.

65. Mwasa A, Tchuente JM. Mathematical analysis of a cholera model with public health interventions. *Biosystems*. 2011; 105(3):190–200.
66. Bompangue D, Le Duc G, Vesenbeckh S, Blackwell N. Elimination of cholera transmission. *Lancet*. 2012; 379(9822):e46–7.
67. Global Task Force on Cholera Control, World Health Organization (WHO). Cholera outbreak: assessing the outbreak response and improving preparedness. 2004. Geneva, Switzerland. [Internet]; Disponível em: <http://www.who.int/cholera/publications/OutbreakAssessment/en/>. Acedido em 24 Nov 2012
68. Akanda AS, Jutla AS, Gute DM, Evans T, Islam S. Reinforcing cholera intervention through prediction-aided prevention. *Bull World Health Organ*. 2012 Mar; 90(3):243–4.
69. Bengtsson L, Lu X, Thorson A, Garfield R, Von Schreeb J. Improved response to disasters and outbreaks by tracking population movements with mobile phone network data: a post-earthquake geospatial study in Haiti. *PLoS Med*. 2011; 8(8):e1001083.
70. Lukwago L, Nanyunja M, Ndayimirije N, et al. The implementation of Integrated Disease Surveillance and Response in Uganda: a review of progress and challenges between 2001 and 2007. *Health Policy Plan*. 2013; 28(1):30–40.