



UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA

FACULDADE DE AGRONOMIA E MEDICINA VETERINÁRIA

**FREQUÊNCIA DE LESÕES HISTOPATOLÓGICAS EM
PRIMATAS DO GÊNERO *Alouatta* NATURALMENTE
INFECTADOS PELO VÍRUS DA FEBRE AMARELA
NO BRASIL - 1999 a 2009**

SILVANA GOMES LEAL

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO EM SAÚDE ANIMAL

BRASÍLIA-DF



UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
FACULDADE DE AGRONOMIA E MEDICINA VETERINÁRIA

**FREQUÊNCIA DE LESÕES HISTOPATOLÓGICAS EM
PRIMATAS DO GÊNERO *Alouatta* NATURALMENTE
INFECTADOS PELO VÍRUS DA FEBRE AMARELA
NO BRASIL - 1999 a 2009**

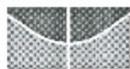
SILVANA GOMES LEAL

ORIENTADOR: PROF. DR. MÁRCIO BOTELHO DE CASTRO

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO EM SAÚDE ANIMAL

PUBLICAÇÃO: 060/12

**BRASÍLIA-DF
FEVEREIRO/2012**



UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA

FACULDADE DE AGRONOMIA E MEDICINA VETERINÁRIA

**FREQUÊNCIA DE LESÕES HISTOPATOLÓGICAS
EM PRIMATAS DO GÊNERO *Alouatta*
NATURALMENTE INFECTADOS PELO VÍRUS DA
FEBRE AMARELA NO BRASIL - 1999 a 2009**

SILVANA GOMES LEAL

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO
SUBMETIDA AO PROGRAMA DE PÓS-
GRADUAÇÃO EM SAÚDE ANIMAL,
COMO PARTE DOS REQUISITOS
NECESSÁRIOS À OBTENÇÃO DO GRAU
DE MESTRE EM SAÚDE ANIMAL

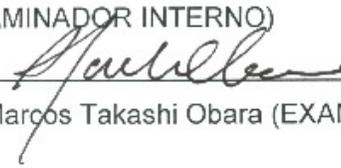
APROVADO POR:



Prof. Dr. Márcio Botelho de Castro - Universidade de Brasília (ORIENTADOR)



Prof. Dr. Rafael Veríssimo Monteiro - Universidade de Brasília
(EXAMINADOR INTERNO)



Dr. Marcos Takashi Obara (EXAMINADOR EXTERNO)

BRASÍLIA/DF, 13 de fevereiro de 2012

Universidade de Brasília, 2012, 66 p. Dissertação de Mestrado.

Documento formal, autorizando reprodução desta dissertação de mestrado empréstimo ou comercialização, exclusivamente para fins acadêmicos, foi passado pelo autor a Universidade de Brasília e acha-se arquivado na secretaria do programa. O autor reserva para si os outros direitos autorais, de publicação. Nenhuma parte desta dissertação pode ser reproduzida sem a autorização por escrito do autor. Citações são estimuladas, desde que citada a fonte.

FICHA CATALOGRÁFICA

Leal, Silvana Gomes

Freqüência de lesões histopatológicas em primatas do gênero *Alouatta* naturalmente infectados pelo vírus da Febre Amarela no Brasil – 1999 a 2009. / Silvana Gomes Leal orientação de Márcio Botelho de Castro – Brasília, 2012. 66 p.: il.

Dissertação de Mestrado (M) – Universidade de Brasília/Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, 2012.

1. Febre Amarela 2. *Alouatta*. 3. Histopatológica. 4. Fígado. 5. Apoptose I. LEAL, S. G. II. Título.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus e Nossa Senhora, pelas bênçãos concedidas na minha vida, até o dia de hoje;

Aos meus pais, que mesmo distantes, sempre me apoiaram em todos os momentos e diante de todas as minhas escolhas;

Ao meu orientador pela ajuda e apoio nos diversos momentos dessa caminhada e pelos conhecimentos repassados; e por abrir as portas do Laboratório de Patologia Veterinária da UnB;

Ao Professor Rafael Veríssimo, da UnB, pelos ensinamentos, pela disponibilidade e enorme paciência em me ajudar nos momentos que precisei;

À Secretaria de Saúde do Rio Grande do Sul, representada pelo CEVS, e em especial ao Marco Antônio B. de Almeida e a Flávia Almeida, estagiária do Centro Estadual de Vigilância em Saúde- CEVS, que me forneceram grande parte dos laudos que me auxiliou na elaboração do estudo;

À Vanessa Porto, da Coordenação Geral de Laboratórios de Saúde Pública-CGLAB, que também me auxiliou na obtenção de parte dos dados laboratoriais;

Aos meus colegas de trabalho (GT-Arboviroses) por todo o apoio e compreensão nas minhas ausências do ambiente de trabalho, por todo o incentivo dado, não me deixando desistir diante das dificuldades; um agradecimento especial a você, Alessandro Romano, que foi o maior incentivador desde o início. Não poderia deixar de agradecer à minha atual área de trabalho (UVZ) e principalmente ao meu companheiro de equipe, Luciano Eloy, que nesses últimos momentos de estresse me ajudou, entendendo minhas ausências e tentando resolver as demandas do trabalho sozinho, sem me tirar do foco que era o mestrado;

Aos meus amigos, que estiveram presentes durante esses dois anos e puderam contribuir para o meu sucesso; por entenderem minhas ausências nas “farras” em troca dos estudos; um agradecimento especial à Noely F. Moura, que acompanhou de perto todas as minhas angústias e me ajudou nas horas de estresse, nos momentos de choros, principalmente no final dessa etapa;

Aos meus amigos que, mesmo distantes fisicamente, sempre me apoiaram com palavras de carinho e incentivo, dando forças para enfrentar as dificuldades que surgiam;

Aos macacos, que com a sinalização das suas mortes podem salvar vidas humanas;

Finalmente, a todos que me acompanharam durante esses dois anos e puderam contribuir de alguma forma para o meu sucesso.

Muito obrigada!

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 - Frequência das principais lesões histopatológicas encontradas no fígado (n=99) de PNHS com FA no Brasil entre 2002 a 2009 (Brasília 2012)	43
TABELA 2 - Ocorrência das principais lesões microscópicas encontradas no rim (n=72) de PNHS com FA no Brasil entre 2002 a 2009 (Brasília 2012)	43
TABELA 3 - Principais lesões histopatológicas no baço (n=67) de PNHS com FA no Brasil entre 2002 a 2009 (Brasília 2012)	43
TABELA 4 - Lesões histopatológicas mais freqüentes no coração (n=70) de PNHS com FA no Brasil entre 2002 a 2009 (Brasília 2012)	44
TABELA 5 Principais lesões histopatológicas encontradas nos pulmões (n=62) de PNHS com FA no Brasil entre 2002 a 2009 (Brasília 2012)	44
TABELA 6 Frequência de associação das lesões mais comuns encontradas nos órgãos de PNHS com FA no Brasil entre 2002 a 2009 (Brasília 2012)	45

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 – Mapa da situação da Febre Amarela no mundo	8
FIGURA 2 - Mapas das áreas de risco para Febre Amarela no Brasil	13

SUMÁRIO

RESUMO.....	x
ABSTRACT	xi
CAPÍTULO I	1
INTRODUÇÃO	1
REFERENCIAL TEÓRICO.....	4
1) Febre Amarela.....	4
2) Distribuição geográfica e a epidemiologia da Febre Amarela	6
3) Histórico da Febre Amarela no Brasil	8
4) Febre Amarela nos primatas	14
5) Vigilância de epizootias em PNH.....	19
6) Febre Amarela em outros animais como modelos experimentais	20
7) Febre Amarela no homem.....	23
OBJETIVOS	27
REFERÊNCIAS.....	28
CAPÍTULO II	36
INTRODUÇÃO	36
MATERIAL E MÉTODO	39
RESULTADOS.....	41
DISCUSSÃO	46
CONCLUSÕES	52
REFERÊNCIAS.....	53
CAPÍTULO III	59
CONSIDERAÇÕES FINAIS	59
ANEXO.....	61

RESUMO

Os Primatas Não Humanos (PNH) atuam como importantes hospedeiros do vírus da Febre Amarela (FA) e suas mortes sugerem a possível circulação do vírus amarílico. Foi realizado um estudo descritivo, retrospectivo, no qual foram utilizadas informações de casos de FA em PNH com registros na vigilância eco-epidemiológica do Ministério da Saúde (MS), provenientes de epizootias ocorridas nos anos de 2002, 2007, 2008 e 2009. Dos 403 primatas positivos do gênero *Alouatta* foram selecionados 25% (n= 99), os quais possuíam descrições dos achados anatomopatológicos dos seus órgãos e tecidos e diagnóstico confirmado pela técnica de imuno-histoquímica de fragmentos hepáticos. Dos órgãos analisados, fígado, rim, baço, coração, pulmão e cérebro, os principais achados histopatológicos foram encontrados no fígado, afetando gravemente os hepatócitos. As principais lesões observadas neste órgão foram apoptose de hepatócitos, esteatose, necrose focal e hemorragia. A análise de correlação demonstrou que a apoptose foi frequentemente associada à esteatose em 45%, necrose focal em 40% e hemorragia em 37% dos casos. O coração, pulmão e o cérebro não apresentaram alterações histopatológicas relevantes. O rim e o baço mostraram certas alterações significativas. Os resultados indicam que o fígado é o órgão mais importante para o diagnóstico da FA em PNH. No Brasil o gênero *Alouatta* compreendeu o maior número de notificações positivas para FA. A doença nos primatas apresenta ainda aspectos pouco conhecidos, porém relevantes para a prevenção da enfermidade.

Palavras-chave: febre amarela; *Alouatta*; histopatológica; fígado; apoptose.

ABSTRACT

Non-human primates (NHP) act as important hosts of FMD virus and their deaths suggest the possible circulation of yellow fever virus. We conducted a descriptive study in which they used information from cases of AF in PNH with records in the eco-epidemiological surveillance of the Ministry of Health (MOH), from epizootic occurred in 2002, 2007, 2008 and 2009. 403 primates of the genus *Alouatta* were selected 25% (n = 99), which had descriptions of the pathological findings of its organs and tissues, and diagnosed confirmed by the technique of immunohistochemistry of liver fragments. Of the organs examined, liver, kidney, spleen, heart, lungs and brain, the main histopathological findings were found in liver, seriously affecting the hepatocytes. The main lesions observed in this organ were apoptosis of hepatocytes, steatosis, focal necrosis and hemorrhage. In the correlation analysis showed that apoptosis was often associated with steatosis in 45%, 40% focal necrosis and hemorrhage in 37% of cases. The heart and lungs showed no significant pathological changes. The results indicate that the liver is the most important organ for the diagnosis of AF in PNH. In Brazil, the genus *Alouatta* comprised the largest number of positive notifications for FA. The disease in primates also presents little-known aspects, but relevant to the prevention of disease.

Keywords: yellow fever, *Alouatta*, histopathology, liver, apoptosis.

CAPÍTULO I

INTRODUÇÃO

A Febre Amarela (FA) é uma doença infecciosa febril aguda, de origem viral, transmitida ao homem por meio da picada do mosquito infectado. Os vetores são mosquitos silvestres, principalmente dos gêneros *Haemagogus* *Haemagogus* Williston, 1896 – em especial o *Haemagogus Haemagogus Janthinomys* Dyar, 1921, no Brasil – e *Sabethes* Robineau- Desvoidy, 1827, que desempenham o papel de reservatórios para o vírus (HERVÉ, 1985). Essas espécies são fortemente primatófilas e também antropofílicas, têm atividade diurna, especialmente nas horas de maior luminosidade e mais quentes do dia, sendo mais abundantes nas copas das árvores, lugar preferencial dos macacos (HERVÉ, 1983). O agente etiológico é um arbovírus pertencente ao gênero *Flavivirus*, família Flaviviridae. O vírus da FA possui um genoma constituído de RNA de fita simples não segmentado, polaridade positiva, com cerca de 11 kilobases de comprimento, com 10.800 nucleotídeos que codificam 3.411 aminoácidos. O estudo do seu genoma é importante para estabelecer as diferenças genéticas entre as cepas isoladas. Estudos filogenéticos têm mostrado a existência de sete genótipos do vírus, sendo cinco na África e dois nas Américas (WANG et al., 1996; MUTEBI, 2001).

A FA é uma doença que representa uma importante causa de morbidade e letalidade em vastas zonas das regiões tropicais da África e das Américas (BRASIL, 2005), apesar de ser uma doença imunoprevenível. Apresenta dois ciclos epidemiológicos distintos: o ciclo silvestre e o ciclo urbano. Essas duas formas diferem entre si quanto à natureza dos transmissores e dos hospedeiros vertebrados e o local de ocorrência. Na Febre Amarela Urbana (FAU) o homem é o único hospedeiro com importância epidemiológica. Por outro lado, a Febre Amarela Silvestre (FAS) possui vários animais que podem atuar como hospedeiros para o vírus FA. Os PNH são, entretanto, os principais e mais sensíveis hospedeiros. A forma urbana foi eliminada na América no ano de 1954, mas ainda hoje ela ocorre na África (NOBRE et al., 1994; ROBERTSON, 1996). No Brasil a FAU não é registrada desde 1942. Tanto na África quanto na América, os hospedeiros silvestres

primários do vírus amarelo são os primatas não humanos. No continente africano, os macacos mostram-se mais resistentes ao vírus (BRÉS, 1986; COLIJAS, 1952).

Devido à necessidade de detecção precoce da circulação do vírus da FA, criou-se a vigilância de epizootias em PNH, como um dos componentes da vigilância da FA no Brasil, funciona como evento sentinela para a ocorrência da doença em humanos, dando oportunidade ao desencadeamento das ações de prevenção e controle. Epizootias em primatas podem indicar a circulação do vírus da FA e a vigilância de tais surtos em animais silvestres é uma ferramenta importante para ajudar a prevenir a infecção humana (ALMEIDA et al., 2011). A vigilância de epizootias é um dos componentes da vigilância epidemiológica da FA, juntamente com a vigilância entomológica e de casos humanos (BRASIL, 2005; BRASIL, 2009; BRASIL, 2011). Toda epizootia tem que ser investigada para definir o local provável de infecção a partir da história epidemiológica (ELKHOURY, 2010).

Na última década no Brasil, a FA tem apresentado mudanças nas suas características epidemiológicas, surgindo em áreas fora da região amazônica, ressaltando a característica da expansão das áreas de ocorrência da FA no país, além da região amazônica (ROMANO et al., 2011). Essa doença tanto em humanos como em PNH tem potencial de dispersão bastante elevado, por isso é importante que a notificação de casos suspeitos e de epizootias, seja realizada o mais brevemente possível. A FA compõe a lista de doenças de notificação compulsória (Portaria (SVS/MS) N° 104 de janeiro de 2011, classificada entre as doenças de notificação imediata). (BRASIL, 2011).

A notificação de casos suspeitos de FA deve ocorrer em até 24 horas após a suspeita, assim como a investigação epidemiológica que deve ocorrer no mesmo período. O instrumento de coleta de dados é a ficha de investigação epidemiológica disponível no Sistema de Informação de Agravos de Notificação- SINAN, que contém os elementos essenciais a serem coletados em uma investigação de rotina (BRASIL, 2005; BRASIL, 2009).

A educação em saúde constitui um mecanismo importante para a prevenção e controle da FA, a qual deve ser vista como uma necessidade da população de compreender a base científica do programa de vigilância e controle da FA, e mudar sua conduta em relação à prevenção. Vários pontos devem ser considerados na vigilância e controle dessa doença no Brasil. Além da prática disseminada da vacinação em áreas recomendadas, uma estratégia promissora é a avaliação das

coberturas vacinais, de modo a garanti-las altas e homogêneas por localidades municipais, como um instrumento de vigilância precoce do risco de transmissão da doença. Esta é uma recomendação que deve ser perseguida pelo trabalho conjunto das equipes de vigilância e imunização (COSTA et al., 2011).

Além das novas ferramentas que vem sendo desenvolvidas no intuito de melhorar a vigilância e a oportunidade de coleta de material diante das epizootias ocorridas em PNHs, há necessidade de buscar novos conhecimentos e estudos com os primatas no Brasil. Conhecer os achados histopatológicos mais comuns nos casos de FA, bem como de outras arboviroses que acometem esses animais é importante para o aperfeiçoamento do diagnóstico da doença nos serviços de saúde do país. A criação de um protocolo padrão de avaliação dessas lesões e a sua aplicação em laboratórios de diagnóstico veterinário de apoio à rede de vigilância poderia acelerar o processo de emissão dos resultados laboratoriais, contribuindo com um diagnóstico mais precoce da enfermidade, problema bastante comum nos serviços de saúde pública do país.

No Brasil não existem estudos detalhados em primatas acometidos naturalmente por FA. Os poucos trabalhos existentes são provenientes de estudos experimentais realizados em primatas do velho mundo (Rhesus) (STOKES et al., 1928; TIGERTT et al., 1960), camundongos (FRANCO, 1969; HUDSON, 1928) e hamsters (XIAO et al., 2001), ou como resultado de necropsias realizadas em humanos. Este levantamento baseou-se nos casos de infecções naturais ocorridas em primatas do Brasil. Pretende-se descrever de forma detalhada as lesões encontradas em PNHs do gênero *Alouatta* naturalmente infectados e assim, comparar o padrão e a gravidade dessas lesões com o que é citado em literatura.

REFERENCIAL TEÓRICO

1) Febre Amarela

A FA representou, no passado, um grande flagelo para a população brasileira, como um dos mais dramáticos problemas de saúde pública registrados no país. O Brasil investiu e alcançou um grande desenvolvimento técnico e científico que eliminou a transmissão urbana em nosso país em 1942 e influenciou a campanha de erradicação do *Aedes aegypti* Linnaeus, 1762 das Américas, em 1958 (COSTA et al., 2011).

Os arbovírus (arthropod – borne – vírus) são agentes transmitidos biologicamente por artrópodes (Insetos, Acarídeos) aos vertebrados. Estes vírus se multiplicam nos tecidos dos vertebrados e são encontrados no sangue durante a fase de viremia. Os artrópodos hematófagos (vetores) infectam-se quando eles se alimentam de um animal virêmico; após um período (ciclo extrínseco) é capaz de transmitir o vírus durante o repasto sanguíneo (DEGALLIER et al, 1987).

A doença ocorre sob duas modalidades epidemiológicas: Urbana e Silvestre. O ciclo urbano, simples, do tipo homem-mosquito-homem, onde o homem é o único hospedeiro de importância epidemiológica, sendo o *Aedes aegypti* o transmissor e disseminador do vírus. O ciclo silvestre, complexo, onde várias espécies de mosquitos são responsáveis pela transmissão, diferindo de acordo com o Continente. Há quem considere três padrões epidemiológicos: silvestre ou de mata, urbano e intermediário (HERVÉ, 1986).

O vírus da FA está permanentemente presente na população culicidiana vetora. Contudo, sem a penetração do vírus do exterior, a taxa de infecção desta população diminui em função do tempo. Além disso, a transmissão transovariana é insuficiente para assegurar a sobrevivência do vírus além da segunda geração. É então indispensável que a população de mosquitos se reinfecte com o vírus ao curso de um repasto sanguíneo sobre um macaco virêmico. Se a população sítia sensível está localmente insuficiente, a sobrevivência do vírus só poderá ser assegurada por seu deslocamento em direção a outras populações de macacos imunes. Esses vetores permanecem em contato estreito com os macacos: estas espécies se

encontram abundantemente na copa das árvores onde demonstram uma primatofilia elevada. O pico de agressividade desses mosquitos corresponde às horas mais quentes do dia, convenientes ao período de repouso dos macacos (HERVÉ, 1986).

O ciclo silvestre, descoberto em 1932, apresenta-se geralmente sob forma endêmica na Amazônia, região considerada como o grande reservatório do vírus (MONDET, 2001), onde as coberturas vacinais da população são elevadas devido à longa história de utilização da vacina desde 1937. Fora da Amazônia, onde tem ocorrido com frequência nos últimos anos, a doença se caracteriza por manifestar-se em forma de surtos, geralmente em áreas silenciosas há décadas ou extrapolando áreas consideradas de risco (COSTA, 2005). A descoberta do ciclo silvestre estimulou vários estudos para a melhor compreensão da epidemiologia da FA. Um dos aspectos que mais mereceu a atenção dos pesquisadores foi o papel representado pelos PNHs (macacos), enquanto hospedeiros primários do vírus amarílico (SOPER, 1942).

A FAS acomete principalmente certos grupos do sexo masculino, tais como lenhadores, garimpeiros, vaqueiros. Incide mais frequentemente em indivíduos com faixa etária entre 14 e 35 anos, não por serem mais vulneráveis, mas por maior exposição aos vetores infectados devido ao tipo de ocupação e atividades desenvolvidas em contato direto com a mata. Mais recentemente, com o aumento do ecoturismo, outras faixas etárias e indivíduos do sexo feminino têm sido acometidos com maior frequência entre adeptos desse tipo de lazer (BRASIL, 2005). Os índios constituem outro grupo importante a ser considerado (VASCONCELOS et al., 1997), embora os casos sejam pouco frequentes devido à política de vacinação adotada em anos recentes que têm garantido boas coberturas vacinais mesmo nas comunidades mais longínquas.

Nos últimos anos, áreas consideradas livres da virose, mostraram-se receptivas e capazes de permitir a circulação autóctone do vírus em áreas muito devastadas, por vezes apenas com matas ciliares. É possível que fatores ambientais, especialmente alterações climáticas, desempenhem um papel importante na manutenção e distribuição do vírus da FA na natureza. Já foram identificados indícios acerca do papel do clima na ocorrência de casos de FA no Brasil (VASCONCELOS et al., 2001). A impossibilidade de erradicação da FAS, por se tratar de uma zoonose de animais silvestres, acrescida da ampla dispersão do *Aedes aegypti* no Brasil após a descontinuidade do programa continental por sua

eliminação, torna presente a ameaça de sua re-emergência nos espaços urbanos (COSTA et al., 2011).

2) Distribuição geográfica e a epidemiologia da Febre Amarela

Nas Américas, o ciclo silvestre é distinto do africano. Os responsáveis pela transmissão são os mosquitos dos gêneros *Haemagogus* (*Hg. Janthinomys*, *Haemagogus Albomaculatus*, Theobald, 1903, etc.) e *Sabethes* (*Sabethes Sabethoides Chlropterus* Von Humboldt, 1819, *Sabethes (Pey.) soperi* Lane & Cerqueira 1942, etc.). O *Hg. Janthinomys* é o principal responsável pela transmissão da FA (MONDET et al., 1966; HERVÉ & TRAVASSOS DA ROSA, 1983). Este é um mosquito que apresenta a maior distribuição geográfica, mas que possui hábitos estritamente silvestres, ou seja, só pica o indivíduo quando este adentra na mata (floresta), portanto, quando alguém penetra em seu nicho ecológico. Esta espécie apresenta as condições ideais para transmitir o vírus amarílico, pois é extremamente suscetível ao vírus. Em infecções experimentais, se infecta com baixas doses infectantes; é primatófilo, ou seja, se alimenta preferencialmente em macacos e secundariamente no homem, e apresenta atividade diurna, período em que a maioria dos que adoecem da enfermidade realizam suas atividades nas matas. E mais, durante as epidemias frequentemente são encontrados infectados. Tais características explicam porque esta espécie é tão hábil em transmitir a virose, e torna este mosquito, o principal transmissor da FA no Brasil e em muitos países da América do Sul (VASCONCELOS et al., 1997).

Na África, os transmissores são mosquitos do gênero *Aedes aegypti* Linnaeus, 1762 e na América do Sul são mosquitos dos gêneros *Haemagogus* e *Sabethes* (STRODE, 1951), que vivem preferencialmente nas copas das árvores. Neste ciclo os macacos atuam como hospedeiros, amplificadores e disseminadores do vírus (HERVÉ et al., 1985; DEGALLIER et al., 1992; MONDET et al., 1996). A infecção do ser humano ocorre de forma acidental quando este entra em ambientes silvestres, não vacinado previamente. Na África, temos transmissão em diferentes níveis: transmissão silvestre, transmissão rural ou peri-urbana e transmissão urbana. A África é responsável por cerca de 90% de todos os casos notificados de FA à OMS. Em alguns países, ainda ocorre transmissão urbana. Outro aspecto próprio da África é a existência de um vetor de ligação entre os ciclos urbano e silvestre, o

mosquito *Aedes simpsoni*, que sai da mata indo picar os indivíduos nas periferias das cidades, podendo inclusive, manter uma transmissão contínua, ainda que limitada nessas áreas (WHO, 1985).

O ciclo silvestre, além de complexo, é ainda imperfeitamente compreendido e varia de acordo com a região onde ocorre. Na África, várias espécies de mosquitos do gênero *Aedes* têm sido associados com a transmissão, sendo *Aedes Stegomyia Africanus* Theobald, 1901, *Aedes Diceromyia furcifer* Edwards 1913 e *Aedes Stegomyia Simpsoni* Theobald, 1905, os mais importantes. Os mosquitos, além de serem transmissores, são os reservatórios do vírus, desde que uma vez infectados assim permanecem por toda a sua vida, ao contrário dos macacos que, como os homens, ao se infectarem morrem ou se curam, e ficam imunes para sempre. Portanto, os macacos atuam tão somente como hospedeiros amplificadores da virose (WHO, 1985).

A letalidade global dessa doença situa-se entre 5 -10%, mas nos casos graves que necessitam de hospitalização, oscila entre 40-60 % (MONATH, 1988). Entre os casos que evoluem com as formas graves, sejam síndromes ictero-hemorrágicas e hepato-renal, pode chegar à 50%.

Têm sido levantados vários fatores ecológicos que afetam a transmissão da FA. Alguns estão relacionados ao vírus, como a quantidade de vírus no início da amplificação do ciclo e a virulência; outros dizem respeito ao vetor, citando-se a abundância, longevidade, tropismo, número de repastos sanguíneos/dia, tempo de incubação do vírus no vetor, e sua competência vetorial; há também fatores próprios do hospedeiro vertebrado: abundância, taxas de imunidade e suscetibilidade (duração e dimensão da viremia) (SALLIS, 2003). Como já citado acima, fatores climáticos, como temperatura, umidade e duração da estação chuvosa, têm comprovadamente implicações na produção de infecções por FA. Além disso, aspectos comportamentais do ser humano também poderiam afetar a transmissão da doença, como é o caso de práticas de caça de macacos, quer seja com a finalidade de aquisição de animal de estimação, quer seja por hábitos de consumo, o que implicaria na redução do número de hospedeiros e ainda possibilitaria a entrada do homem no ciclo natural de transmissão da doença. Há que se considerar, ainda, a diversidade de ecossistemas existentes no Brasil, que refletem padrões de chuvas diversos e determinam a abundância e distribuição dos mosquitos vetores e dos hospedeiros vertebrados. A análise espacial dos casos humanos de FAS ocorridos

no Brasil nos últimos dez anos mostra um padrão de ocorrência em áreas com vegetação do tipo savana e de florestas ombrófilas (COSTA, 2005). Em resumo, semelhantemente a outras doenças transmitidas por vetores, a dinâmica de transmissão da FA depende de interações complexas entre os elementos bióticos da cadeia epidemiológica (hospedeiros, vetores/reservatórios e patógeno) e os abióticos, próprios do meio ambiente que afetam a atividade humana (PIGNATTI, 2004).



Figura 1: Mapa da situação da Febre Amarela no mundo
(<http://www.google.com.br/imgres>)

3) Histórico da Febre Amarela no Brasil

A primeira epidemia de FA descrita no Brasil ocorreu em 1685, em Recife, para onde o vírus teria sido levado em barco procedente de São Tomé, na África, com escala em Santo Domingo, nas Antilhas, onde a enfermidade dizimava a população (FRANCO, 1969; TEIXEIRA, 2001). A FA permaneceu no Recife por pelo menos dez anos, apresentando-se em caráter esporádico e, às vezes, aparecendo na época do inverno. Em 1686, surgiu em Salvador, permanecendo ali, segundo relatos, até meados de 1692, período em que cerca de 25 mil pessoas adoeceram e 900 morreram (FRANCO, 1969).

Em 1691, visando controlar a primeira epidemia de que se tem notícia em território brasileiro, foi posta em prática a primeira campanha profilática no Novo Continente. Embora utilizando bases técnicas equivocadas, a "ditadura sanitária", operacionalizada mediante ações direcionadas para a segregação dos doentes, purificação do ar, das casas, cemitérios, portos, limpeza das ruas e outras, alcançou o resultado esperado. Essa campanha lançou as bases do modelo das estratégias de vigilância e controle que seriam seguidos (FRANCO, 1969).

Durante mais de um século não se encontraram relatos sobre a infecção amarílica no Brasil, o que sugeria o seu desaparecimento, pelo menos sob a forma epidêmica. Em setembro de 1849, surgiu uma epidemia em Salvador, atribuída à chegada de um navio americano que não havia cumprido as rigorosas medidas impostas na "Carta de Saúde". A partir daí, a doença alastrou-se para diversas cidades portuárias, atingindo a capital do Império, Rio de Janeiro, em 1850, quando morreram 4.160 pessoas. Configurava-se um grave problema de saúde pública no país. Foi, então, instituído pela Secretaria de Estado de Negócios do Império o "Regulamento Sanitário", publicado em 4 de março de 1850, o qual estabelecia normas para a execução da segunda campanha contra a FA organizada no Brasil. Muito semelhante à campanha de 159 anos antes, as práticas instituídas para enfrentar a epidemia constavam de desinfecção dos navios, quarentena, cuidados especiais com os enterros e velórios, medidas sanitárias coletivas que incluíam aterramento de valas e limpeza de esgotos, dentre outras (FRANCO, 1969).

Essa estrutura institucional registrava os componentes insalubres do meio ambiente e o estado sanitário dos indivíduos, especialmente nos lugares onde ocorria FA, visando prevenir e impedir novas epidemias. Para isso, lançava mão do conhecimento físico-químico e social da época, bem como da clínica e das novas disciplinas experimentais que necropsiavam cadáveres para estudar as lesões de órgãos e tecidos (BENCHIMOL, 2001).

Na primeira fase desse período, a "vigilância" é expressa em seu significado clássico, cuja utilidade está vinculada aos conceitos de isolamento e quarentena surgidos no final da Idade Média e consolidados, posteriormente, nos séculos XVII e XVIII. Essa vigilância seria entendida como a "observação sistemática e ativa de casos suspeitos ou confirmados de doenças transmissíveis e de seus contatos" e buscava vigiar e quarentenar o indivíduo, sem interferir no coletivo (ROMERO, 1981). Entre as medidas de vigilância, instituiu-se a notificação imediata de caso

suspeito com a adoção de medidas repressivas enérgicas para os que ocultassem doentes. A FA foi a primeira doença de notificação obrigatória no Brasil. A viscerotomia abriu novos rumos à epidemiologia. Com o auxílio do viscerótomo, o serviço de colheita de amostras de fígado pôde estender-se por todo o país. No início de 1931 o serviço de FA começou a instalar postos de viscerotomia nas cidades do interior de Pernambuco, e depois nos demais estados, multiplicando-se os postos, rapidamente, pelo país. Tornaram-se verdadeiras bússolas, indicando as áreas onde ocorriam casos dessa doença que passavam clinicamente despercebidos, e onde se tornavam necessários os trabalhos de profilaxia. A eficiência da viscerotomia para a descoberta de casos da doença era incontestável (FRANCO, 1969).

Finalmente, em 1937, foi criada e registrada a primeira vacina eficaz contra FA, conhecida como a cepa 17D ou "vírus camarada". Em seguida, foram realizadas subculturas do vírus 17D em embrião de galinha, até obterem a atenuação do viscerotropismo e neurotropismo por meio de testes que utilizavam macacos suscetíveis (THEILER, 1937). A necessidade de controlar tão grave problema de saúde pública acelerou as etapas do ensaio clínico e, tão logo foi constatada sua capacidade imunogênica, a nova vacina foi testada em 100 voluntários humanos da Fundação Rockefeller, em Nova York (FRANCO, 1969). Em janeiro de 1937 foi trazida ao Brasil por Smith para a realização de pesquisas posteriores. Em março daquele ano, passou a ser fabricada no Instituto Oswaldo Cruz, hoje BioManguinhos e, nesse mesmo ano, foi usada pela primeira vez em larga escala no Município de Varginha, em Minas Gerais, estendendo-se posteriormente para outros municípios recém-afetados pela FAS (BEARCROFT, 1957; AMARAL & TAUIL, 1983). Em seis meses foram vacinadas 38.077 pessoas (FRANCO, 1969; BENCHIMOL, 2001; SOPER, 1938).

A última grande epidemia de FAU em território brasileiro ocorreu, em 1929, na cidade do Rio de Janeiro. A partir daí, em decorrência do grande investimento do governo brasileiro em ações de combate ao *Aedes aegypti* colocadas em prática em todo o país, essa modalidade da doença foi desaparecendo ao longo do tempo, até o completo desaparecimento em 1942, ano em que os três últimos casos foram reportados no município de Sena Madureira, no Estado do Acre (FRANCO, 1969). Ficou provado que a FA desenvolvia-se ainda em áreas onde supunham que não mais existisse o vírus e, o que era pior, que se mantinha, também, em regiões onde

anteriormente nunca havia sido constatada sua presença. Demonstrando ainda mais, que a endemidade amarílica não estava limitada ao Nordeste brasileiro, como anteriormente julgavam, mas que se estendia a todo o Brasil, exceto em alguns Estados do Sul (FRANCO, 1969).

Hoje sabemos que entre a população nativa, a maioria dos casos de FA se apresenta sob forma benigna, passando despercebida ao doente e também ao médico que pode confundi-la com outras enfermidades. Aí está o perigo da infecção amarílica para as massas humanas que se deslocam. O trânsito de homens não imunes através de áreas aparentemente limpas, mas que na realidade estão, no momento, infectadas, pode provocar a eclosão de novas epidemias, bem como o transporte da doença para localidades distantes (FRANCO, 1969).

No Brasil, as atuais áreas de risco incluem as regiões Norte, Centro-Oeste, o Estado do Maranhão, Minas Gerais e parte dos estados da Bahia, Piauí, São Paulo, Rio Grande do Sul, Santa Catarina e Paraná. Nestas áreas, a doença ocorre principalmente entre lenhadores, garimpeiros, seringueiros, caçadores, ribeirinhos dos rios amazônicos e em turistas do sexo masculino com idade variando entre 14 a 35 anos (BRASIL, 2011).

Na última década no Brasil, a FA tem apresentado mudanças nas suas características epidemiológicas, surgindo em áreas fora da região amazônica, ressaltando a característica da expansão das áreas de ocorrência da FA no Brasil, além da região amazônica (ROMANO et al., 2011). De outubro de 2008 a junho de 2009, no sul do Brasil, foi relatado o maior surto de FA afetando primatas silvestres já registrado (ALMEIDA et al., 2011).

Uma revisão dos casos de FA notificados/identificados pelo sistema nacional de vigilância entre 1999 e 2009 demonstrou uma forte tendência de sazonalidade, com 93% dos casos identificados entre novembro e maio. Essa tendência foi observada tanto na região amazônica como fora da bacia amazônica, a partir de casos esporádicos e durante epidemias. A partir de então, a vigilância considera três períodos epidemiológicos distintos, definidos a partir de um estudo onde se analisou a série histórica de casos e óbitos por FA do período de 1980 a 2008. As recomendações são diferenciadas em cada período e foram divulgadas (ROMANO et al., 2011) recentemente em Nota Técnica para orientações aos serviços:

a) "Período de baixa ocorrência: entre as Semanas Epidemiológicas (SE) 20^a e 37^a":

Nesse período, é recomendado priorizar atualização e capacitação dos profissionais de vigilância epidemiológica, ambiental, laboratórios de saúde pública, imunização, zoonoses e entomologia. Deve-se, ainda, analisar a situação epidemiológica visando avaliar e readequar o sistema para o próximo período sazonal.

b) "Período pré-sazonal: entre as SE 38^a e 51^a":

Aqui se recomenda a preparação da rede de saúde para o período sazonal e de monitoramento das notificações. O processo de notificação e acompanhamento dos casos suspeitos da doença deve ser articulado entre as três instâncias da saúde, com as equipes de vigilância epidemiológica e ambiental, controle vetorial (Programa Nacional da Dengue) e imunização, integradas com a rede de atenção e de laboratórios. Essa comunicação integrada será um estímulo para os serviços no sentido de aumentar a sensibilidade e favorecer a detecção precoce da circulação viral para que medidas de prevenção e controle sejam desencadeadas oportunamente.

c) "Período sazonal: entre as SE 52^a e 19^a do ano seguinte"

Neste período, espera-se que a rede de saúde esteja devidamente sensibilizada e preparada para qualquer surpresa. Todos os casos suspeitos devem ser notificados e investigados oportunamente (em menos de 24 h), bem como os rumores e notificações de mortes de PNH. É importante obedecer aos fluxos estabelecidos para a notificação imediata com vistas à mobilização rápida de todas as equipes técnicas envolvidas.

Um dos pontos vitais para a melhoria da vigilância da FA, considerado um dos maiores saltos de qualidade foi a implantação da vigilância de epizootias em primatas, a partir de 1999, que se fortaleceu em 2005, com a elaboração do primeiro manual produzido no mundo sobre o tema e se estabeleceu definitivamente no SUS com a inserção da notificação compulsória, conforme a Portaria N^o 5, de 21 de fevereiro de 2006, posteriormente, a Portaria N^o 2.472 de 31 de agosto de 2010 e mais recentemente, a Portaria N^o 104 de janeiro de 2011 (COSTA et al., 2011).

Como política de prevenção, vigilância e controle da doença, o Ministério da Saúde dividiu o país em duas áreas distintas, sendo uma Área Sem Recomendação de Vacina (ASRV) e Área Com Recomendação de Vacina (ACRV), considerada pela evidência da circulação do vírus (BRASIL, 2011).



Fonte: GT-Arboviroses/UVTV/CGDT/DEVIT/SVS/MS

Figura 2: Mapa das Áreas de Risco para Febre Amarela no Brasil

4) Febre Amarela nos primatas

Duas propriedades são inerentes à FA: *viscerotropismo* (habilidade de causar viremia, infectar e causar danos no fígado, baço, rins e coração) e *neurotropismo* (habilidade de infectar o parênquima cerebral e causar encefalite). Na natureza, somente seres humanos e PNH desenvolvem infecções viscerotrópicas (THEILER, 1951; MONATH, 2003).

Os macacos brasileiros são, em sua totalidade, sensíveis ao vírus da FA. As espécies mais freqüentemente implicadas na transmissão deste vírus pertencem ao gênero *Cebus*, *Alouatta*, *Callithrix*. Estes animais respondem à inoculação do vírus amarelíco com uma viremia, cuja duração varia entre dois e seis dias (HERVÉ, 1983). A observação histórica mostra que nos primatas a doença manifesta-se periodicamente em intervalos de tempo suficiente para o surgimento de novas populações de símios suscetíveis, após cada onda epizootica. Isso reforça as constatações de que os surtos de FA nestes animais são seguidos por períodos longos de imunidade contra reinfecção, até que uma população de símios se reproduza e se desenvolva, formando uma nova geração suscetível ao vírus (STRODE, 1951; AMARAL, 1983; KINDLOVITS, 2009).

No Novo Mundo, todos os gêneros de PNH reconhecidos e infectados experimentalmente, se mostraram sensíveis e suscetíveis ao vírus amarelíco (STRODE, 1951). Corroborando com esses achados, revela-se comum a presença de anticorpos contra a FA em símios capturados. Alguns macacos mostram grande susceptibilidade ao vírus amarelíco como, por exemplo, o guariba (gênero *Alouatta*); outros apresentam grande resistência, como o macaco prego (gênero *Cebus*) (STRODE, 1951). Os guaribas ou bugios, infectados com doses mínimas do vírus desenvolvem infecção fulminante, comportamento similar aos casos humanos fatais. O máximo que se consegue é retardar o desfecho fatal quando se usa dose infectante menor que o encontrado em mosquitos naturalmente infectados e que se acredita ser a dose que infecta os símios. Os macacos pregos se mostram mais refratários ao vírus da FA (STRODE, 1951). Eles, mesmo infectados com doses maciças, raramente desenvolvem doença grave; desenvolvem infecção subclínica ou quadro febril fugaz, há viremia, cuja duração varia entre dois e seis dias e segue-

se a produção de anticorpos protetores que neutralizam futuras re-infecções (VASCONCELOS, 2000). Durante esse curto período, um número considerável de mosquitos é possível de se alimentar sobre um macaco e, deste modo, se infectar, o que conduz a um aumento da população culicidiana e efetivamente vetora; o que chamamos de amplificador dos macacos (HERVÉ, 1983). Sua função no ciclo silvestre é tão dominante que o repentino silêncio nas matas serve de sinal aos habitantes para a circulação do vírus amarílico (STRANO et al., 1975).

No ambiente silvestre, no entanto, vários animais podem atuar como hospedeiros para o vírus FA. Os PNH são, entretanto os principais e mais sensíveis hospedeiros. Podemos constatar que a grande maioria dos macacos americanos apresenta de modo geral grande susceptibilidade ao vírus FA, contrastando com os macacos africanos que, com raras exceções, apresentam maior resistência ao vírus (HERVÉ & TRAVASSOS DA ROSA, 1983).

No continente africano, os macacos mostram-se mais resistentes ao vírus e, por conseguinte, ainda que desenvolvam a infecção, raramente adoecem. Isto permite a rápida renovação da população símica, o que facilita a manutenção do vírus numa área e encurta os períodos inter-epidêmicos (BRÉS, 1986). Outros mamíferos podem ser reservatórios, como alguns marsupiais e roedores (OLIVEIRA, 2010; TAUIL, 2010). Os primatas asiáticos são altamente sensíveis a infecções experimentais, talvez porque o vírus não seja encontrado naquela região (MANSIFIELD et al., 1999).

Estudo recente, realizado por Araújo et al. (2011) relata que das 1.971 epizootias notificadas no período de 2007 a 2009, em 88% (1.735/1.971) foi possível identificar os animais segundo o gênero, sendo 29,0% (503/1.735) *Callithrix*, 6,6% (114/1735) do gênero *Cebus* e 64,4% (1.118/1735) *Alouatta*.

Os primatas sul-americanos infectados desenvolvem sinais semelhantes aos da doença em humanos. A viremia se dá em três a quatro dias (leucopenia), apresentando febre até sete dias, apatia e recuperação em duas semanas, ou morte. Pode haver febre, apatia, icterícia, êmese, desidratação, hemorragia bucal e intestinal, insuficiência hepática e renal e albuminúria devido à necrose hepática (KINDLOVITS, 2009). Esta sensibilidade lhes confere importante papel na identificação da circulação do vírus.

Os dados da patogênese da FA são desconhecidos e decorrem principalmente de estudos experimentais em camundongos e macacos *rhesus*

(*Macaca mulatta*). Em um estudo experimental com macacos *rhesus* inoculados com a cepa Asibi do vírus FA, foram observados diversos achados de necropsia. As principais lesões encontradas foram icterícia, hemorragia e palidez de várias partes, e as alterações no fígado, rim e baço. Icterícia e hemorragia foram variáveis em ocorrência e grau, mas a palidez do fígado e dos rins e a cor amarelada do fígado foram constantes. O fígado seccionado mostrou-se gorduroso e o tecido geralmente friável, e, obviamente, necrótico. O baço e rim eram comumente aumentados de peso quando comparados aos animais controle (STOKES et al., 1928).

Em 1931, novas conquistas vieram esclarecer pontos obscuros sobre a FA no Brasil. Sobretudo a prova de proteção, agora denominada prova de neutralização, método de grande utilidade para o diagnóstico retrospectivo de casos da doença. Esta prova baseia-se no aproveitamento das propriedades preventivas que adquire o soro dos pacientes, após o restabelecimento do doente. Quando queriam saber se um indivíduo, em qualquer época, tivera ou não FA, injetavam 2 cm³ de soro desse indivíduo num macaco, sendo 24 horas depois o mesmo animal inoculado com 0,5 de sangue virulento. Se o animal resistisse a essa inoculação de vírus amarelado, significava que o soro nele injetado o protegia e portanto, provinha de um paciente que tivera a FA e estava imune; se o macaco injetado morria, era porque o soro não tinha propriedades antiamarílicas e provinha de um indivíduo que não havia sido acometido pela doença. Entretanto, o macaco não era animal fácil de ser manejado no laboratório. Era necessário um animal sensível como o macaco, porém menor, barato e mais conveniente para uso no laboratório.

A icterícia foi um achado constante em necropsias de pessoas vítimas da FA, e também nos macacos, mas num grau menos intenso. A pele dos macacos não era geralmente ictérica, mas a cartilagem da laringe apresentava uma cor amarelada, vasos grandes perto do coração e fluidos do corpo foram regularmente observados irregularmente ictéricos. A coloração anormal observada foi a mesma no homem e *rhesus*.

A hemorragia foi encontrada em humanos e macacos na pleura, pulmões, trato gastro-intestinal e gengivas, raramente observados no endocárdio e não visto na pele, peritônio, retroperitônio, epicárdio, bexiga, fígado ou rins. Petéquias foram menores nos animais que no homem, mas em ambas as hemorragias eram de origem recente. Como no homem, vômito negro foi encontrado frequentemente.

Os resultados encontrados no baço foram alargamento, congestão e firmeza. Uma diferença observada, porém, foi que enquanto no humano, os corpos de Malpighi encontravam-se muitas vezes proeminentes e contrastava com o tecido circundante congestionado, no macaco estes folículos eram geralmente muito pequenos e mal delineados.

É evidente a semelhança dos processos patológicos nos órgãos de humanos e macacos *rhesus* com FA. Icterícia, hemorragia de várias partes, vômito preto, palidez e alterações gordurosas necróticas no fígado, degeneração aguda, insuficiência do parênquima renal, congestão esplênica e achados urinários estavam presentes em ambos. Embora a variação exista quanto ao grau de intensidade, a semelhança foi marcante no que diz respeito à cor icterica, as hemorragias recentes, e a aparência do rim, fígado e baço (STOKES et al., 1928).

Em macacos, o vírus FA causa uma doença caracterizada por um tropismo semelhante àquele determinado no homem, isto é, o vírus apresenta viscerotropismo, especialmente para o fígado, onde determina necrose hepatocitária maciça. Após o inóculo, o vírus desaparece da circulação, não sendo detectado nas primeiras 24 h pós-infecção. Após esse período, o vírus é encontrado nas células de Kupffer onde causa degeneração acidófila em zonas focais, durante seu período inicial de multiplicação. Em seguida, essas células sofrem degeneração baloniforme e, posteriormente, sofrem necrose do tipo hialina. Cerca de 48 h pós-infecção, o vírus já é encontrado no sangue e nos hepatócitos. A partir daí, o título viral no sangue cresce até cerca de 96 h pós-infecção e depois decresce rapidamente, por volta 120 h (5 dias), período em que ocorre geralmente as mortes.

Vale salientar que os macacos *rhesus* são os animais mais sensíveis ao vírus amarílico. Doses mínimas do vírus são capazes de causar a morte desses animais; doses elevadas determinam morte fulminante (48-72 h).

No fígado, além da degeneração inicial nas células de Kupffer, o vírus amarílico causa necrose hepatocitária em grandes áreas do parênquima hepático, por volta de 72-96 h pós-infecção. De início, as lesões caracterizam-se por aumento de tamanho dos núcleos e marginação da cromatina. Simultaneamente, ocorre necrose hialina dos hepatócitos. As lesões hepatocitárias se caracterizam por localizarem-se nos lóbulos hepáticos, atingindo dentro de um lóbulo, determinadas áreas e preservando outras. A lesão no lóbulo individualizado é representada por uma área de necrose central (necrose médio-zonal). Nessa área há destruição das

traves de Remack, perdendo o fígado sua estrutura característica. Dentro da área necrosada, observa-se além da necrose propriamente dita, um infiltrado inflamatório em que predominam as células mononucleares, debris celulares, e vários tipos e graus de degeneração. É freqüente e muito característica da FA, a degeneração hialina (corpúsculos de Councilman, que se caracteriza por degeneração acidófila ou hialina dos hepatócitos). Ocorre ainda a degeneração gordurosa (esteatose hepática, do tipo multi e micro vacuolar e que são observadas tanto nas células degeneradas, bem como nas preservadas (PINHEIRO & MORAES, 1983).

Logo que o vírus é isolado da natureza, seja do homem, macaco ou mosquito, ele é pantrópico, isto é, invade as três camadas embrionárias (ectoderma, endoderma e mesoderma). Quando inoculado por via subcutânea ou intraperitoneal em animais sensíveis (macacos) produz infecção severa, geralmente fatal, com grave dano cerebral e hepático. Após passagens seriadas em cérebro de macaco, perde muito do seu viscerotropismo e neurotropismo, só produzindo encefalite nesses animais por inoculação intracerebral. O vírus atenuado conserva sua capacidade antigênica, permitindo o preparo das vacinas (KINDLOVITS A, 1959).

No fígado de macacos *rhesus* experimentalmente inoculados, o vírus infecta as células de Kúpffer e os hepatócitos. Nas primeiras, determina degeneração acidófila em zonas focais durante o período inicial de replicação, cerca de 24 horas após a inoculação (TIGERTT et al., 1960). Em seguida, ocorre degeneração baloniforme e, posteriormente, necrose do tipo hialina detectável cerca de 3 dias após a inoculação, sem ocorrer aparentes lesões nos hepatócitos (TIGERTT et al., 1960). Nessas células, o vírus amarelado causa necrose em grandes extensões do parênquima hepático, preferencialmente nas áreas médio-zonais, poupando as extremidades do lóbulo, sendo raro o encontro de células necrosadas antes do terceiro dia pós-inoculação (PINHEIRO & MORAES, 1983).

Kumm (KUMM, 1951) afirmava que os primatas arborícolas, especialmente bugios, são altamente suscetíveis ao vírus da FA. Noutro experimento em símios, Monath et al. 1981, relataram o encontro do vírus no fígado cerca de 24 horas após a inoculação. Em seguida, o vírus foi encontrado nos rins, baço, medula, linfonodos e coração. O quadro hepático típico, com corpúsculos de Councilman-Rocha Lima e necrose médio-zonal é considerado um evento tardio, tornando-se evidente nas 24 a 48 horas que antecedem o óbito. É desconhecida a razão do tropismo viral pelas células da região médio-zonal. A ocorrência de apoptose também constitui evento

tardio da infecção e tal agressão explica a virtual ausência de processo inflamatório celular na FA, a preservação da arquitetura celular na maioria dos casos e a completa regeneração do órgão sem fibrose nos sobreviventes (MONATH et al. 1981). O mesmo padrão tem sido observado em hamsters inoculados via intraperitoneal com amostra viral adaptada a esses animais (XIAO et al., 2001).

Elton & Vargaz (1953) descreveram as lesões no fígado de macacos encontrados mortos ou doentes durante a epidemia de FA, na Costa Rica. Vírus da FA foi isolado a partir do fígado de cada um. No exame macroscópico, a lesão mais importante foi encontrada no fígado. De modo que a aparência do fígado estava bastante similar, pois estavam pálidos, visivelmente não aumentados de volume e com a superfície lisa. Em alguns dos fígados haviam grandes áreas de hemorragia visível sob a cápsula. A cor variou consideravelmente, mas todos os fígados tinham uma coloração amarela distinta. As cavidades peritoneais de alguns dos macacos continham grandes quantidades de sangue. Ao exame microscópico, a lesão do fígado foi encontrada idêntica ao associado à FA. A necrose das células do parênquima hepático, variando consideravelmente em extensão, foi mais intensa na zona intermediária do lóbulo hepático. Em dois dos macacos foram vistas inclusões intra-nuclear nas células do parênquima hepático (VARGAZ-MENDEZ, 1953).

5) Vigilância de epizootias em PNH

A importância que a FA exerce no contexto mundial, é decorrente da sua gravidade, capacidade de dispersão do agente, transcendência e risco de reurbanização. Essa situação a torna ainda mais relevante, sendo necessária a implementação e utilização de novos instrumentos de vigilância. A vigilância de epizootias em PNH é um dos componentes da vigilância da FA, que funciona como evento sentinela para a ocorrência da doença em humanos, dando oportunidade ao desencadeamento das ações de prevenção e controle (BRASIL, 2011). Adicionalmente, a vigilância da FA foi formalizada pela Portaria Ministerial Nº 05/2006, que define a relação nacional de doenças e agravos de notificação compulsória (BRASIL, 2011; BRÉS, 1986) mais recentemente substituída pela Portaria Nº 2.472, de 31 de agosto de 2010 (e agora Portaria Nº 104, de 25 janeiro 2011) (BRASIL, 2005; BRASIL, 2010).

Até o ano de 1998, a vigilância da FA era baseada na vigilância dos casos humanos. A partir daquele ano, com a observação de mortes de PNH em vários municípios dos estados de Tocantins e Goiás e com a subsequente emergência da doença na população humana, tais eventos passaram a ser vistos como indicadores de risco potencial (evento sentinela) de ocorrência de casos humanos de FAS (BRASIL, 2004). O Ministério da Saúde, então, deu início à vigilância de epizootias em PNH como um evento sentinela para a provável circulação do vírus amarelo. Esta ferramenta tem sido bastante utilizada e tem demonstrado ser eficaz para prevenir ocorrências de doenças na população humana. A ocorrência desses eventos tem sido observada há muitos anos e existem relatos descritos em diversas partes do mundo, inclusive em países no oeste equatorial da África, como Gabão e Congo. A vigilância sobre populações de primatas não humanos torna-se necessária para detectar a circulação viral, quando ainda está restrito a epizootias, e para determinar sua presença em regiões onde ainda não se tem registro da doença (LIMA et al., 2010).

A notificação da ocorrência de epizootias em PNH no Brasil tem-se demonstrado como uma importante ferramenta preditora da circulação do vírus da FA na área, e como instrumento de alerta para o desencadeamento das medidas de prevenção e controle de casos humanos. Todos os PNH são susceptíveis a esse agravo. A detecção precoce dessa circulação viral leva à rápida tomada de decisão, para o desencadeamento das medidas de proteção da saúde da população humana.

Apesar de ser antigo o conhecimento sobre a participação dos PNH no ciclo da FA, é recente a utilização dessa ferramenta como preditora do risco para ocorrência de casos humanos. Apesar de pouca descrição na literatura, no entanto foi possível observar sua efetividade durante todo esse período descrito.

6) Febre Amarela em outros animais como modelos experimentais

Theiler descobriu em 1930 que os camundongos brancos eram sensíveis à infecção amarela, quando inoculados por via intracerebral. Dessa descoberta resultou uma nova técnica de prova de neutralização do vírus. Em 1931, a Fundação Rockefeller iniciou estudos para o conhecimento da distribuição da imunidade em vários estados do Brasil por meio da prova de neutralização (FRANCO, 1969).

Em camundongos recém-nascidos, o vírus amarelo determina, uma vez inoculado por via intracerebral, encefalite fatal cerca de 5 a 7 dias pós-inoculação. Todos os animais adoecem, exibindo uma panencefalite, ou seja, praticamente todos os órgãos do SNC são gravemente acometidos (BEARCROFT, 1957).

Os hamsters (*Mesocricetus auratus*) têm sido usados como modelo alternativo para o estudo do viscerotropismo de vírus; há vantagens econômicas aliados ao fácil manejo dos animais em laboratório (XIAO et al., 2001). Em infecções experimentais, usando hamsters jovens, encontra-se o vírus na corrente sanguínea cerca de 48 horas após a inoculação (TIGERTT, 1960). Nesses animais as lesões iniciais caracterizam-se por aumento do núcleo e marginação da cromatina. Caracteristicamente, as lesões se localizam nos lóbulos hepáticos e atingem dentro de um mesmo lóbulo, certas estruturas, preservando outras. Assim é que num lóbulo, as áreas centrais entre o espaço porta e a veia centro lobular são mais atingidas pela necrose, conhecida como necrose médio-zonal, semelhante ao que ocorre em humanos e símios (XIAO et al., 2001).

Os achados clínicos e de laboratório no modelo hamster foram muito semelhantes aos observados em casos humanos graves de FA. Estes resultados fornecem uma validação adicional da utilidade do modelo de hamster para estudar a patogênese e tratamento da FA (TESH, 2001).

Na imunohistoquímica, foi observada nos dias 4 – 8 pós-infecção, antígeno viral no fígado de quase todos os hamsters infectados pelo vírus da FA. O antígeno viral também foi observado no baço de alguns animais infectados nos dias 6 e 7 pós-infecção. Foi observada esteatose microvesicular no fígado no dia 4 pós-infecção, junto com necrose-apoptose dos hepatócitos infectados.

Em um estudo realizado em hamsters, na Universidade do Texas, 2006, observou-se que durante os primeiros dois dias após a infecção com vírus da FA, os tecidos do hamster pareciam microscopicamente normais. Nos dias 3 e 4 pós-infecção, áreas com manchas de apoptose começaram a aparecer no fígado infectado dos animais. Ao mesmo tempo, hiperplasia de polpa branca, com um aumento nos macrófagos esplênicos. No dia 4 pós-infecção, hemorragia e alguns infiltrados foram observados nos pulmões. Em dias 5 e 6 pós-infecção, o fígado mostrou inflamação leve no trato portal que continha em sua maioria leucócitos mononucleares. Neste momento, esteatose lobular microvesicular foi observada em

todos os animais, e muitos corpos acidófilos também. No baço, depleção linfóide grave; presença de macrófagos na polpa branca e vermelha; hemorragia pulmonar difusa. Nos dias 7 e 8 pós infecção, alterações gordurosas microvesiculares ainda estavam presentes na área lobular do fígado, mas já tinha hepatócitos começando a se regenerar. Os pulmões de animais sobreviventes não mostraram evidência de hemorragia; desta vez, no entanto, muitas células inflamatórias mononucleares foram observadas nos vasos sanguíneos pulmonares. Corpos acidófilos espalhados e zonas hemorrágicas também foram observados nas glândulas adrenais de dois animais. Dia 9 pós-infecção, os linfócitos foram se proliferando no baço, e a polpa branca reconstituída deu ao órgão aparência quase normal. No fígado, a maioria da área lobular mostrou hepatócitos regenerados, e dispersos focos inflamatórios estavam confinados aos tratos portais. Não foram observadas alterações significativas no coração ou intestino dos animais incluídos no estudo. Foram observadas alterações leves a moderada nos rins e as glândulas supra-renais, como anteriormente descritos. (SBRANA, 2006)

A inoculação do vírus amarelo em camundongos desencadeia encefalite fatal; já em hamsters, se observa viremia e alguns animais sucumbem à infecção com quadro viscerotrópico de hepatite fulminante (TESH, 2001). Por outro lado, a infecção experimental de macacos determina tropismo semelhante ao observado no homem, isto é, viscerotropismo, tendo como órgão alvo o fígado. Este tipo de apresentação clínica nos símios os transformou no modelo ideal para estudos experimentais face à semelhança com o quadro desenvolvido pelos seres humanos. Entretanto, os problemas éticos e os custos elevados desses animais inviabilizam os estudos em primatas (MONATH et al., 1997).

A única diferença notável na patogênese da infecção do vírus da FA entre hamsters e primatas parece ser nos rins e coração (TESH, 2001).

7) Febre Amarela no homem

A FA era considerada uma doença de sintomatologia dramática, de etiologia durante longo tempo desconhecida, sem uma terapêutica eficaz. Os primeiros investigadores procuravam desvendar a causa da doença nos cadáveres dos pacientes por FA. A primeira necropsia com a finalidade de descobrir a causa foi realizada por Antônio Brebon, em 1692, em alto mar (FRANCO, 1969).

Em seres humanos, os achados histopatológicos são muito semelhantes àqueles observados nos símios e decorrem, sobretudo, de exames de necropsia. Normalmente, a doença no homem arrasta-se por um período de tempo maior que no macaco *rhesus* e, ao contrário destes, que invariavelmente sucumbem à infecção, nos seres humanos apenas uma pequena parte desenvolve formas graves da doença e somente cerca de 50% dos mesmos evoluem para o óbito. O período de viremia é maior, prolongando-se de 5 a 7 dias (BENSABATH et al., 1967). O quadro clínico tem evolução bifásica. O início é repentino, com febre, calafrios, dores de cabeça, dores musculares, prostração, náuseas e vômitos, durando cerca de 3 dias. Após este período, se observa remissão da febre e melhora dos sintomas com sensação de bem-estar do doente, podendo evoluir para cura ou melhora durante algumas horas ou, no máximo, até 2 dias. As anormalidades laboratoriais incluem diminuição dos glóbulos brancos (leucopenia). Entre 48 e 72 horas após o início da doença, há elevação das enzimas hepáticas no sangue precedendo a icterícia. Este período caracteriza-se pela instalação de insuficiência hepática e renal. Surgem icterícia, manifestações hemorrágicas, diminuição do débito urinário, sangramento urinário e prostração intensa. O pulso se torna lento apesar da temperatura elevada (sinal de Faget). Caracteristicamente, no exame de urina, encontramos a presença de albumina. Este período apresenta alta letalidade. Durante a convalescença o paciente pode apresentar fraqueza e fadigabilidade por várias semanas, mas a cicatrização do fígado e rins é completa.

Ao exame macroscópico, observa-se coloração amarela da pele e mucosas, bem como manchas equimóticas, às vezes extensas. Nas cavidades torácica e abdominal observa-se aumento dos líquidos pleural e ascítico que, frequentemente, apresentam coloração amarela intensa. No tubo digestivo, principalmente no estômago e intestino delgado, observa-se a presença de sangue, além de lesões

petequiais na mucosa ou mesmo pequenas erosões. A vesícula biliar apresenta-se distendida devido ao grande volume de sangue e, freqüentemente, ultrapassa o gradil costal. Na bexiga observa-se sufusões hemorrágicas da mucosa com áreas de franca hemorragia. O fígado é o órgão mais afetado. À macroscopia mostra-se, em geral, pouco aumentado em volume. Apresenta consistência suave e cor variável, predominando o tom amarelo (SALLIS, 2003; BRASIL, 2011).

Os achados histopatológicos, mesmo no fígado, onde são mais intensos, raramente apresentam caráter maciço, ressaltando uma nítida desproporção entre a gravidade das manifestações clínicas e as alterações morfológicas encontradas nas necropsias. Observam-se ainda focos hemorrágicos subcapsulares e parenquimatosos. No fígado encontram-se as alterações histopatológicas características da doença: a necrose médio-zonal dos lóbulos hepáticos, esteatose e degeneração eosinofílica dos hepatócitos (SALLIS, 2003; BRASIL, 2005; BRASIL, 2011). Apesar de todo esse esforço, em 1890, Béranger-Féraud, após a análise dos resultados de 873 necropsias, observou que apesar de um longo estudo feito sobre a anatomia patológica da FA, constatou-se um conjunto de alterações notáveis, mas, nenhuma lesão verdadeiramente patognomônica (FRANCO, 1969).

Councilman salientava a importância do fígado, sob o ponto de vista de diagnóstico. As células, quando coradas pela hematoxilina-eosina, aparecem como massas acidófilas, de contornos nítidos, refringentes, compostas de uma substância hialina que contém numerosos vacúolos. Elas receberam o nome de corpúsculos hialinos, hoje conhecidos como corpos de Councilman. Esse trabalho ficou esquecido durante muitos anos. Enquanto isso, os médicos brasileiros, interessados também no assunto, a partir de 1900, prosseguiram seus estudos sobre a anatomia patológica na FA (FRANCO, 1969).

Azevedo Sodré e Miguel Couto realizaram numerosas observações e pesquisas. O trabalho foi considerado como uma das páginas definitivas da ciência. Nele, os dois cientistas brasileiros firmaram o conceito da poliosteatose visceral amarílica, considerando a degeneração gordurosa como lesão característica da doença. Rocha Lima, do Instituto de Manguinhos, que desde 1905 vinha se dedicando ao estudo da anatomia patológica do fígado na FA, publicou, em 1912, os resultados de seus estudos, que ainda hoje são aceitos como básicos para o diagnóstico da doença. Distinguiu, da mesma forma que o patologista norte-americano, dois tipos de células: gordurosas e necrosadas (FRANCO, 1969).

Rocha Lima demonstrou que como condição indispensável para o diagnóstico histopatológico da infecção amarelíca, a necrose que ocorre por todo o lóbulo hepático, deve apresentar caráter médio-lobular preferencial evidente. Esta eletividade é observada apenas em se tratando de FA. O seu conceito de hepatite amarelíca foi logo confirmado por numerosos patologistas, no Brasil e no estrangeiro (FRANCO, 1969). No Brasil, os estudos da anatomia patológica da FA, tomaram novos impulsos por ocasião da epidemia do Rio de Janeiro entre 1928 a 1929 (FRANCO, 1969).

A lesão característica da FA ocorre no fígado, nos hepatócitos. É a necrose médio-zonal. Esta lesão caracteriza-se por ocorrer no lóbulo hepático e, neste, preserva os hepatócitos próximos da veia centro-lobular e do espaço porta e acomete por necrose difusa os hepatócitos localizados na porção média do lóbulo. Ainda que a necrose médio-zonal seja observada em outras viroses como o dengue e mesmo em alguns casos de hepatite fulminante, observa-se predominância na infecção amarelíca. Nas áreas médio-zonais necrosadas na FA, raramente há desorganização da arquitetura normal. Na hepatite fulminante, a desorganização da arquitetura hepática com destruição das traves de Remack torna-se evidente. Por vezes, entretanto, quando a necrose na FA mostra-se muito extensa o diagnóstico histopatológico fica muito difícil (PINHEIRO, 1978).

O vírus amarelíco determina no homem desde quadros inaparentes e oligossintomáticos, até formas fulminantes. Basicamente, a lesão mais importante da FA ocorre no fígado, nos hepatócitos. Há necrose hepatocitária com repercussões locais e sistêmicas responsáveis pelos quadros clínicos manifestos pelos pacientes acometidos pelo vírus amarelíco (PINHEIRO & MORAES, 1983; MONATH, 1988).

Os aspectos patogênicos da infecção pelo vírus da FA são conhecidos em parte, e as informações acumuladas derivam de estudos em PNH, hamsters, camundongos e achados histopatológicos em casos humanos graves (BEARCROFT, 1957).

No homem, após a introdução do vírus amarelíco na circulação pela picada do transmissor, rapidamente atinge linfonodos regionais e desaparece da circulação nas 24 horas seguintes. A lesão no hepatócito é principalmente necrose de coagulação hialina, com pouco processo inflamatório. Algumas vezes, virtualmente não se encontram células inflamatórias, especialmente nas áreas onde a apoptose

mostra-se mais evidente. Em outro experimento em símios, relatou-se o encontro do vírus no fígado, cerca de 24 horas após a inoculação. (MONATH, 2001).

Em humanos e macacos, a patologia renal associada com infecção pelo vírus da FA é caracterizada por degeneração eosinofílica e epitélio tubular renal sem inflamação. Insuficiência renal não é incomum. Degeneração eosinofílica e inchaço das células epiteliais tubulares foram observadas em alguns dos hamsters. Da mesma forma, inchaço e alterações gordurosas foram observados no coração do ser humano em casos fatais da doença; no entanto, os hamsters infectados não mostraram anormalidades patológicas específicas no coração. No entanto, à semelhança do histopatológico, hematológico e clínico descobertas da química em humanos e hamsters infectados com vírus da FA indicaram que o hamster é modelo de baixo custo para estudos da patogenia e tratamento da FA (TESH, 2001).

OBJETIVOS

- Selecionar informações epidemiológicas de PNHs naturalmente infectados, provenientes de surtos de FA no Brasil, a partir dos registros oficiais do Ministério da Saúde

- Determinar a frequência das principais lesões histológicas nos animais selecionados com FA, a partir dos laudos contidos nos registros oficiais

- Estabelecer correlação entre as principais lesões histológicas nos primatas com FA, determinando aquelas que acontecem com maior frequência entre os animais doentes, visando aplicação nos laboratórios de diagnóstico veterinário de apoio à rede de vigilância de epizootias.

REFERÊNCIAS

ALMEIDA, MAB; SANTOS, E; CARDOSO, JC; MAEDA, AM; SOUZA, RP; KANAMURA, C and BRASIL, RA. Yellow Fever Outbreak Affecting Alouatta Populations in Southern Brazil (Rio Grande do Sul State), 2008-2009. **American Journal of Primatology** 73: 1-9 (2011).

AMARAL, R; TAUIL, PL. Duas ameaças de um mosquito: febre amarela e dengue. **A Saúde no Brasil**, v.1, n.4, out./dez. 1983.

ARAUJO, F.A.A.; RAMOS, D.G.; SANTOS, A.L.; PASSOS, P.H.O.; ELKHOURY, A.N.S.M.; COSTA, Z.G.A.; LEAL, S.G.; ROMANO, A.P.M. Epizootias em primatas não humanos durante re-emergência do vírus da febre amarela no Brasil, 2007 a 2009. **Epidemiologia e Serviços de Saúde**. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. 2011. p. 23.

BEARCROFT, WGC. The histopatology of the liver of yellow fever-infected Rhesus monkeys. **Journal Pathology of Bacteriology**. 74: 295-303, 1957.

BENCHIMOL J, editor. Febre amarela: a doença e a vacina, uma história inacabada. Rio de Janeiro: **FIOCRUZ**; 2001. 469 p.

Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Plano de Intensificação das Ações de Prevenção e Controle da Febre Amarela. Brasília: Editora MS; 2004.

BRASIL. **Manual de Vigilância de Epizootias de Primatas não Humanos**. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. 1ª edição. Serie A. Normas e Manuais Técnicos. 58p. Brasília, 2005. Disponível em <http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/epizootias.pdf>. Acesso em 10 de janeiro de 2011.

BRASIL. Febre Amarela Silvestre. Emergências em Saúde Pública de Importância Nacional (ESPIN) de Febre Amarela Silvestre em São Paulo e no Rio Grande do Sul

e a Situação Epidemiológica Atual no Brasil (2008/2009). Ministério da Saúde. **Boletim eletrônico**. 2009b Disponível em http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/boletim_febre_amarela_09_12_09.pdf. Acesso em 03/04/2011.

BRASIL. **Manual de Vigilância e Controle da febre amarela**. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Brasília. p.94. 2011a. (No prelo).

BRASIL. Ministério da Saúde. **Portaria N.º 104, de 26 de janeiro de 2011**. Define as terminologias adotadas em legislação nacional, conforme disposto no Regulamento Sanitário Internacional 2005 (RSI 2005), a relação de doenças, agravos e eventos em saúde pública de notificação compulsória em todo o território nacional e estabelecer fluxo, critérios, responsabilidades e atribuições aos profissionais serviços de saúde. Diário Oficial da União, Seção I, n. 18, p. 37, Brasília. 2011b. Disponível em http://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/gm/2011/prt0104_25_01_2011.html. Acesso em 01 de fevereiro de 2011.

BRÉS PLJ. A century of progress in combating yellow fever. **Bulletin of the World Health Organization** 64:775-786, 1986.

COLIJAS, N. ANDSOUTHWICKC,. 1952, A field study of population density and social organization in howling monkeys, **Proc. Am. Philosoph. Soc.** 96:143-156.

COSTA ZGA. Estudo das características epidemiológicas da febre amarela no Brasil, nas áreas fora da Amazônia Legal, período de 1999-2003 [**Dissertação**]. Brasília-DF: Escola Nacional de Saúde Pública Sergio Arouca; 2005.

COSTA ZGA, et al. Evolução histórica da vigilância epidemiológica e do controle da febre amarela no Brasil. **Rev. Pan-Amaz Saúde** 2011; 2 (1); 11-26.

COUNCILMAN, W. N, T. 1890, Report on the etiology and prevention of yellow fever, by George M.Sternberg, U. S. Marine Hospital Service, Government Printing Office, Washington, D. C. pp. 151-159.

DÉGALLIER, N.; HERVÊ, J. P.; TRAVASSOS DA ROSA, A. P. A; VASCONCELOS, P. F. C.; TRAVASSOS DA ROSA, J. F. S.; SÁ FILHO, G. C. A ecologia dos arbovírus na Amazônia: pesquisas atuais e perspectivas *Hiléia médica*; 8(1): 47-50, set. 1987.

ELKHOURY, A. N. S. M.; *et al.* Situação Epidemiológica das Zoonoses de Interesse em Saúde Pública. Febre Amarela – 2009. **Boletim Eletrônico Epidemiológico**. Secretaria de Vigilância em Saúde. Ministério da Saúde. Ano 10, n. 10, p. 24. Abril 2010. Disponível em http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/boletim_eletronico_02_ano10.pdf. Acesso em 13.04.2011

FRANCO O. História da febre amarela no Brasil. Departamento Nacional de Endemias Rurais, Ministério da Saúde, Rio de Janeiro, 1969. 200 p.

HERVÊ JP, DÉGALLIER N, TRAVASSOS DA ROSA APA, SÁ FILHO GC. A Febre amarela silvestre no Brasil e os riscos de propagação urbana. **Hiléia Médica** 1985; 7(1):31-40.

HERVÊ JP, TRAVASSOS DA ROSA APA. Ecologia da febre amarela no Brasil. **Rev Fund Sesp** 1983;28(1):11-19.

HUDSON N, 1928. The pathology of experimental yellow fever in the *Macacus rhesus*. III. Comparison with the pathology of yellow fever in man. **Am J Pathol** 4: 419–439.

KINDLOVITS, LM; KINDLOVITS, A. Febre Amarela. **Clínica e Terapêutica em Primatas Neotrópicais**/ ATILLA KINDLOVITS, LÍVIA MUNAY KINDLOVITS. 2ª Ed. Rio de Janeiro. P.27-51, 171-209, 401-418. L.F.Livros: 2009.

KUMM, H. W. 1951, Personal communication.

LIMA, M.A.; ROMANO-LIEBER, N.S.; DUARTE, A.M.R.C.; Circulation of antibodies against yellow fever virus in a simian population in the area of Porto Primavera

Hydroelectric Plant, São Paulo, Brazil. **Rev. Inst. Med. Trop.** São Paulo, v.52, n.1, p.11-15, 2010.

MANSFIELD, K.G., WESTMORELAND, S.V., DEBAKKER, C.D., CZAJAK, S., LACKNER, A.A., DESROSIERS, R.C.. 1999. Experimental infection of rhesus and pigtail macaques with macaque rhadinoviruses. *J. Virol* 73: 10320-10328.

MONATH TP; BRINKER KR; CHANDLER FW; KEMP GE; CROPP CB. Pathophysiologic correlations in a rhesus monkey model of yellow fever: with special observations on the acute necrosis of B cell areas of lymphoid tissues. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene** 30: 431- 443, 1981.

MONATH, TP. Epidemiology of yellow fever: current status and speculations on future trends, SALUZZO, JF. DODET B (Ed). In: **Factors in the Emergence of Arbovirus Diseases**, Elsevier, Paris, p. 143-156, 1997.

MONATH, TP. Yellow fever: Na update. **Lancet Infectious Diseases** 1: 11-20, 2001.

MONATH, T. P. – *Yellow fever*. In: PLOTKIN, S.A.; ORENSTEIN, W.A.; eds. *Vaccines*, 4^a edição. Philadelphia, W.B. Saunders, p.1095-1176, 2003.

MONDET B, TRAVASSOS DA ROSA APA, VASCONCELOS PFC. Les Risques d'épidémisation urbaine de la fièvre jaune au Brésil pour le vecteurs *Aedes aegypti* et *Aedes albopictus*. **Bull Soc Pathol Exot** 1996;89:107-114.

MONDET B. Considérations sur l'épidémiologie de la fièvre jaune au Brésil. **Bull Soc Pathol Exot** 2001;94:260-267.

MUTEBI JP, Wang H, Li L, Bryant JE, Barrett ADT. Phylogenetic and Evolutionary Relationships along yellow fever virus isolates in Africa. **J Virol** 2001; 85: 6999-7008.

NOBRE A, ANTEZANA D, TAUJIL PL. Febre amarela e dengue no Brasil: epidemiologia e controle. *Rev Soc Bras Med Trop* 1994; 27(Supl III): 59-66.

OLIVEIRA, S. V; BARROS, S; LOPES, J. T. S; Vigilância da Febre Amarela em Caçapava do Sul, Rio Grande do Sul, Brasil: um relato da epizootia, 2008-2009. Relato de caso. **Revista Pan-amaz. Saúde**; v.1, n.1, p. 181-186. 2010.

PIGNATTI MG. Saúde e ambiente: as doenças emergentes no Brasil. **Ambient Soc.** 2004 janjun; 7(1):133-47.

PINHEIRO, FP; TRAVASSOS DA ROSA APA, MORAES MAP, NETO JCA, CAMARGO S, FILGUEIRAS FP. Na epidemic of yellow fever in central Brazil, 1972-1973. I. Epidemiological studies. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 27: 125-132, 1978.

ROBERTSON SE, HULL BP, TOMORI O, BELE O et al. Yellow Fever. A decade of reemergence. *J Am Med Assoc* 1996; 276: 1157-62.

ROMANO, A.P.M.; RAMOS, D.G.; ARAUJO, F.A.A.; SIQUEIRA, G.A.M; RIBEIRO, M.P.D.; LEAL, S.G.; ELKHOURY, A.N.S.M. Febre Amarela no Brasil: recomendações para a vigilância, prevenção e controle. **Epidemiol Serv Saude.** 2011;20(1):101-6.

Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. 2011, p. 6 http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/rev_epi_vol20_n1.pdf.

ROMERO A, TRONCOSO M C . La vigilancia epidemiológica: significado e implicaciones en la práctica y en la docencia. **Cuad Med Soc.** 1981;17:17-28.

SALLIS, E.S.V.; GARMATZ, S.L.;FIGHERA, R.A.;BARROS, V.L.R.S.;GRAÇA, D.L.. Surto de Febre Amarela em Bugios. **Acta Scientiae Veterinariae.** v.31, n.2, p.115-117, 2003. Disponível:<http://iah.iec.pa.gov.br/iah/fulltext/pc/artigos/2003/Acta%20Scientiae%20Veterinariae%20v31n2p115-%20117%202003.pdf>. Acesso em 13.03.2011.

SBRANA, E., XIAO, S.Y., POPOV, V.L., NEWMAN, P.C.. TESH*, R.B., **Am. J. Trop. Med. Hyg.**, 74(6), 2006, pp. 1084–1089. Experimental yellow fever virus infection in the golden hamster (*Mesocricetus auratus*) III. Clinical laboratory values.

SOPER FL. Febre amarela. **O Hospital** 1942; 22(2):141-170.

SOPER F, SMITH H. Vaccination with virus 17D in control of jungle yellow fever in Brazil. In: **Acta Conventus Tertii de Tropicis atque Malariae Morbis**. Amsterdam; 1938. p. 295.

STOKES, A., BAUER, J.H., and HUDSON, N.PAUL. Experimental transmission of yellow fever to laboratory animals. **Am J Trop Med Hyg March** 1928 s1-8:103-164

STRANO J, DOOLEY JR, ISHAK KG. Manual sobre la fiebre amarilla y su diagnóstico diferencial histopatológico. Washington: OPS; 1975. **Publicación Científica n. 299**.

STRODE, GK. Yellow fever. New York: **McGraw-Hill**, 1951.

STRODE, G.K.; BUGHER, J.C.; AUSTIN-KERR, J.; SMITH, H.H.; SMITHBURN, K.C.; TAYLOR, R.M.; THEILER, M.; WARREN. A.J.; WHITMAN, L.; editors. *Yellow Fever*. New York, **McGraw-Hill Book Company**, Inc. 1951.

TESH, RB; GUZMAN H; TRAVASSOS DA ROSA APA; VASCONCELOS PFC; DIAS, LB; BUNNELL, JE; ZHANG, H; XIAO, SY. Experimental yellow fever virus infection in the Golden Hamster (*Mesocricetus auratus*). 1. Virologic, Biochemical and Immunologic studies. **Journal of infectious Diseases** 183: 1431- 1436, 2001.

TEIXEIRA L. Da transmissão hídrica a culicidiana: a febre amarela na sociedade de medicina e cirurgia de São Paulo. **Rev Bras Hist.** 2001;21(41):217-42.

THEILER, M.; The virus. In: STRODE, G.K. (ed). *Yellow Fever*. New York, **McGraw Hill**, p.46-136, 1951.

THEILER M, SMITH HH. The use of yellow fever virus modified by in vitro cultivation for human immunization. **The Journal of experimental medicine.** 1937 May;65(6):787-800.

TIGERTT, WD; BERGE TO; GOCHENOUR WS; GLEISER, CA; EVELAND, WC; BRUEGGE CV; SMETANA, HF. Experimental yellow fever. **Transactions of the New York Academy of Science** 22: 323-333, 1960.

TORRES, C. Magarinos. Alterações nucleares das células do fígado nas infecções de *Macacus Rhesus* e *M. Cynomolgus* pelo vírus da febre amarela. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz** [online]. 1928, vol.21, suppl.2, pp. 55-61. ISSN 0074-0276.

VARGAZ-MENDEZ O, NORMAN W. E; Naturally Acquired Yellow Fever in Wild Monkeys of Costa Rica. **Am J Trop Med Hyg** September 1953 2:850-863.

VASCONCELOS, PFC. Febre Amarela. Rio de Janeiro, 2000.

VASCONCELOS PFC, COSTA ZG, TRAVASSOS DA ROSA ES, LUNA E *et al.* An epidemic of jungle Yellow fever in Brazil, 2000. Implications of climatic alterations in disease spread. **J Med Virol** 2001; 65: 598-604.

VASCONCELOS, PFC; RODRIGUES SG; DÉGALLIER N; MORAES MAP; TRAVASSOS DA ROSA JFS; TRAVASSOS DA ROSA ES; MONDET B; BARROS VLRS; TRAVASSOS DA ROSA APA. An epidemic of sylvatic yellow fever in the southeast region of Maranhão State, Brazil, 1993-1994: epidemiologic and entomologic findings. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene** 57: 132-137, 1997.

VASCONCELOS PFC, TRAVASSOS DA ROSA APA, DEGALLIER N, TRAVASSOS DA ROSA JFS *et al.* Clinical and ecoepidemiological situation of human arboviruses in Brazilian Amazonia. **Braz J Assoc Advanc Sci** 1992; 44: 117-24.

VASCONCELOS PFC, TRAVASSOS DA ROSA APA, PINHEIRO FP, DEGALLIER N *et al.* Febre Amarela. In: Leão RNQ (Ed.). *Doenças Infecciosas e Parasitárias. Enfoque Amazônico*. Belém: Editora CEJUP; 1997. p. 265-84.

VASCONCELOS PFC, TRAVASSOS DA ROSA APA, PINHEIRO FP, RODRIGUES SG, TRAVASSOS DA ROSA ES *et al.* Inadequate management of natural ecosystem in the Brazilian Amazon region results in the emergence and reemergence of arboviruses. **Cad. Saúde Pública** 2001; 17 (Supl I): 155-64.

XIAO, SY; ZHANG, H; GUZMAN, H; TESH, RB. Experimental yellow fever virus infection in the Golden Hamster (*Mesocricetus auratus*). 2. **Pathology. Journal of Infectious Diseases**, 183: 1437-1444, 2001.

World Health Organization. Prevention and control of yellow fever in Africa; Geneva; 1985.

WANG E, WEAVER SC, SHOPE RE, TESH RB *et al.* Genetic variation in yellow fever virus: duplication in the 3 noncoding region of strains from Africa. **Virology** 1996, 225: 274-81.

CAPÍTULO II

INTRODUÇÃO

A febre amarela (FA) é uma doença infecciosa febril aguda, de origem viral, transmitida ao homem por meio da picada do mosquito infectado. Os vetores são mosquitos silvestres, principalmente dos gêneros *Haemagogus* – em especial o *Haemagogus Haemagogus Janthinomys* Dyar, 1921, no Brasil – e *Sabethes* Robineau-Desvoidy, 1827, que desempenham o papel de reservatórios para o vírus (HERVÉ, 1985).

Essas espécies são fortemente primatófilas e também antropofílicas, têm atividade diurna, especialmente nas horas de maior luminosidade e mais quentes do dia, sendo mais abundantes nas copas das árvores, lugar preferencial dos macacos (HERVÉ, 1983).

O agente etiológico é um arbovírus pertencente ao gênero *Flavivirus*, família Flaviviridae. O estudo do seu genoma é importante para estabelecer as diferenças genéticas entre as cepas isoladas. Estudos filogenéticos têm mostrado a existência de sete genótipos do vírus, sendo cinco na África e dois nas Américas (WANG et al., 1996; MUTEBI, 2001).

A FA apresenta dois ciclos epidemiológicos distintos: o ciclo silvestre e o ciclo urbano. Essas duas formas diferem entre si quanto à natureza dos transmissores e dos hospedeiros vertebrados e o local de ocorrência. Na Febre Amarela Urbana (FAU) o homem é o único hospedeiro com importância epidemiológica. Por outro lado, a Febre Amarela Silvestre (FAS) possui vários animais que podem atuar como hospedeiros para o vírus FA. Os PNH são, entretanto, os principais e mais sensíveis hospedeiros. Nos animais domésticos não tem sido reconhecida a doença e, portanto, não parecem ser susceptíveis ao vírus amarelíco (MONATH, 1988). No ambiente silvestre, no entanto, vários animais podem atuar como hospedeiros para o vírus FA. Os primatas não humanos (PNH) são, entretanto, os principais e mais sensíveis hospedeiros.

A FA é uma doença que representa uma importante causa de morbidade e letalidade em vastas zonas das regiões tropicais da África e das Américas, apesar de ser uma doença imunoprevenível (BRASIL, 2005).

Dentro da América do Sul, os grupos de maior risco para adquirir a doença são pessoas não vacinadas, principalmente aquelas oriundas de áreas indenes. Também aquelas que se deslocam para regiões de matas por motivo de lazer constituem grupos de alto risco. A incidência é maior durante os meses de maior pluviosidade, umidade e temperatura (janeiro a maio) correspondendo a uma maior atividade dos mosquitos *Haemagogus* que procriam em ocos das árvores e são dependentes da água das chuvas. A forma urbana foi eliminada na América no ano de 1954, mas ainda hoje ela ocorre na África (NOBRE et al., 1994; ROBERTSON, 1996). E não ocorre no Brasil desde 1942.

Até o ano de 1998 a vigilância da FA era baseada na notificação dos casos humanos. A partir de 1999 criou-se a vigilância de epizootias em PNH, como um dos componentes da vigilância da FA no Brasil, e funciona como evento sentinela para a ocorrência da doença em humanos, dando oportunidade ao desencadeamento das ações de prevenção e controle. Essa ferramenta é um dos componentes da vigilância epidemiológica da FA, juntamente com a vigilância entomológica e de casos humanos (BRASIL, 2005; BRASIL, 2009; BRASIL, 2011) e tem como objetivos prevenir a ocorrência de casos humanos da doença, reduzir a ocorrência de casos de FAS e identificar precocemente a circulação do vírus em seu ciclo epizootico, ou seja, entre os primatas.

O termo Epizootia é utilizado para definir a ocorrência de casos, de natureza similar, em populações animais no mesmo período de tempo e no mesmo lugar com intensidade nitidamente maior que a usual. Para efeito de vigilância, Epizootia foi definida como: “primata não humano de qualquer espécie, encontrado morto (incluindo ossadas) ou doente, em qualquer local do território nacional” (BRASIL, 2005). Epizootias em primatas podem indicar a circulação do vírus da FA, e a vigilância de tais surtos em animais silvestres é uma ferramenta importante para ajudar a prevenir a infecção humana (ALMEIDA et al., 2011).

Na última década no Brasil, a FA tem apresentado mudanças nas suas características epidemiológicas, surgindo em áreas fora da região amazônica, ressaltando a característica da expansão das áreas de ocorrência da FA no Brasil, além da região amazônica (ROMANO et al., 2011).

Existem poucos relatos de estudos nos quais mencionam as lesões causadas pelo vírus da FA em primatas. A grande maioria é proveniente de estudos experimentais realizados em primatas do velho mundo (rhesus), camundongos e hamsters, ou como resultado de necropsias realizadas em humanos, nos casos fatais. O objetivo deste trabalho é selecionar informações epidemiológicas de PNHs naturalmente infectados pelo vírus da FA, determinar a freqüência das principais lesões histológicas dos animais selecionados, estabelecer correlação entre as principais lesões histológicas nos primatas com FA e aplicar nos laboratórios de diagnóstico veterinário de apoio à rede de vigilância de epizootias.

MATERIAL E MÉTODO

Foram utilizadas informações de casos de FA em PNH com registros na vigilância eco-epidemiológica do Ministério da Saúde (MS). No banco de dados da vigilância, constava o total de 2.354 epizootias, envolvendo 3.972 PNHs, no período de 1999 a 2009. Do total, 10% dos animais (n= 403) foram confirmadas para FA.

Os registros de notificações ocorridas apenas nos eventos dos anos de 2002, 2007, 2008 e 2009 foram selecionados por apresentarem informações completas e dados consistentes para análise. Dessa forma, um único gênero de PNHs foi selecionado dos registros do MS, por conterem as informações necessárias e apresentarem um maior número de epizootias notificadas.

Dos animais com a doença, todos do gênero *Alouatta*, foram selecionados 25% (n= 99) para este estudo, que possuíam descrições dos achados anatomopatológicos dos seus órgãos e tecidos, assim como diagnóstico confirmado pela técnica de imuno-histoquímica de fragmentos hepáticos.

A técnica de imunohistoquímica é um método que permite a detecção de antígenos virais em cortes de tecidos fixados em formalina e emblocados em parafina, corados pela enzima (fosfatase alcalina ou peroxidase) marcada com anticorpo específico. Essa técnica deve ser adaptada à infecção viral suspeita, após diagnóstico histopatológico prévio. O diagnóstico histopatológico é realizado a partir de coleta de material post-mortem. As lesões anatomopatológicas podem ser encontradas no fígado, rins, baço, coração e linfonodos.

O diagnóstico definitivo da doença foi realizado pelos Laboratórios de Referências Nacional e Regional para a vigilância da FA do MS, o Instituto Evandro Chagas (IEC - Belém - PA) e Instituto Adolfo Lutz (IAL - São Paulo - SP). A confirmação da doença foi feita pelo exame de imuno-histoquímica realizado no IEC e no IAL. O anticorpo primário foi produzido e padronizado para o MS pelo Instituto Evandro Chagas.

As principais informações analisadas, procedentes das fichas de notificações de epizootias dos arquivos do MS (ficha de epizootia em anexo) foram município, unidade federada, ano de ocorrência e o tipo de ambiente onde o animal foi encontrado.

As informações descritivas das lesões contidas nos laudos histopatológicos emitidos pelos laboratórios de referências (IEC e IAL) foram ordenadas em tabelas, anotadas a sua presença ou ausência e analisadas. Foram avaliadas as principais lesões microscópicas encontradas no fígado, rim, baço, coração, pulmão e cérebro dos PNHs que morreram com FA.

Para as análises estatísticas, as alterações descritas nos laudos histopatológicos dos macacos positivos para FA foram categorizadas por órgão. Foram registrados os indivíduos que possuíam lesões em cada órgão e sua categoria. Calculou-se a prevalência das alterações histopatológicas para cada categoria, considerando-se os animais que apresentavam determinada alteração, divididos pelo total de animais analisados para aquele órgão. Os achados histopatológicos foram então divididos em três blocos:

a) Alterações histopatológicas frequentes: aquelas com frequência maior de 30% e com no mínimo 10 animais positivos/analisados;

b) Alterações histopatológicas comuns: aquelas com frequência entre 10 e 30%, e mais de 5 animais positivos;

c) Alterações histopatológicas esporádicas: aquelas com frequência menor do que 10% ou menos de 10 animais analisados.

Com o objetivo de caracterizar as alterações orgânicas que aconteciam associadamente nos animais infectados por FA foram desenvolvidas tabelas de contingência com pares das alterações histopatológicas nos órgãos, selecionadas entre as mais frequentes e comuns. Os dados foram testados através do Teste Exato de Fisher (com limite de significância de $\alpha=0,05$), para identificar associações significantes estatisticamente.

RESULTADOS

Apesar de terem ocorrido casos de FA em outros gêneros de PNHs no Brasil, animais do gênero *Alouatta* representaram a quase totalidade das notificações no banco de dados do Ministério da Saúde, do período de 1999 a 2009 (73%). De acordo com a identificação dos gêneros (n=3.476), dos animais positivos para FA, 97% (n= 391) pertenciam ao gênero *Alouatta*, e apenas 1,5% (n= 6) compreendiam os gêneros *Callithrix* e *Cebus*, não incluídos nesse estudo devido às informações e os dados incompletos.

Dos 99 PNHs do gênero *Alouatta* selecionados, 88% (n= 87) delas ocorreram em ambiente rural, 5% (n= 5) em ambiente urbano, e em 7% (n= 7), não foi informado o ambiente procedente.

No que diz respeito à procedência dos primatas acometidos por FA, observou-se que 87% (n= 86) eram do Rio Grande do Sul, distribuídos em 64 municípios diferentes. Minas Gerais e Goiás foram responsáveis por 4% (n= 4) dos casos cada um, os quais ocorreram em quatro municípios mineiros e quatro goianos. São Paulo foi responsável por 4% (n= 4) dos casos, distribuídos em três municípios e 1% (n= 1) do Distrito Federal.

O exame histopatológico das vísceras dos PNHs que morreram de FA evidenciaram no fígado principalmente apoptose de hepatócitos, correspondendo à formação dos corpúsculos de Councilman Rocha-Lima, lesões degenerativas, necróticas e inflamatórias decorrentes da infecção viral (Tabela 1). A associação da frequência de ocorrência das lesões descritas significativas ($p \leq 0,05$) nos órgãos dos animais com FA estão descritas na tabela (Tabela 6).

A apoptose de hepatócitos foi a lesão mais descrita no fígado e frequentemente associada às seguintes lesões: esteatose em 45% (n= 73) dos casos, necrose focal em 40% (n= 29) e hemorragia em 37% (n= 27) destes.

Nos rins foram descritas necrose tubular aguda, nefrite intersticial e glomerulite como principais lesões em primatas com FA (Tabela 2). A necrose tubular aguda e esteatose hepática, de forma concomitante, estavam presentes em 25% das amostras ($p= 0,01$).

Os principais achados histopatológicos no baço de PNHs que morreram por FA foram hiperplasia de polpa branca e de polpa vermelha, hemorragia e congestão

do órgão (Tabela 3). As principais lesões associadas entre diferentes órgãos dos primatas com FA foram necrose maciça no fígado e hiperplasia de polpa branca e congestão no baço; hepatite e hiperplasia de polpa branca. A necrose focal no fígado com hiperplasia de polpa vermelha no baço e nefrite intersticial associadas à hiperplasia de polpa vermelha no baço também estiveram frequentemente associadas. No coração, apesar de um bom número de amostras, mais de 85% dos casos não apresentaram alterações histopatológicas (Tabela 4). As principais lesões foram hemorragia, congestão, edema no miocárdio.

Os PNHs com FA apresentaram pneumonia intersticial, edema alveolar, hemorragia e congestão como principais alterações encontradas nos pulmões (Tabela 5). No exame do cérebro (n=8) foi observada apenas presença de congestão em 75% e edema em 50% das amostras.

Tabela 1 - Frequência das principais lesões histopatológicas encontradas no fígado (n=99) de PNHS com FA no Brasil entre 2002 a 2009 (Brasília 2012).

Lesão	n	%
Apoptose de hepatócitos (Corp. de Councilman Rocha-Lima)	73	74
Esteatose	35	35
Necrose focal	31	31
Necrose maciça	10	10
Necrose e degeneração mediozonal	4	4
Hepatite mononuclear	20	20
Hemorragia	30	30
Autólise	19	19

Tabela 2 - Ocorrência das principais lesões microscópicas encontradas no rim (n=72) de PNHS com FA no Brasil entre 2002 a 2009 (Brasília 2012).

Lesão	n	%
Necrose tubular aguda	42	58
Nefrite intersticial	25	35
Glomerulite	2	3
Autólise	21	29
Sem alterações dignas de nota	4	5,5

Tabela 3 - Principais lesões histopatológicas no baço (n=67) de PNHS com FA no Brasil entre 2002 a 2009 (Brasília 2012).

Lesão	n	%
Hiperplasia polpa branca	6	9
Hiperplasia polpa vermelha	19	28
Hemorragia	18	27
Congestão	18	27
Autólise	24	36
Sem alteração digna de nota	3	4

Tabela 4 - Lesões histopatológicas mais frequentes no coração (n=70) de PNHS com FA no Brasil entre 2002 a 2009 (Brasília 2012).

Lesão	n	%
Hemorragia	1	1
Congestão	5	7
Edema	2	3
Autólise	6	8,5
Sem alteração digna de nota	60	86

Tabela 5 - Principais lesões histopatológicas encontradas nos pulmões (n=62) de PNHS com FA no Brasil entre 2002 a 2009 (Brasília 2012).

Lesão	n	%
Pneumonia intersticial	12	19
Edema alveolar	7	11
Hemorragia	8	13
Congestão	7	11
Autólise	6	10
Sem alteração digna de nota	32	52

Tabela 6 – Frequência das principais lesões associadas mais comuns em PNHS com FA no Brasil entre 2002 a 2009 (Brasília 2012).

Lesão	Lesões correlacionadas	P
Apoptose de Hepatócitos	a) Esteatose hepática	0,0006
	b) Necrose Focal de Fígado	0,0026
	c) Hemorragia hepática	0,0237
Necrose Focal de Fígado	a) Hiperplasia de Polpa Vermelha	0,0003
Necrose Maciça de Fígado	a) Hiperplasia de Polpa Branca	0,0121
	b) Congestão de Baço	0,0118
Hepatite	a) Hiperplasia de Polpa Branca	0,0492
Nefrite Intersticial	a) Hiperplasia de Polpa Vermelha	0,0230

Testados pelo Fisher Exact Test, alfa = 0,05

DISCUSSÃO

Apesar da FA ser uma doença conhecida há vários séculos, desde a época do descobrimento das Américas e do Brasil, a doença nos primatas apresenta ainda aspectos pouco conhecidos, porém relevantes para o controle e prevenção da enfermidade. Os PNHs fazem parte de um importante elo na cadeia epidemiológica da doença, porém, existem poucos estudos nos quais são mencionadas as lesões causadas pelo vírus. Em sua grande maioria, este conhecimento é proveniente de estudos experimentais realizados em primatas do velho mundo (*rhesus*) (STOKES et al., 1928; TIGERTT et al., 1960), camundongos (FRANCO, 1969; HUDSON, 1928) e hamsters (XIAO et AL., 2001), ou como resultado da comparação com os achados de necropsias realizadas em humanos (FRANCO, 1969; BEARCROFT, 1957). As características das lesões patológicas em primatas das Américas, como do gênero *Alouatta*, em casos de ocorrência natural da FA são pouco descritas. Os gêneros de primatas acometidos por FA no Brasil são totalmente distintos daqueles descritos em estudos experimentais e em outras partes do mundo, não havendo até o momento, informações que comprovem a semelhança do quadro patológico da doença nessas espécies. Esse conhecimento poderia permitir a comparação com a FA em humanos, se existem variantes virais e dos animais quanto à patogenicidade, e ainda permitir a suspeita diagnóstica mais precoce da enfermidade, por meio do exame histopatológico, antes mesmo de outros testes confirmatórios.

As áreas consideradas de risco para a FA no país incluem as regiões Norte, Centro-oeste, Minas Gerais, Maranhão e parte dos Estados da Bahia, Piauí, São Paulo, Rio Grande do Sul, Santa Catarina e Paraná (BRASIL, 2009). Nos últimos anos essa doença tem apresentado mudanças nas suas características epidemiológicas, surgindo em áreas fora da região Amazônica, onde sempre ocorreu naturalmente associada a áreas de florestas (COSTA, 2005). O Brasil encontra-se dividido em duas áreas com relação ao risco de circulação do vírus amarelado. A primeira, representada por uma área com recomendação de vacinação, onde se concentra o maior risco para a doença. Na segunda, uma área sem recomendação de vacina, onde o risco para a enfermidade é mais remoto (BRASIL, 2009).

Mais de 80% das epizootias provocadas pelo vírus amarelado em primatas do período analisado foram registradas em ambientes rurais. A enfermidade vem sendo

descrita no Brasil apenas no seu ciclo silvestre. A aproximação entre os ambientes rurais, urbanos e peri-urbanos pode causar falhas nos registros e levar à afirmação errônea sobre a existência do ciclo urbano da doença. Por haver uma proximidade desses ambientes e o deslocamento dos animais entre ambiente rural e urbano, primatas positivos para FA podem ser encontrados em áreas totalmente urbanizadas, não significando que os mesmos se infectaram nessas áreas. No entanto, o que determina essa forma da doença é o seu vetor urbano, o *Aedes aegypti*. Os vetores silvestres são principalmente mosquitos dos gêneros *Haemagogus* e *Sabethes* (BRASIL, 2009).

No Brasil o gênero *Alouatta* compreendeu o maior número de notificações positivas para FA. Dentre os primatas infectados experimentalmente, o guariba (*Alouatta*) se mostrou mais sensível e suscetível ao vírus amarelado. Os guaribas, infectados com doses mínimas do vírus da FA desenvolvem infecção fulminante, comportamento similar aos casos humanos fatais. Os macacos pregos mostraram-se mais refratários ao vírus da FA, mesmo quando infectados com doses maciças, raramente desenvolveram doença grave (LAEMMERT & KUMM, 1950; STRODE, 1951). Os resultados obtidos neste trabalho apontaram que o *Alouatta* mostra-se mais sensível a esse vírus do que os demais gêneros do novo mundo.

As principais lesões descritas no fígado foram apoptose de hepatócitos, correspondendo à formação dos corpúsculos de Councilman Rocha-Lima, lesões degenerativas, necróticas e inflamatórias decorrentes da infecção viral. Ainda foi possível observar, mesmo em menor quantidade, necrose maciça e necrose e degeneração médio-zonal.

A apoptose de hepatócitos foi a lesão mais encontrada neste órgão. Hamsters experimentalmente infectados pelo vírus amarelado apresentaram a apoptose de hepatócitos como uma das lesões mais frequentes (TESH, 2001). Em humanos, essa alteração hepática também é bastante observada (QUARESMA et al, 2007). A ocorrência dessa lesão é citada como um evento tardio da infecção vírica, e tal agressão explicaria a ausência de processo inflamatório celular na FA, a preservação da arquitetura celular na maioria dos casos e a completa regeneração do órgão sem fibrose nos sobreviventes (MONATH, 1981). O Corpúsculo de Councilman-Rocha Lima é considerado como a lesão mais característica e indicativa da FA, mesmo que não patognomônica (PINHEIRO, 1978; VASCONCELOS, 2000).

Em primatas do gênero *Alouatta* encontrados mortos em áreas florestais de Trinidad com FA, foram observados com frequência no fígado os Corpúsculos de Councilman (ANDERSON & DOWNS, 1955).

O diagnóstico diferencial das infecções por FA e outros *Flavivirus* podem ser dificultadas no histopatológico pela semelhança dos achados histopatológicos. Boa parte dos *Flavivirus* produzem a formação de corpúsculos de Councilman, esteatose hepática em graus variáveis (macro-microesteatose). Nas infecções por dengue e outros *Flavivirus*, a necrose hepatocelular focal tende a ser paracentral (na zona 3 ao redor da veia central) em vez de médio-lobular como na FA (ELISAF et al., 1993).

Em primatas mortos, na Costa Rica, foram realizados diagnósticos baseados nos achados microscópicos dos fígados desses animais. Foi observada presença de Corpúsculos de councilman, os quais mostraram-se resistentes ao grau de autólise dos órgãos chegando à alterações de putrefação. Essa resistência à autólise representa um fenômeno raramente encontrado, exceto em fígados alterados por lesões de FA (VARGAZ-MENDEZ, 1953).

A esteatose foi o processo degenerativo mais frequentemente observado nos primatas infectados pelo vírus da FA no Brasil no período avaliado. Trata-se de um achado comum nos casos de FA, encontrada tanto em células necrosadas como preservadas (PINHEIRO, 1978; VASCONCELOS, 2000). Assim como nos casos humanos, os fígados de macacos *Rhesus* experimentalmente infectados, também mostram lesões marcantes e o mesmo tipo de degeneração gordurosa médio-zonal (HUDSON, 1928). A presença de esteatose (degeneração gordurosa) é citada com bastante frequência nos casos de FA em primatas. Em hamsters, também observou-se após 5-6 dias pós-infecção pelo vírus amarelo, presença de esteatose lobular microvesicular em todos os animais. A degeneração gordurosa é considerada como uma lesão característica da FA (FRANCO, 1969).

A FA apresenta duas propriedades bem características: viscerotropismo e neurotropismo. O primeiro ocasiona danos no fígado, baço, rins e coração e o segundo, causa encefalite tanto em humanos como em PNH. As lesões tendem a se localizar nos lóbulos hepáticos, atingindo dentro de um mesmo lóbulo, certas estruturas, preservando outras (THEILER, 1951; MONATH, 2003). Experimento com macacos *rhesus* inoculados, mostrou que o vírus amarelo infecta as células de Kupffer e os hepatócitos, causa necrose em grandes extensões do parênquima hepático, preferencialmente nas áreas médio-zonais, poupando as extremidades do

lóbulo (BEARCROFT, 1957; TIGERTT, 1960; PINHEIRO, 1983). Ainda em macacos *rhesus* inoculados com a cepa vírica *Asibi* foram observados diversos achados de necropsia, entre os quais icterícia, hemorragia e palidez de várias partes e as alterações do fígado, rim e baço. Lesões acometendo o fígado são consideradas as alterações mais freqüentes em macacos *Alouatta* durante epidemia de FA (VARGAZ-MENDEZ, 1953). Esses fatos reforçam o fato de que parece existir uma preferência do vírus amarelado por esses órgãos, principalmente pelo fígado, como relatado no início deste parágrafo.

A necrose focal foi observada em parte das amostras. Observou-se ainda uma associação significativa na ocorrência de necrose focal e apoptose de hepatócitos. No fígado de macacos *rhesus* experimentalmente inoculados, o vírus da FA infecta as células de Kupffer e os hepatócitos causando degeneração acidófila em zonas focais durante o período inicial da replicação viral. A lesão progride para degeneração baloniforme de hepatócitos, e posteriormente, necrose do tipo hialina. O vírus amarelado causa necrose em grandes extensões do parênquima hepático, preferencialmente nas áreas médio-zonais, poupando as extremidades do lóbulo, sendo raro o encontro de células necrosadas antes do terceiro dia pós inoculação (TIGERTT, 1960; PINHEIRO, 1983; BEARCROFT, 1957).

A necrose médio-zonal é observada ainda em outras viroses (dengue, hepatite fulminante), no entanto, mostra-se predominante na infecção amarelada. Nas áreas médio-zonais necrosadas na FA, raramente há desorganização da arquitetura normal. Na hepatite fulminante, a desorganização torna-se evidente. Em alguns casos, quando a necrose na FA mostra-se muito extensa o diagnóstico histopatológico mostra-se mais difícil (PINHEIRO, 1978). Em macacos *rhesus* a necrose no fígado mostrou-se essencialmente médio-zonal na FA (HUDSON, 1928).

Foi observada hemorragia em cerca de 30% das amostras. Essa característica esteve presente no fígado, baço, coração e pulmão, sendo mais encontrada no fígado, e em seguida no baço. A hemorragia é citada com freqüência em diversos órgãos nos casos de FA, tanto em humanos como em primatas (HUDSON, 1928). Em fígados de macacos infectados naturalmente em Trinidad, assim como em macacos *rhesus* experimentalmente infectados visualizou-se áreas extensas de hemorragia sob a cápsula (BALFOUR, 1914). Acredita-se que a principal causa de hemorragias na FA seja decorrente à falência hepática com a redução na produção de fatores de coagulação (SANTOS, 1973).

A hepatite foi observada em 20 % das amostras. A hepatite não é uma lesão muito citada na literatura, apesar do fígado ser o órgão mais afetado pelo vírus da FA. À inoculação do vírus amarelo em hamsters, alguns animais apresentam quadro viscerotrópico de hepatite fulminante (TESH, 2001). Entretanto, é importante ressaltar que infiltrado inflamatório discreto é frequentemente observado no exame histopatológico hepático e nem sempre associado às doenças.

A principal lesão encontrada no rim foi necrose tubular aguda, em mais de 50% das amostras, seguida de nefrite intersticial. Em estudo experimental em macacos *rhesus*, o rim mostrou-se aumentado quando comparado aos animais controle (STOKES et al., 2001).

Em um macaco bugio (*Alouatta*) naturalmente infectado por FA, no Rio Grande do Sul, foi observada degeneração tubular renal (SALLIS, 2003). Em humanos e macacos, a principal lesão renal associada com infecção pelo vírus da FA é caracterizada por necrose de coagulação do epitélio tubular renal sem inflamação (TESH, 2001).

Insuficiência do parênquima renal também é um dos processos patológicos semelhantes entre humanos e macacos *rhesus* com FA (TESH, 2001). Alterações degenerativas agudas nos rins foram encontradas em casos humanos e em primatas (HUDSON, 1928). A necrose tubular aguda na FA provoca elevações dos níveis plasmáticos de uréia e creatinina, e na urina, albuminúria. Em humanos a necrose tubular aguda pode levar à morte junto a outras complicações (MONATH, 1988).

No baço a hiperplasia de polpa vermelha foi a alteração mais relatada nos animais com FA. Na polpa vermelha ocorre a hemocaterese e armazena elementos do sangue, especialmente de leucócitos e plaquetas e remove partículas e antígenos circulantes (GENE P. SEARCY, 2001). A hiperplasia de polpa vermelha reflete a proliferação dos cordões esplênicos resultando da proliferação dos macrófagos e plasmócitos, principalmente em resposta antigênica.

A hiperplasia de polpa branca foi relatada em 9% das amostras. Esta lesão também foi observada em estudo experimental em hamsters, nos dias 3 e 4 pós-infecção (TESH, 2001). A polpa branca faz parte do sistema de defesa (sistema imune), constituída por linfócitos e plasmócitos, e diante de infecções produz anticorpos protetores, causando uma hiperplasia, devido ao aumento do número de linfócitos dos centros germinativos (COELHO, 2002).

Nas amostras do coração, observou-se que 86% delas não apresentaram alterações relevantes. Das lesões descritas, observou-se a presença de congestão, edema e hemorragia, mas em pequena quantidade. Em estudo comparativo de humanos e primatas *rhesus*, indicaram congestão e hemorragia cardíacas como alterações presentes nos tecidos humanos e de macacos, com ausência de células inflamatórias (HUDSON, 1928). Em estudo experimental em macacos *rhesus*, não foram observadas alterações significativas no coração dos animais (TESH, 2001). Hamsters infectados também não mostraram alterações patológicas específicas no coração (TESH, 2001). Aparentemente o coração não é um órgão de grande relevância para o diagnóstico da FA. No entanto, não significa que devemos deixar de coletá-lo diante de uma epizootia suspeita. Mesmo sem apresentar grandes alterações histopatológicas há possibilidade de isolamento do vírus deste órgão (BRASIL, 2005).

No pulmão observou-se que 52% das amostras não apresentaram alterações relevantes; as demais alterações detectadas foram pneumonia intersticial, hemorragia, congestão e edema alveolar. Alterações hemorrágicas foram visualizadas nos pulmões dos *rhesus*, bem como de casos humanos com FA (TESH, 2001). Em estudo comparativo entre humanos e *rhesus* com a doença, foi relatada presença de hemorragia na pleura e pulmões (SALLIS, 2003; BRASIL, 2005; BRASIL 2011).

No cérebro observou-se apenas presença de congestão e edema. Sabe-se que a inoculação do vírus amarelo em camundongos causa encefalite fatal. Todos os animais adoecem com FA, onde praticamente todas as regiões do SNC são gravemente acometidas (TESH, 2001). Estudo experimental em macacos mostrou que o vírus amarelo, quando inoculado por via subcutânea ou intraperitoneal em animais sensíveis, produz infecção severa, geralmente fatal, com grave dano cerebral e hepático. Após passagens seriadas em cérebro de macaco, o vírus amarelo perde muito do seu viscerotropismo e neurotropismo, só produzindo encefalite nesses animais por inoculação intracerebral (KINDLOVITS, 2009). É importante ressaltar que a coleta de cérebro de primatas diante da ocorrência de epizootias é importante ainda para o diagnóstico diferencial nos casos de raiva e de outras enfermidades que acometem esses animais.

CONCLUSÕES

- O vírus amarelo tem sido registrado apenas em ambientes rurais e silvestres;
- Dos órgãos descritos, os principais achados histopatológicos foram encontrados no fígado; estes resultados indicam que o fígado é o órgão mais importante para o diagnóstico da FA;
- As principais lesões descritas no fígado foram apoptose de hepatócitos, correspondendo à formação dos corpúsculos de Councilman Rocha-Lima, lesões degenerativas, necróticas e inflamatórias decorrentes da infecção viral.

REFERÊNCIAS

ALMEIDA, MAB; SANTOS, E; CARDOSO, JC; MAEDA, AM; SOUZA, RP; KANAMURA, C and BRASIL, RA. Yellow Fever Outbreak Affecting Aouatta Populations in Southern Brazil (Rio Grande do Sul State), 2008-2009. **American Journal of Primatology** 73: 1-9 (2011).

ANDERSON, CHARLES R; DOWNS, WILBUR G. **Am. J. Trop. Med. Hyg.**; 4(4):662-4, 1955.

AMARAL, R; TAUJIL, PL. Duas ameaças de um mosquito: febre amarela e dengue. **A Saúde no Brasil**, v.1, n.4, out./dez. 1983.

BALFOUR, A. 1914, The wild monkey as a reservoir for the virus of yellow fever, **The Lancet**, Volume 183, Issue 4730, 25 April 1914, Pages 1176-1178

BEARCROFT, WGC. The histopatology of the liver of yellow fever-infected Rhesus monkeys. **Journal Pathology of Bacteriology**. 74: 295-303, 1957.

BENCHIMOL J, editor. Febre amarela: a doença e a vacina, uma história inacabada. Rio de Janeiro: **FIOCRUZ**; 2001. 469 p.

BRASIL. **Guia de Vigilância Epidemiológica**. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. 7^a edição. Série A. Normas e Manuais Técnicos. Brasília. p 25-26. 2009.

BRASIL. **Manual de Vigilância de Epizootias de Primatas não Humanos**. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. 1^a edição. Serie A. Normas e Manuais Técnicos. 58p. Brasília, 2005.

BRASIL. Febre Amarela Silvestre, Brasil, 2009. Emergências em Saúde Pública de Importância Nacional (ESPIN) de Febre Amarela Silvestre em São Paulo e no Rio Grande do Sul e a Situação Epidemiológica Atual no Brasil (2008/2009). Ministério da Saúde. **Boletim eletrônico**. 2009 Disponível em http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/boletim_febre_amarela_09_12_09.pdf. Acesso em 03/04/2011.

BRASIL. **Manual de Vigilância e Controle da febre amarela**. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Brasília. p.94. 2011. (No prelo).

BRASIL. Ministério da Saúde. **Portaria N.º 104, de 26 de janeiro de 2011**. Define as terminologias adotadas em legislação nacional, conforme disposto no Regulamento Sanitário Internacional 2005 (RSI 2005), a relação de doenças, agravos e eventos em saúde pública de notificação compulsória em todo o território nacional e estabelecer fluxo, critérios, responsabilidades e atribuições aos profissionais serviços de saúde. Diário Oficial da União, Seção I, n. 18, p. 37, Brasília. 2011b. Disponível em http://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/gm/2011/prt0104_25_01_2011.html. Acesso em 01 de fevereiro de 2011.

BRÉS PLJ. A century of progress in combating yellow fever. **Bulletin of the World Health Organization** 64:775-786, 1986.

CLARK, H. C. 1952, Endemic yellow fever in Panama and neighboring areas, **Am. J. Trop. Med. and Hyg.** 1: 78-86.

COELHO, H. E. **Patologia Veterinária.** Patologia Especial, Sistema Hemocitopoiético, p 185- 190; 2002

COLIJAS, N. ANDSOUTHWICKC,. 1952, A field study of population density and social organization in howling monkeys, **Proc. Am. Philosoph. Soc.** 96:143-156.

COSTA ZGA. Estudo das características epidemiológicas da febre amarela no Brasil, nas áreas fora da Amazônia Legal, período de 1999-2003 [**Dissertação**]. Brasília-DF: Escola Nacional de Saúde Pública Sergio Arouca; 2005.

COSTA ZGA, et al. Evolução histórica da vigilância epidemiológica e do controle da febre amarela no Brasil. **Rev. Pan-Amaz Saúde** 2011; 2 (1); 11-26.

COUNCILMAN, W. N, T. 1890, Report on the etiology and prevention of yellow fever, by George M.Sternberg, U. S. Marine Hospital Service, Government Printing Office, Washington, D. C. pp. 151-159.

DÉGALLIER N, TRAVASSOS DA ROSA APA, VASCONCELOS PFC, TRAVASSOS DA ROSA ES, RODRIGUES SG, SÁ FILHO GC, et al. New entomological and virological data on the vectors of sylvatic yellow fever in Brazil. **J Braz Assoc Advanc Sci** 1992;44:136-142.

ELISAF M, STEFANAKI S, REPANTI M, KORAKIS H, TSIANOS E, SIAMOPOULOS KC. Liver involvement in hemorrhagic fever with renal syndrome. **J Clin Gastroenterol.** 1993;17:33–37.

ELKHOURY, A. N. S. M.; *et al.* Situação Epidemiológica das Zoonoses de Interesse em Saúde Pública. Febre Amarela – 2009. **Boletim Eletrônico Epidemiológico.** Secretaria de Vigilância em Saúde. Ministério da Saúde. Ano 10, n. 10, p. 24. Abril 2010. Disponível em http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/boletim_eletronico_02_ano10.pdf. Acesso em 13.04.2011

FRANCO O. **História da febre amarela no Brasil.** Departamento Nacional de Endemias Rurais, Ministério da Saúde, Rio de Janeiro, 1969. 200 p.

GENE P. SEARCY, **Thomson's special veterinary pathology.** The Hemopoietic Systemm. Cap 7. 2000; 373-377p.

HERVÉ JP, TRAVASSOS DA ROSA APA. Ecologia da febre amarela no Brasil. **Rev Fund Sesp** 1983; 28(1):11-19.

HERVÉ JP, DÉGALLIER N, TRAVASSOS DA ROSA APA, SÁ FILHO GC. A Febre amarela silvestre no Brasil e os riscos de propagação urbana. **Hiléia Médica** 1985; 7(1):31-40.

HUDSON, N. P., **Am J Pathol**. 1928. The Pathology of Experimental Yellow Fever in the Macacus Rhesus: III Comparison with the Pathology of Yellow Fever in Man. September; 4(5): 419–430.9.

HUDSON, N. P., **Am J Pathol**. 1928. The Pathology of Experimental Yellow Fever in the Macacus Rhesus: I Gross Pathology (5): 395–406.1.

KINDLOVITS, LM; KINDLOVITS, A. Febre Amarela. **Clínica e Terapêutica em Primatas Tropicais**. L.F. Livros. 2ª Ed. Rio de Janeiro. P.27-51, 171-209, 401-418. 2009.

KUMM, H. W. 1951, Personal communication.

LAEMMERT, H. W. ANDKIMM, H. W. 1950, The susceptibility of howler monkeys to yellow fever virus, **Am. J. Trop. Med.** 30: 723-731.

LEWIS MJ. Yellow fever activity in Trinidad: an historical review, 1620-1978. In: Studies on the natural history of yellow fever in Trinidad. Edited by Tikasingh ES. **Carec Monograph Series 1**, CAREC/PAHO/WHO; 1991. 1, 6-13.

LIMA, M.A.; ROMANO-LIEBER, N.S.; DUARTE, A.M.R.C.; Circulation of antibodies against yellow fever virus in a simian population in the area of Porto Primavera Hydroelectric Plant, São Paulo, Brazil. **Rev. Inst. Med. Trop.** São Paulo, v.52, n.1, p.11-15, 2010.

MONATH TP; BRINKER KR; CHANDLER FW; KEMP GE; CROPP CB. Pathophysiologic correlations in a rhesus monkey model of yellow fever: with special observations on the acute necrosis of B cell areas of lymphoid tissues. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene** 30: 431- 443, 1981.

MONATH, TP. Epidemiology of yellow fever: current status and speculations on future trends, SALUZZO, JF. DODET B (Ed). In: **Factors in the Emergence of Arbovirus Diseases**, Elsevier, Paris, p. 143-156, 1997.

MONATH, TP. Yellow fever: Na update. **Lancet Infectious Diseases** 1: 11-20, 2001.

MONATH, T. P. – *Yellow fever*. In: PLOTKIN, S.A.; ORENSTEIN, W.A.; eds. *Vaccines*, 4ª edição. Philadelphia, W.B. Saunders, p.1095-1176, 2003.

MONDET B, TRAVASSOS DA ROSA APA, VASCONCELOS PFC. Les Risques d'épidémisation urbaine de la fièvre jaune au Brésil pour le vecteurs *Aedes aegypti* et *Aedes albopictus*. **Bull Soc Pathol Exot** 1966;89:107-114.

MONDET B. Considérations sur l'épidémiologie de la fièvre jaune au Brésil. **Bull Soc Pathol Exot** 2001;94:260-267.

MUTEBI JP, Wang H, Li L, Bryant JE, Barrett ADT. Phylogenetic and Evolutionary Relationships along yellow fever virus isolates in Africa. **J Virol** 2001; 85: 6999-7008.

NOBRE A, ANTEZANA D, TAUIL PL. Febre amarela e dengue no Brasil: epidemiologia e controle. *Rev Soc Bras Med Trop* 1994; 27(Supl III): 59-66.

OLIVEIRA, S. V; BARROS, S; LOPES, J. T. S; Vigilância da Febre Amarela em Caçapava do Sul, Rio Grande do Sul, Brasil: um relato da epizootia, 2008-2009. Relato de caso. **Revista Pan-amaz. Saúde**; v.1, n.1, p. 181-186. 2012.

PIGNATTI MG. Saúde e ambiente: as doenças emergentes no Brasil. **Ambient Soc.** 2004 janjun; 7(1):133-47.

PINHEIRO, FP; MORAES, MAP. Febre Amarela. In: Neves J (ed.) **Diagnóstico e tratamento das doenças infecciosas e parasitárias**, 2 ed, Editora Guanabara-Koogan, Rio de Janeiro, p. 303-314, 1983.

PINHEIRO, FP; TRAVASSOS DA ROSA A.P.A., MORAES, M.A.P., NETO, J.C.A., CAMARGO, S., FILGUEIRAS, F.P.. An epidemic of yellow fever in central Brazil, 1972-1973. I. Epidemiological studies. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 27: 125-132, 1978.

QUARESMA, J.A.S., BARROS, V.L.R.S., PAGLIARI, C., FERNANDES, E.R., DE ANDRADE Jr., H.F., VASCONCELOS, P.F.C., DUARTE, M.I.S.. Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene (2007) 101, 161-168 **Hepatocyte lesions and cellular immune response in yellow fever infection**

ROBERTSON SE, HULL BP, TOMORI O, BELE O et al. Yellow Fever. A decade of reemergence. *J Am Med Assoc* 1996; 276: 1157-62.

ROMANO, A.P.M.; RAMOS, D.G.; ARAUJO, F.A.A.; SIQUEIRA, G.A.M; RIBEIRO, M.P.D.; LEAL, S.G.; ELKHOURY, A.N.S.M. Febre Amarela no Brasil: recomendações para a vigilância, prevenção e controle. **Epidemiol Serv Saude.** 2011;20(1):101-6.

Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. 2011, p. 6 http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/rev_epi_vol20_n1.pdf.

ROMERO A, TRONCOSO M C . La vigilancia epidemiológica: significado e implicaciones en la práctica y en la docencia. **Cuad Med Soc.** 1981;17:17-28.

SALLIS, E.S.V.; GARMATZ, S.L.; FIGHERA, R.A.; BARROS, V.L.R.S.; GRAÇA, D.L.. Surto de Febre Amarela em Bugios. **Acta Scientiae Veterinariae.** v.31, n.2, p.115-117, 2003. Disponível em: <http://iah.iec.pa.gov.br/iah/fulltext/pc/artigos/2003/Acta%20Scientiae%20Veterinariae%20v31n2p115-%20117%202003.pdf>. Acesso em 13.03.2011.

SBRANA, E., XIAO, S.Y., POPOV, V.L., NEWMAN, P.C.. TESH*, R.B., **Am. J. Trop. Med. Hyg.**, 74(6), 2006, pp. 1084–1089. Experimental yellow fever virus infection in the golden hamster (*Mesocricetus auratus*) III. Clinical laboratory values.

SANTOS F. Dosagem dos fatores da coagulação na febre amarela. Tese de Doutorado, Universidade federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 1973.

SOPER FL. Febre amarela. **O Hospital** 1942; 22(2):141-170.

SOPER F, SMITH H. Vaccination with virus 17D in control of jungle yellow fever in Brazil. In: **Acta Conventus Tertii de Tropicis atque Malariae Morbis**. Amsterdam; 1938. p. 295.

STOKES A, BAUER J.H., and HUDSON, N.PAUL. The transmission of yellow fever to *Macacus rhesus*. **Rev. Med. Virol.** 2001; 11: 141-148.

STRANO J, DOOLEY JR, ISHAK KG. Manual sobre la fiebre amarilla y su diagnóstico diferencial histopatológico. Washington: OPS; 1975. **Publicación Científica n. 299**.

STRODE, GK. (Ed) Yellow fever. New York, **McGraw-Hill Book Co**, 1951, 725 pp.

STRODE, G.K.; BUGHER, J.C.; AUSTIN-KERR, J.; SMITH, H.H.; SMITHBURN, K.C.; TAYLOR, R.M.; THEILER, M.; WARREN. A.J.; WHITMAN, L.; editors. *Yellow Fever*. New York, **McGraw-Hill Book Company**, Inc. 1951.

TESH, RB; GUZMAN H; TRAVASSOS DA ROSA APA; VASCONCELOS PFC; DIAS, LB; BUNNELL, JE; ZHANG, H; XIAO, SY. Experimental yellow fever virus infection in the Golden Hamster (*Mesocricetus auratus*). 1. Virologic, Biochemical and Immunologic studies. **Journal of infectious Diseases** 183: 1431- 1436, 2001.

TEIXEIRA L. Da transmissão hídrica a culicidiana: a febre amarela na sociedade de medicina e cirurgia de São Paulo. **Rev Bras Hist.** 2001;21(41):217-42.

THEILER, M.; The virus. In: STRODE, G.K. (ed). *Yellow Fever*. New York, **McGraw Hill**, p.46-136, 1951.

THEILER M, SMITH HH. The use of yellow fever virus modified by in vitro cultivation for human immunization. **The Journal of experimental medicine.** 1937 May;65(6):787-800.

TIGERTT, WD; BERGE TO; GOCHENOUR WS; GLEISER, CA; EVELAND, WC; BRUEGGE CV; SMETANA, HF. Experimental yellow fever. **Transactions of the New York Academy of Science** 22: 323-333, 1960.

VARGAZ-MENDEZ O, NORMAN W. E; Naturally Acquired Yellow Fever in Wild Monkeys of Costa Rica. **Am J Trop Med Hyg** September 1953 2:850-863.

VASCONCELOS, PFC. Febre Amarela. Rio de Janeiro: Sociedade Brasileira de Pediatria, 2000.

VASCONCELOS PFC, COSTA ZG, TRAVASSOS DA ROSA ES, LUNA E *et al.* An epidemic of jungle Yellow fever in Brazil, 2000. Implications of climatic alterations in disease spread. **J Med Virol** 2001; 65: 598-604.

VASCONCELOS, PFC; RODRIGUES SG; DÉGALLIER N; MORAES MAP; TRAVASSOS DA ROSA JFS; TRAVASSOS DA ROSA ES; MONDET B; BARROS VLRS; TRAVASSOS DA ROSA APA. An epidemic of sylvatic yellow fever in the southeast region of Maranhão State, Brazil, 1993-1994: epidemiologic and entomologic findings. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene** 57: 132-137, 1997.

VASCONCELOS PFC, TRAVASSOS DA ROSA APA, DEGALLIER N, TRAVASSOS DA ROSA JFS *et al.* Clinical and ecoepidemiological situation of human arboviruses in Brazilian Amazonia. **Braz J Assoc Advanc Sci** 1992; 44: 117-24.

VASCONCELOS PFC, TRAVASSOS DA ROSA APA, PINHEIRO FP, DEGALLIER N *et al.* Febre Amarela. In: Leão RNQ (Ed.). Doenças Infecciosas e Parasitárias. **Enfoque Amazônico**. Belém: Editora CEJUP; 1997. p. 265-84.

VASCONCELOS PFC, TRAVASSOS DA ROSA APA, PINHEIRO FP, RODRIGUES SG, TRAVASSOS DA ROSA ES *et al.* Inadequate management of natural ecosystem in the Brazilian Amazon region results in the emergence and reemergence of arboviruses. **Cad. Saúde Pública** 2001; 17 (Supl I): 155-64.

XIAO, SY; ZHANG, H; GUZMAN, H; TESH, RB. Experimental yellow fever virus infection in the Golden Hamster (*Mesocricetus auratus*). 2. **Pathology. Journal of Infectious Diseases**, 183: 1437-1444, 2001.

World Health Organization. Prevention and control of yellow fever in Africa; Geneva; 1985.

WANG E, WEAVER SC, SHOPE RE, TESH RB *et al.* Genetic variation in yellow fever virus: duplication in the 3 noncoding region of strains from Africa. **Virology** 1996, 225: 274-81.

CAPÍTULO III

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os PNH fazem parte de um importante elo na cadeia epidemiológica da FA como hospedeiros do vírus amarelo. A ocorrência de epizootias nesses animais pode sinalizar a possível circulação do vírus da FA na região e possibilita o desencadeamento de ações preventivas, protegendo a saúde da população humana exposta. Essa é uma importante ferramenta que vem sendo utilizada nos serviços de saúde do país, com o objetivo de reduzir o número de casos da doença em humanos e principalmente detectar de forma precoce a circulação viral ainda no seu ciclo natural (entre os PNH). Apesar de ser antigo o conhecimento sobre a participação dos PNH no ciclo da FA, é recente a utilização dessa ferramenta como preditora do risco para ocorrência dos casos humanos da doença, com pouca descrição na literatura, no entanto foi possível observar sua efetividade desde que foi implantada pelo Ministério da Saúde.

Atualmente no Brasil, o vírus amarelo tem sido registrado apenas em ambientes rurais e silvestres, oferecendo risco às pessoas que moram ou circulam por essas áreas.

De acordo com as informações obtidas neste estudo, podemos afirmar que o vírus amarelo acomete primatas de diferentes gêneros, porém o *Alouatta* indicou ser o mais acometido dentre os outros gêneros, que também são susceptíveis à doença. No Brasil o gênero *Alouatta* compreendeu o maior número de notificações positivas para FA. Dos órgãos descritos (fígado, rim, baço, coração, pulmão e cérebro), os principais achados histopatológicos foram encontrados no fígado. Os resultados indicam que este é o órgão mais importante para o diagnóstico da FA.

A recomendação do Ministério da Saúde aos serviços de vigilância dos Estados e Municípios, diante de epizootias suspeitas de FA em PNHs, é que seja realizada coleta de material para o diagnóstico e que o fígado seja o principal órgão, além das outras vísceras que também são importantes para o diagnóstico da doença. Faz-se necessário destacar ainda que o preenchimento dos dados

epidemiológicos contidos nas fichas de notificações de epizootias é de extrema importância para a obtenção de dados consistentes e verdadeiros.

Os resultados aqui apresentados mostram que existe semelhança entre os achados histopatológicos da doença nos humanos e animais, no entanto há necessidade de mais estudos para aprofundar os conhecimentos a respeito da doença nos diversos gêneros de primatas brasileiros. Existe a necessidade de aperfeiçoamento do sistema de vigilância de epizootias por meio do aumento na taxa de coleta de amostras em tempo oportuno, e conseqüentemente, um diagnóstico laboratorial rápido e eficaz.

ANEXO I – FICHA DE NOTIFICAÇÃO DE EPIZOOTIAS EM PNH

República Federativa do Brasil
Ministério da Saúde

SINAN

SISTEMA DE INFORMAÇÃO DE AGRAVOS DE NOTIFICAÇÃO

FICHA DE NOTIFICAÇÃO/ INVESTIGAÇÃO EPIZOOTIA

Nº

Definição do caso: Animal ou grupo de animais encontrados doentes e/ou mortos, incluindo ossadas, sem causa definida, que podem preceder a ocorrência de doenças em humanos

Dados Gerais	1	Tipo de Notificação		2- Individual		
	2	Agravado/doença			3	
	4		5		6	
	7		8		9	
Dados de Ocorrência	10	11		12		
	13		14		15	
	16		17		18	
	19		20		21	
	22		23		24	
	25		26		27	
	28		29		30	
	31		32		33	
	34		35		36	
	37		38		39	
	40		41		42	

Observações:

Investigador	Município/Unidade de Saúde		Código da Unid. de Saúde	
	Nome	Função	Assinatura	

Sinan NET

SVS 21/08/2008