



**UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA  
FACULDADE DE AGRONOMIA E MEDICINA VETERINÁRIA**

**Lesões hepáticas em primatas não-humanos naturalmente infectados no surto de FA no Brasil, 2014-2018.**

**PEDRO HENRIQUE DE OLIVEIRA PASSOS  
DISSERTAÇÃO DE MESTRADO EM CIÊNCIAS ANIMAIS**

**BRASÍLIA/DF  
FEVEREIRO DE 2020**



**UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA  
FACULDADE DE AGRONOMIA E MEDICINA VETERINÁRIA**

**Lesões hepáticas em primatas não-humanos naturalmente infectados no surto de FA no Brasil, 2014-2018.**

**PEDRO HENRIQUE DE OLIVEIRA PASSOS**

**ORIENTADOR: MARCIO BOTELHO DE CASTRO**

**DISSERTAÇÃO DE MESTRADO EM CIÊNCIAS ANIMAIS**

**PUBLICAÇÃO: 218/2020**

**BRASÍLIA/DF  
FEVEREIRO DE 2020**



**UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA  
FACULDADE DE AGRONOMIA E MEDICINA VETERINÁRIA**

**Lesões hepáticas em primatas não-humanos naturalmente infectados no surto de FA no Brasil, 2014-2018.**

**PEDRO HENRIQUE DE OLIVEIRA PASSOS**

**DISSERTAÇÃO DE MESTRADO  
SUBMETIDA AO PROGRAMA DE PÓS-  
GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS ANIMAIS,  
COMO PARTE DOS REQUISITOS  
NECESSÁRIOS À OBTENÇÃO DO GRAU  
DE MESTRE EM CIÊNCIAS ANIMAIS.**

**APROVADA POR:**

---

**MARCIO BOTELHO DE CASTRO, Dr (Universidade de Brasília)  
(ORIENTADOR)**

---

**CRISTIANO BARROS DE MELO, Dr. (Universidade de Brasília)**

---

**ALESSANDRO PECEGO M. ROMANO, Dr. (Ministério da Saúde)  
(EXAMINADOR EXTERNO)**

**BRASÍLIA/DF, 19 DE FEVEREIRO DE 2020.**

**PASSOS, P. H. O. Lesões hepáticas em primatas não humanos naturalmente infectados no surto de febre amarela no Brasil, 2014 à 2018.** Brasília: Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Universidade de Brasília, 2020, 49p. Dissertação de Mestrado.

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

**FICHA CATALOGRÁFICA**

PASSOS, Pedro Henrique de Oliveira. **Lesões hepáticas em primatas não humanos naturalmente infectados no surto de febre amarela no Brasil, 2014 à 2018** Brasília: Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Universidade de Brasília, 2020, 49 p.

Dissertação (Mestrado em Ciências Animais) - Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária da Universidade de Brasília, 2020.

1. Febre amarela
2. Primatas
3. Histopatologia
4. Infecção
5. diagnóstico.

## AGRADECIMENTOS

Agradeço em primeiro lugar a Deus e a Nossa Senhora por ter me dado forças e iluminado meu caminho para que pudesse concluir mais uma etapa da minha vida;

A Nayara Braga Aidar, tão querida e amada, por todo amor e dedicação que sempre teve comigo, mulher pela qual tenho maior orgulho de chamar de esposa, meu eterno agradecimento pelos momentos em que estive ao meu lado, me apoiando e incentivando a crescer. Te amo;

Aos meus pais, José Henrique dos Passos e Elizabeth de O. Passos, tão amados, homem e mulher que tenho o maior orgulho de chamar de pai e mãe, meu eterno agradecimento por serem muito dedicados, amigos, incentivadores e pessoas incríveis;

As minhas irmãs Gabriella e Danielle, por todo amor que vocês têm por mim. Não posso deixar de lembrar da minha sobrinha Clara que está chegando e logo alegrará as nossas vidas.

Ao meu amigo e orientador Marcio Botelho, pela atenção em especial neste trabalho, ensinamentos e paciência durante todo o mestrado;

Aos professores da Universidade de Brasília, pela paciência, dedicação e ensinamentos disponibilizados nas aulas;

Aos amigos e colegas de trabalho do Ministério da Saúde, Alessandro Pecego Martins Romano e Daniel Garkauskas Ramos, pela paciência, compreensão, ensinamentos e pelo os incentivos na busca de novos conhecimentos no meio profissional e acadêmico;

A todos os amigos e colegas da “equipe de referência nacional para emergência em saúde das Arboviroses Silvestres”, aqui faço um agradecimento especial ao amigo Marco Antônio Barreto de Almeida, pelo apoio e incentivos;

Ao Ministério da Saúde e todos os laboratórios de referência para diagnóstico de Febre Amarela, aqui faço um agradecimento especial aos laboratórios de Patologia Veterinária da UNB, do Instituto Evandro Chagas (SAPAT/IEC) e da Fundação Oswaldo Cruz (INI/Fiocruz), por disponibilizar as amostras e os dados desse trabalho, e por contribuir com a Saúde Pública no Brasil.

E por fim, um agradecimento especial àqueles que aqui não citei e que contribuíram direta ou indiretamente para a realização deste sonho.

## ÍNDICE

LISTA DE TABELA.....	VII
LISTA DE FIGURAS .....	VIII
RESUMO .....	IX
ABSTRACT .....	X
CAPÍTULO I: FEBRE AMARELA E OS PRIMATAS NÃO HUMANOS .....	11
1. INTRODUÇÃO.....	11
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA .....	14
2.1. PRIMATAS DO BRASIL .....	15
2.2. FEBRE AMARELA .....	17
2.3. SUSCEPTIBILIDADE DOS PRIMATAS E PRINCIPAIS LESÕES HEPÁTICAS DE FA 20	
3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	23
CAPÍTULO II: LESÕES HEPÁTICAS EM PRIMATAS NÃO HUMANOS NATURALMENTE INFECTADOS NO SURTO DE FEBRE AMARELA NO BRASIL, 2014 À 2018. ....	28
1. INTRODUÇÃO.....	28
2. MATERIAL E MÉTODO .....	30
3. RESULTADOS .....	33
4. DISCUSSÃO .....	35
5. CONCLUSÕES .....	40
6. REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA.....	41

## LISTA DE TABELA

Tabela 1. Frequência e comparação das proporções de presença de lesões entre os gêneros de primatas não humanos .....	45
Tabela 2. Análise comparativa da localização e intensidade das lesões hepáticas entre os três gêneros de primatas. ....	46

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Distribuição espaço-temporal das epizootias em PNH selecionadas para o estudo, Brasil, janeiro/2014 a dezembro/2018.....	47
Figura 2. Lesões hepáticas mais frequentes entre os gêneros de PNHs. ....	48
Figura 3. Primatas não-humanos naturalmente infectados pelo vírus da FA, fígado.....	49

## RESUMO

A febre amarela (FA) é uma doença viral infecciosa, causada por um vírus do gênero *Flavivirus*, transmitido por vetores e que acomete humanos e primatas não humanos (PNH). Os primatas atuam como importantes hospedeiros do vírus, cuja mortes sugerem a possível ocorrência do vírus amarelíco. Foi realizado um estudo retrospectivo a partir dos registros de amostras de PNH coletados pela rede de vigilância de epizootias do Ministério da Saúde (MS), durante o surto registrado no Brasil, entre os anos de 2014 a 2018. Foram selecionadas para o estudo, amostras de tecido hepático de primatas dos gêneros *Callithrix* (n=31), *Alouatta* (n=30) e *Sapajus* (n=14), todas com diagnóstico imuno-histoquímico positivo para FA e consideradas confirmadas pelo sistema nacional de vigilância epidemiológica da FA. A partir da leitura das lâminas histopatológicas foram avaliadas a localização anatômica e a intensidade de cada lesão hepática. As lesões hepáticas mais frequentes foram apoptose dos hepatócitos, necrose, dissociação dos cordões de hepatócitos, esteatose microvacuolar, hemorragia, congestão e infiltrado inflamatório de neutrófilos e células mononucleares. Nos três gêneros a região mediozonal apresentou com maior frequência e intensidade nas lesões mais relevantes para diagnóstico da FA.

**Palavras-chave:** febre amarela, primatas, histopatologia, infecção, diagnóstico.

## ABSTRACT

Yellow fever (YF) is an infectious disease caused by a virus of the genus *Flavivirus*, transmitted by mosquitoes and which affects humans and non-human primates (NHP). Primates act as important hosts, whose deaths suggest a possible circulation of the virus. A retrospective study was carried out, based on the records of NHP deaths by the Ministry of Health within the reemergence period registered in Brazil, between 2014 and 2018. Samples of liver tissue from NHP of the genera *Callithrix* (n = 31), *Alouatta* (n = 30) and *Sapajus* (n = 14) were selected for the study, all of them with positive immunohistochemical diagnosis and confirmed for YF by the national epidemiological surveillance system. From the reading of the histopathological slides, the anatomical location and the intensity of each liver injury were evaluated. The most frequent liver injuries were apoptosis of hepatocytes, necrosis, dissociation of hepatocyte cords, microvacuolar steatosis, hemorrhage, congestion, and inflammatory infiltrate of neutrophils and mononuclear cells. In all genera, the mediozonal region showed greater frequency and intensity in the most relevant lesions for the diagnosis of YF.

**Keywords:** yellow fever, primates, histopathology, infection, diagnosis.

# CAPÍTULO I: FEBRE AMARELA E OS PRIMATAS NÃO HUMANOS

## 1. INTRODUÇÃO

A febre amarela (FA) é uma doença viral infecciosa, não contagiosa, de curta duração, causada por um vírus do gênero *Flavivirus*, transmitido por vetores e que acomete humanos e primatas não humanos (PNH) (MONATH, 2001). É uma doença imunoprevenível, com uma vacina produzida com vírus vivo atenuado desde a década de 1930. (MONATH & VASCONCELOS, 2015). A vacina da FA visa proteger pessoas que se expõem áreas de risco e viajantes (JENTES et al, 2011).

A FA é uma doença que representa uma importante causa de morbidade e mortalidade em vastas zonas das regiões tropicais da África e das Américas (VASCONCELOS, 2003). A doença apresenta dois ciclos epidemiológicos distintos: 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 do vírus. O outro é um ciclo silvestre, complexo, onde várias espécies de mosquitos são responsáveis pela transmissão, diferindo de acordo com o continente: na África, os transmissores são mosquitos do gênero *Aedes* e na América do Sul são mosquitos dos gêneros *Haemagogus* e *Sabethes* (STRODE, 1951), que vivem nas copas das árvores e que desempenham o papel de reservatórios para o vírus (HERVÉ et al, 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 primatas (HERVÉ, 1983; LEÃO, 1997). Neste ciclo os macacos atuam como hospedeiros, amplificadores e disseminadores do vírus. A infecção no ser humano ocorre de forma acidental quando adentra em ambientes silvestres, não vacinado previamente (DEGALLIER et al, 1992; MONDET et al, 1996).

Os PNHs são os principais hospedeiros do vírus da FA. Nas Américas, todos os gêneros de primatas testados, se mostraram sensíveis e suscetíveis ao vírus amarílico. Nesses animais, os sinais e sintomas são semelhantes aos da doença em humanos (STRODE, 1951; KINDLOVITS, 2009).

Uma última grande epidemia de FA urbana 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 et al, 1969).

O ciclo silvestre foi descoberto em 1932 no estado do Espírito Santo (SOPER, 1937), 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 caracteriza-se por manifestar em forma de surtos, geralmente em áreas silenciosas há décadas ou extrapolando áreas consideradas de risco (COSTA et al, 2011).

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 primatas, enquanto hospedeiros primários do vírus amarelo (SOPER, 1942). Todos os primatas do Novo Mundo, principalmente o gênero *Alouatta*, também são suscetíveis a infecções letais, e as epizootias associadas à morte de macacos podem preceder a ocorrência de casos humanos, tornando-se uma ferramenta útil de vigilância da FA (MORENO et al, 2009). Por outro lado, quase todos os PNHs africanos têm infecções virêmicas e inaparentes. Isso reflete a origem do vírus da FA na África há milhares de anos e uma coevolução equilibrada de vírus e hospedeiros (MONATH & VASCONCELOS, 2015).

A estratégia de vigilância e controle da FA no Brasil busca prevenir ocorrência de doenças em humanos, identificando áreas com circulação viral, além de impedir a reintrodução do vírus em áreas urbanas por meio da imunização (MASSAD, et al. 2005; ROMANO et al, 2011; BRASIL, 2017). No entanto, com a necessidade de detecção precoce da circulação viral, criou-se no Brasil a vigilância de epizootias em PNH, como um dos componentes da vigilância da FA. Essa estratégia funciona como evento sentinela para a ocorrência da doença em humanos, dando oportunidade para o desencadeamento das ações de prevenção e controle. As epizootias em PNH indicam a circulação do vírus como uma ferramenta importante para ajudar a prevenir a infecção humana (ALMEIDA et al., 2011; ROMANO et al, 2011).

Nas últimas décadas 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). No entanto, mais recentemente, no período de monitoramento 2014/2015, a reemergência do vírus da FA foi registrada além dos limites da área considerada endêmica, manifestando-se por epizootias em PNH confirmadas na região Norte e Centro Oeste. Nos

períodos de monitoramentos 2016/2017, 2017/2018 e 2018/2019, foi registrado um dos eventos mais expressivos da história da FA no Brasil. A dispersão do vírus alcançou a costa leste brasileira, na região do bioma Mata Atlântica, que abriga uma ampla diversidade de PNH e de potenciais vetores silvestres e onde o vírus não era registrado há décadas (BRASIL, 2019).

No Brasil existem poucos estudos detalhados em primatas acometidos naturalmente pelo vírus amarelo, 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 (HUDSON, 1928) e hamsters (XIAO et al., 2001), ou como resultado de necropsias realizadas em humanos (BEARCROFT, 1957). No entanto, a partir de amostras de PNH que foram acometidos pelo vírus amarelo durante o surto de FA, foram comparados os padrões e a gravidade da lesão hepática nos PNH dos gêneros *Alouatta*, *Callithrix* e *Sapajus*. Assim, foi avaliada a frequência das alterações histopatológicas hepáticas e a intensidade das lesões de acordo com a localização nos três gêneros de primatas, e determinadas as possíveis diferenças entre eles.

## 2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Nos últimos tempos, o estudo dos primatas tem recebido grande atenção, devido a sua semelhança anatômica, fisiológica e etiológica com a espécie humana, conhecimento que certamente auxiliou nosso próprio crescimento cultural e que muito tem auxiliado nos conhecimentos a cerca da fragilidade que se encontram a maioria das espécies, devido principalmente, à destruição do ambiente onde vivem (AURICCHIO, 1995; DEFLER, 2003; VOEVODIM & MARX, 2009).

Os primatas são mamíferos placentários bem adaptados ao ambiente arborícola e a escolha por este ambiente, forçou-os a uma série de adaptações na Ordem, como por exemplo, a visão tornar-se o sentido mais desenvolvido, já que o olfato, no ambiente arbóreo, era ineficiente para seguir rastros ou procurar alimentos, sendo utilizado principalmente para reconhecimento intra-específico (AURICCHIO, 1995; REIS, 2006).

Os representantes da ordem Primates possuem um corpo que mantém características primitivas da Classe Mammalia, tais como membros pentadáctilos e clavícula, mas que apresenta também características distintas relacionadas ao aumento do tamanho cerebral (especialmente córtex), à mobilidade dos dedos, a um aumento da importância da visão e redução do olfato (especialmente nas espécies diurnas) e a um aumento do período pós-natal, entre outras (REIS, 2006 *oput* NAPIER & NAPIER, 1967).

Esta ordem é considerada a primeira na escala zoológica por ser a mais evoluída do reino animal. Está dividida em duas subordens: PROSIMII e ANTHROPÓIDEA. A primeira inclui os prossímios, que são evolutivamente mais primitivos, a segunda divide-se em dois grandes grupos: a infra-ordem CATARRHINI e a PLATYRRHINI (REIS, 2006; VOEVODIM & MARX, 2009).

Os macacos do Velho Mundo pertencem à infra-ordem CATARRHINI (do grego, *Kata* = inferior, e *Rhinos* = naris), que inclui as quatro famílias de primatas: Cercopithecidae, Hylobatidae, Pongidae e Hominidae. Os primatas do Novo Mundo, ou primatas neotropicais, pertencem à infra-ordem Platyrrhini (do grego: *Platy* = largo, chato, e *Rhinos* = nariz), sendo que a posição da abertura das narinas é voltada para os lados, apresentando o septo nasal largo e um focinho curto (REIS, 2006; KINDLOVITS, 2009; MITTERMEIER et al, 2013).

Os macacos do Novo Mundo compreendem as espécies que vivem exclusivamente nas florestas tropicais das Américas do Sul e Central. São macacos de tamanho pequeno e médio (100g a pouco mais de 10kg), arborícolas, que possuem uma locomoção predominantemente quadrúpede, com algumas espécies apresentando uma cauda preênsil (REIS, 2006).

Uma diferenciação básica entre os primatas catarrinos e platirrinos é que os primeiros possuem as narinas voltadas para baixo em um focinho longo, enquanto os platirrinos possuem as narinas voltadas para os lados, em um focinho mais curto. Os platirrinos possuem grande diversidade de padrões de coloração, assim como grande área de distribuição geográfica, e por esse motivo, vez ou outra ocorre divergências na classificação de alguns gêneros (CUBAS, 2006).

## 2.1. Primatas do Brasil

Os primatas neotropicais são classificados em cinco famílias mais abrangentes (Callitrichidae, Cabidae, Aotidae, Phitheciidae e Atelidae), e 19 gêneros (*Cebuella*, *Mico*, *Callithrix*, *Saguinus*, *Leontopithecus*, *Callimico*, *Saimiri*, *Cebus*, *Sapajus*, *Aotus*, *Callicebus*, *Pithecia*, *Chiropotes*, *Cacajao*, *Alouatta*, *Ateles*, *Lagothrix*, *Oreonax* and *Brachyteles*), 110 espécies e 205 subespécies (RYLANDS, 2000; RYLANDS et al, 2016).

No Brasil, são conhecidos 139 táxons de Primatas (espécies e subespécies), muitas das quais endêmicas do país. Existem muitas controvérsias referentes à classificação taxonômica dos platirrinos devido a possuírem grande diversidade de padrões de coloração, além de uma grande área de distribuição geográfica. Para tanto, diversos especialistas fizeram mudanças na sistemática dos *Platyrrhini* levando em consideração aspectos associados à filogenia e a taxonomia por meio da morfologia e da genética (CUBAS, 2006; KINDLOVITS, 2009).

### *Callithrix*

São popularmente conhecidos como: Saguí-de-tufos-brancos, mico-estrela, saguí-de-tufos-pretos, saguí-de-cara-branca, saguí-de-Wied, saguí-da-serra, saguí-estrela-preto (RAYLANDS, 2009).

Tem peso entre 373 a 450g e pelagem estriada no dorso e calda, geralmente com ornamentos pilosos nas orelhas. São basicamente insetívoros-gumívoros, e, para a gumivoria, os incisivos inferiores são longos e estreitos facilitando o roer dos troncos de árvores gumíferas. Formam grupos de até dez indivíduos, que ocupa uma área de uso de 1,5ha. Habitam a floresta Atlântica e Amazônica, savanas, cerrado e caatinga. Tem preferência por florestas primárias ou degradadas (AURICCHIO, 1995; GARBER, 2017).

Esse gênero possui uma ampla distribuição nas regiões Sul, Sudeste, Centro-oeste e Nordeste do Brasil. Os *Callithrix* ocupam áreas de floresta estacional semidecidual, floresta ombrófila densa, florestas ripárias, manchas de caatinga arbórea e caatinga arbustiva, e ainda

áreas urbanas e ambientes fragmentados (AURICCHIO, 1995; GARBER, 2017; MITTERMEIER et al, 2013)

### *Sapajus*

Fazem parte deste gênero o Macaco-prego. Esse gênero possui ampla distribuição na América do Sul, com 8 espécies descritas com ocorrência no Brasil: *Sapajus apela*, *Sapajus cay*, *Sappajus flavius*, *Sapajus libidinosus*, *Sapajus macrocephalus*, *Sapajus nigritus*, *Sapajus robustus*, e *Sapajus xanthosternos* (SILVA, 2010; TORRES DE ASSUMPÇÃO, 2014).

Habita quase toda a região neotropical e seu habitat é o mais diversificado dos primatas neotropicais, utilizando todos os estratos arbóreos de florestas chuvosas inundáveis ou não, florestas primárias, secundárias, caatinga, palmeiras, campos e mangues, conseqüentemente adaptando-se a uma alimentação onívora grandemente variada (AURICCHIO, 1995; RYLANDS & MITTERMEIER, 2009).

No *habitat* natural vivem em grupos de 7 a 10 indivíduos, estando sujeitos à sazonalidade alimentar que determina os melhores períodos para acometerem as cópulas e os nascimentos dos filhotes. Mede de 0,32 a 0,56 cm de comprimento, sua cauda mede 0,30 a 0,55 cm, que pode ser utilizada como ponto de apoio quando se posiciona em pé ou para dar-lhe equilíbrio enrolando-se ao redor de um ramo, mas não é propriamente preênsil. Pesam em média, 3 kg sendo sua densidade de 35 indivíduos por Km<sup>2</sup> e sua biomassa de 96 Kg por Km<sup>2</sup> (AURICCHIO, 1995; CUBAS, 2007; KINDLOVITS, 2009).

### *Alouatta*

São conhecidos como: Guariba, bugio, barbado ou gritador (KINDLOVITS, 2009; AURICCHIO, 1995).

Este gênero apresenta a maior distribuição geográfica dentre todos os gêneros de primatas neotropicais. Sua distribuição geográfica é muito ampla, se estendendo do Sul do México ao Norte da Argentina. No Brasil, podemos encontrá-los no Amazonas, Pará, Maranhão, Paraíba, Ceará, Mato Grosso, Goiás, Minas Gerais, São Paulo, Bahia, Espírito Santo, Rio de Janeiro, Santa Catarina e Rio Grande do Sul. Habita em florestas montanhosas úmidas ou em vegetação mais aberta, como no cerrado, na caatinga ou em florestas de araucárias, em altitudes que oscilam entre 0 a 1.200 m, além de serem encontrados em habitats fragmentados e antropizados (REIS, 2006; KINDLOVITS, 2009; KOWALEWSKI & RAÑO, 2017).

São animais maciços, com vasta barba sob a face nua de pele negra. Cauda preênsil com palma. Ventre e peito com pouca pelagem. É um dos poucos gêneros que possui dimorfismo sexual. O comprimento total da cabeça e corpo varia de 420 a 630 mm e o da cauda, de 485 a 690 mm. Vivem em grupos de quatro a seis indivíduos, podendo chegar até 15, sendo sua área de uso de 1 a 20 há, apresentando uma densidade populacional em torno de 80 animais por Km<sup>2</sup>, mas, em algumas áreas, podem chegar a 150 indivíduos por Km<sup>2</sup> (AURICCHIO, 1995; REIS, 2006; KINDLOVITS, 2009).

Alimentam-se de folhas, principalmente folhas novas e frutos, que recolhem antes dos outros primatas devido à capacidade de detoxificar as defesas químicas de muitas plantas, abrindo para si mesmo um grande suprimento que outros primatas não podem consumir (AURICCHIO, 1995).

## **2.2. Febre Amarela**

A febre amarela (FA) é uma doença viral infecciosa aguda, não contagiosa, de curta duração, imunoprevenível, causada por um vírus do gênero *Flavivirus*, transmitido por vetores e que acomete humanos, primatas não humanos (PNH) (MONATH, 2001). A doença é endêmica nas regiões tropicais da América do Sul e da África (BARRETT & HIGGS, 2007; MONATH et al, 2012).

No continente Africano, existem três ciclos de transmissão diferentes, um intemediario, um urbano e um silvestre. Nas Américas, apenas dois ciclos epidemiológicos são conhecidos, um urbano entre o homem e o mosquito *Aedes aegypti*, e um silvestre, que ocorre entre PNH e mosquitos silvestres, principalmente dos gêneros *Haemagogus* e *Sabethes* (VASCONCELOS, 2003). O ciclo silvestre foi descrito pela primeira vez na década de 1930, no Brasil no estado do Espírito Santo, desde então a FA é considerada como uma zoonose silvestre (SOPER, 1936; MONATH, 1999; TAUIL, 2010).

Estima-se que 80 a 90% dos casos humanos acometidos pela FA, apresentam-se nas formas clínicas leves ou moderadas e que evoluem para a cura, enquanto entre 10% e 20% desenvolvem quadros graves com letalidade em torno de 50%. A forma clássica se caracteriza por um quadro ictero-hemorrágico tanto em humanos como em primatas (VASCONCELOS, 2003). As pessoas mais acometidas são geralmente indivíduos jovens, do sexo masculino que realizam atividades em ambiente rural ou silvestre sem vacinação prévia (VASCONCELOS, 2000; VASCONCELOS, 2003).

### **Agentes etiológicos**

O vírus da FA (VFA) pertence ao gênero *Flavivirus* da família *Flaviviridae* (do latim *flavus* = amarelo). Possui o genoma constituído de RNA de fita simples não segmentado com polaridade positiva e cerca de 11 kilobases de comprimento. O genoma completo possui 10.862 nucleotídeos que codificam 3.411 aminoácidos (RICE et al, 1985; VASCONCELOS, 2003)

O VFA pertence ao mesmo gênero e família de outros vírus responsáveis por doença no homem, entre os quais o Dengue, do Nilo Ocidental, o Rocio e o Saint Louis. Embora apenas um sorotipo do vírus amarílico seja reconhecido, há pequenas alterações genéticas entre as cepas da América e da África que permitem atualmente caracterizar dois e cinco genótipos, respectivamente, não se sabendo se um é mais patogênico que o outro (ACHA, 2003; VASCONCELOS, 2003).

### **Aspectos epidemiológicos**

A FA, nas Américas, apresenta dois ciclos epidemiológicos diferentes, febre amarela silvestre e febre amarela urbana. A forma silvestre é endêmica nas regiões tropicais da África e das Américas. Os vetores transmissores da FA são considerados verdadeiros reservatórios, pois uma vez infectados assim permanecem por toda vida. Os macacos atuam como hospedeiros amplificadores, que ao se infectarem morrem ou curam-se, e assim tornam-se imunes. Ou seja, a persistência do VFA no organismo dos mosquitos infectados é por toda sua vida e assim, mais longa do que a viremia nos macacos (VASCONCELOS, 2000; VASCONCELOS, 2003).

Na África, a FA apresenta três ciclos epidemiológicos, o silvestre, o rural ou peri-urbana e urbana. A transmissão silvestre se faz principalmente pelo *Aedes africanus*, vetor de hábitos silvestres. Em áreas de savanas, os transmissores são principalmente o *Aedes furcifer* e o *Aedes taylori*. Nas savanas secas o transmissor é o *Aedes luteocephalus* (DIGOUTTE et al, 1983).

Diferente da África, no Brasil os vetores responsáveis pela transmissão da FA são os mosquitos dos gêneros *Haemagogus* e *Sabethes*. O *Hg. Janthinomys* é o principal responsável pela transmissão do VFA (HERVÉ & TRAVASSOS DA ROSA, 1983). É o mosquito com a maior distribuição geográfica e possui hábitos estritamente silvestres, ou seja, só faz o repasto sanguíneo quando o indivíduo adentra no ambiente silvestre. O *Hg. Janthinomys* em infecções experimentais, se infecta com baixas doses do vírus, e é primatófilo, ou seja, se alimenta

preferencialmente de macacos e secundariamente no homem, e apresenta atividade diurna, período em que a maioria das pessoas que adoecem realizam suas atividades nos ambientes silvestres. Tais características explicam por que esta espécie é tão hábil em transmitir o vírus, o que torna este mosquito, o principal transmissor da FA no Brasil (VASCONCELOS et al., 1997).

Na África e nas Américas os hospedeiros silvestres primários do VFA são os primatas (STRODE, 1951). A ocorrência de epidemias, é sinalizada com a morte ou adoecimento de primatas e todos os primatas das Américas se mostram susceptíveis ao vírus amarelado, principalmente o gênero *Alouatta* (VASCONCELOS, 2000).

### **Patogenia**

Em humanos, três estágios clínicos da doença foram descritos no quadro clássico da FA. A doença começa com febre de aproximadamente 39°C, dor de cabeça, mal-estar, fotofobia, dor nas costas, mialgia, irritabilidade, inquietação, náusea e vômito (MONATH, 2001; VASCONCELOS, 2003). O período de viremia dura de 3 a 5 dias (KERR, 1951). O período de infecção é seguido por um tempo de remissão, que pode durar de 12h a 2 dias. Nesse estágio, o paciente se sente melhor, com uma sensação de recuperação, mas de repente fica gravemente doente com sinais de insuficiência hepática e renal, o que caracteriza o terceiro estágio, ou seja, o período de intoxicação. Durante esse estágio, os pacientes desenvolvem febre hemorrágica grave e disfunção de múltiplos órgãos acompanhada de icterícia, oligúria ou anúria, instabilidade cardiovascular e diátese hemorrágica (MONATH, 2001; VASCONCELOS, 2003). Nos primatas, os sinais e sintomas são semelhantes aos da doença em humanos (CUBAS, 2006; KINDLOVITS, 2009).

Imediatamente após a inoculação do VFA, por um mosquito transmissor na circulação sanguínea, em poucas horas o vírus se replica nos linfonodos regionais e depois se espalha para os outros órgãos, causando lesões, como consequência do efeito citopático viral direto ou devido a alterações secundárias a resposta imune do hospedeiro (QUARESMA, 2006). Nos linfonodos, o vírus amarelado infecta preferencialmente células linfóides e macrófagos, aí realizando o ciclo replicativo. Posteriormente, com a liberação das partículas virais pelas células, elas são levadas pelos vasos linfáticos até a corrente sanguínea, iniciando o período de viremia, quando é atingindo o fígado pela via hemática. O período de viremia varia de acordo

com a clínica do paciente, sendo de algumas horas até dois dias nas formas leves e de até cinco a sete dias nas formas mais graves (VASCONCELOS, 2003).

Na patogênese da FA, o vírus provoca dois padrões distintos inerentes à FA, o *viscerotropismo* e *neurotropismo*. O viscerotropismo em primatas, incluindo humanos causam lesões em múltiplos órgãos, como fígado, baço, coração e rins (THEILER, 1951; MONATH, 2003). Na FA de fato, o fígado é o principal órgão afetado. As principais lesões hepáticas são necrose eosinofílica, apoptose de células hepáticas, macroesteatose e microesteatose, localizadas principalmente na região mediozonal e por último um escasso infiltrado inflamatório (COUNCILMAN, 1890; QUARESMA et al. 2005).

No exame macroscópico, observa-se icterícia 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, frequentemente, 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, principalmente após escoamento do sangue (SALLIS et al, 2003).

### **2.3. Susceptibilidade dos primatas e principais lesões hepáticas de FA**

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 primatas não humanos (macacos), enquanto hospedeiros primários do vírus amarelado (SOPER, 1942).

No continente africano, os macacos mostram-se mais resistentes ao vírus e, por conseguinte, ainda que desenvolvam a infecção, raramente sucumbem à mesma. Isto permite a rápida renovação da população símia, o que facilita a manutenção do vírus numa área e encurta os períodos inter-epidêmicos (BARNETT, 2007).

Nas Américas, todos os gêneros de PNHs infectados experimentalmente, se mostraram sensíveis e suscetíveis ao vírus amarelado. Alguns primatas possuem maior susceptibilidade ao vírus da FA como, por exemplo, o guariba ou bugio (gênero *Alouatta*), outros apresentam

resistência, como o macaco prego (gênero *Sapajus*). Os guaribas ou bugios, infectados com doses mínimas do vírus da FA 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. O macaco prego se mostra mais refratários ao VFA (STRODE, 1951). Esses animais mesmo infectados com doses maciças raramente desenvolvem doença grave. Eles desenvolvem infecção subclínica ou quadro febril fugaz, há viremia, e segue-se a produção de anticorpos protetores que neutralizam futuras reinfecções (VASCONCELOS, 2000).

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

A inoculação do vírus amarílico em camundongos desencadeia encefalite fatal. 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, 1997).

Os hamsters (*Mesocricetus auratus*) têm sido usados como modelo alternativo para o estudo do viscerotropismo do vírus da febre amarela; há vantagens econômicas aliados ao fácil manejo dos animais em laboratório (XIAO, 2001). Em infecções experimentais, usando hamsters jovens, encontra-se o vírus na corrente sanguínea cerca de 48 horas após a inoculação. O título viral cresce rapidamente até 96 horas. Decresce em seguida também rapidamente, para raramente ser encontrado após 120 horas da inoculação (TESH, 2001). 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 em um lóbulo, as áreas centrais entre o espaço porta e a veia centro lobular são mais atingidas pela necrose, conhecida como necrose mediozonal, semelhante ao que ocorre em humanos e símios (XIAO, 2001).

No fígado de macacos rhesus experimentalmente inoculados, o vírus infecta as células de Küpffer 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, 1960). Em seguida, ocorre degeneração baloniforme e, posteriormente, necrose do tipo hialina

detectável cerca de 3 dias pós a inoculação, sem ocorrer aparentes lesões nos hepatócitos (TIGERTT, 1960). Nessas células, o vírus amarelíco causa necrose em grandes extensões do parênquima hepático, preferencialmente nas áreas mediozonais, poupando as extremidades do lóbulo, sendo raro o encontro de células necrosadas antes do terceiro dia pós-inoculação (PINHEIRO-MORAES,1983).

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 (MONATH, 2001). Em outro experimento em símios, Monath, 1981, relata 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 constitui evento tardio, tornando-se evidente nas 24 a 48 horas que antecedem o óbito. Se desconhece a razão do tropismo viral pelas células da região mediozonal. A ocorrência de apoptose também constitui evento tardio da infecção e tal agressão explica a virtual ausência de processo inflamatório celular na febre amarela, a preservação da arquitetura celular na maioria dos casos e a completa regeneração do órgão sem fibrose nos sobreviventes (MONATH, 1981). O mesmo padrão tem sido observado em hamsters inoculados via intraperitoneal com amostra viral adaptada a esses animais (XIAO, 2001).

Ainda que a necrose médio-zonal seja observada em outras viroses como o vírus dengue e mesmo em alguns casos de hepatite fulminante, ela predomina na infecção amarelíca. Nas áreas médio-zonais necrosadas na febre amarela, 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 febre amarela mostra-se muito extensa o diagnóstico histopatológico fica muito difícil (PINHEIRO, 1978; QUARESMA *et al*, 2007).

### 3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ACHA, P. N.; SZYFRES, B. Zoonosis y Doenças Transmisíveis Comunes al Hombre y a los Animales. Organización Panamericana de Salud. Tercera Edición. v.II. Clamidiosis, rickettsiosis y virosis. p. 80-105. Publicación Científica y Técnica N° 580. OPS. 2003. Washington, DC, EUA.
- AMARAL, R; TAUIL, PL. Duas ameaças de um mosquito: febre amarela e dengue. A Saúde no Brasil, v.1, n.4, out./dez. 1983.
- AURICCHIO, P. Primatas do Brasil.. São Paulo, Brasil. Terra Brasilis Comércio de Material Didático e Editora, p. 168, 1995.
- BARNETT, E. D. Yellow Fever: Epidemiology and Prevention. Emerging Infections, v. 44, n.15, p. 850-856, March, 2007.
- BARRETT, A.D. HIGGS, S. Yellow fever: a disease that has yet to be conquered. Annu Rev Entomol 2007;52:209–29.
- BEARCROFT, W.G.C. The histopatology of the liver of yellow fever-infected Rhesus monkeys. Journal Pathology of Bacteriology. 74: 295-303, 1957.
- BRASIL. Manual de Vigilância de Epizootias de Primatas não Humanos. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. 2ª edição. Serie A. Normas e Manuais Técnicos. 58p. Brasília, 2017.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Situação Epidemiológica da Febre Amarela no monitoramento 2018/2019 e perspectivas para o período sazonal 2019/2020 no Brasil: avanços na avaliação de risco e na definição de áreas prioritárias para vigilância e imunização. Boletim Epidemiológico [Eletrônico]. Secretaria de Vigilância em Saúde. Ministério da Saúde. Volume 50. No 39. 2019
- BRASIL. Ministério da Saúde. Febre amarela: Guia de vigilância em saúde. Brasília: Secretaria de Vigilância em Saúde. Ministério da Saúde; 2017.
- COSTA, Z. G. A. ELKHOURY, A. N. M. ROMANO, P. M. R. FLANNERY, B. Evolução histórica da vigilância epidemiológica e do controle da febre amarela no Brasil. Revista Pan-Amaz Saude. 2011; 2(1):11-26
- COUNCILMAN, W.T. Report on etiology and prevention of yellow fever. Public Health Bulletin. 2: 151–59. 1890.
- CUBAS, Z. S; SILVA, J. C. R; CATÃO-DIAS, J. L. Tratado de animais selvagens – Medicina veterinária. Editora Roca, São Paulo, p.358-375, 726-735, 768-824. 2006.
- DEFIER T. R. Primates de Colombia. Conservation International de Colombia, Santa Fe de Bogotá, 547 pp, 2003.
- DÉGALLIER, N. TRAVASSOS DA ROSA, A.P.A. VASCONCELOS, P.F.C. TRAVASSOS DA ROSA, E.S. RODRIGUES, S.G. SÁ FILHO, G.C. et al. New entomological and virological

data on the vectors of sylvatic yellow fever in Brazil. *J Braz Assoc Advanc Sci* ;44:136-142. 1992.

DIGOUTTE, J.P. CORNET, M. DEUBEL, V. DOWNS, W.G. Yellow Fever. In : Porterfield JS (ed) *Exotic Viral Infections*, Chapman + Hall Medical, London, p. 67-102, 1995.

GARBER, P.A. Callitrichines (Tamarins, Marmosets, and Callimicos). In *The International Encyclopedia of Primatology*, M. Bezanson, K.C. MacKinnon, E. Riley, C.J. Campbell, K.A.. A. Nekaris, A. Estrada, A.F. Di Fiore, S. Ross, L.E. Jones-Engel, B. Thierry, et al., eds. (Hoboken, NJ, USA: John Wiley & Sons, Inc.), pp. 1–4. 2017.

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

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

HUDSON, N.P. The pathology of experimental yellow fever in the *Macacus rhesus*. II *Microscopic Pathology*. Received for publication, May 19, 1928. p. 407-418. 1928

KERR, J.A. The clinical aspects and diagnosis of yellow fever. In: *Yellow Fever*, Strode GK (ed.). McGraw-Hill: New York, 1951; 385–425

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.

KOWALEWSKI, M.M. RAÑO, M. (2017). Howler Monkey (*Alouatta*). In *The International Encyclopedia of Primatology*, M. Bezanson, K.C. MacKinnon, E. Riley, C.J. Campbell, K.A.. A. Nekaris, A. Estrada, A.F. Di Fiore, S. Ross, L.E. Jones-Engel, B. Thierry, et al., eds. (Hoboken, NJ, USA: John Wiley & Sons, Inc.), pp. 1–3.

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.

MARVULO, M. F. V. Zoonoses. In: CUBAS, Z. S.; SILVA, J. C. R.; CATÃO-DIAS, J. L.(orgs.) *Tratado de animais selvagens – medicina veterinária*. São Paulo: Roca, p.1250–1256, 2006.

MASSAD, E. COUTINHO, F.A. BURATTINI, M.N. LOPEZ, L.F. STRUCHINER, C.J. (2005) Yellow fever vaccination: how much is enough? *Vaccine* 23: 3908–3914.

MITTERMEIER, R.A., ANANDAM, M., BENNETT, E., BEZERRA, B., CHIVERS, D., CORLEY, M., CORNEJO, F., DAVENPORT, T., AND ANANDAM, M. (2013). *Primates*. Barcelona.

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

MONATH, T.P. CETRON, M.S. TEUWEN, D.E. Yellow fever vaccine. In: Plotkin SA, Orenstein WA, Offit PA, editors. *Vaccines*, 5th ed. Philadelphia, PA: Elsevier. pp. 959–1055. 2008.

MONATH, T.P. GERSHMAN, M. STAPLES, E.J. BARRETT, A.D.T. Yellow fever vaccine. In:Plotkin SA, Orenstein WA, Offit PA, editors. *Vaccines*. 6th ed. Saunders Elsevier; 2012. p. 870–96.

MONATH, T.P. VASCONCELOS, P.F.C. Yellow fever. *Journal of Clinical Virology* 64 (2015) 160–173

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.

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.

MORENO, E.S. SPINOLA, R. TENGAN, C.H. et al. Yellow fever epizootics in non-human primates, São Paulo state, Brazil, 2008–2009. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo* 2013;55:45–50.

PINHEIRO, F.P. MORAES, M.A.P. 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.

QUARESMA, J.A. BARROS, V.L. FERNANDES, E.R. et al. Immunohistochemical examination of the role of Fas ligand and lymphocytes in the pathogenesis of human liver yellow fever. *Virus Research*. 116: 91–97. 2006.

QUARESMA, J.A. BARROS, V.L. FERNANDES, E.R. et al. Reconsideration of histopathology and ultrastructural aspects of the human liver in yellow fever. *Acta Tropica*. 94: 116–27. 2005.

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* 101, 161-168 Hepatocyte lesions and cellular immune response in yellow fever infection. 2007.

REIS, N. R; PERACCHI, A. L; PEDRO, W. A; LIMA, I. P. *Mamíferos do Brasil*. Editora Biblioteca Nacional Universidade Estadual de Londrina, Londrina, p. 101-148. 2006.

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

ROMANO, A. P. M.; RAMOS, D. G.; ARAÚJO, F. A. A; SIQUEIRA, G. A. M.; RIBEIRO, M. P. D.; LEAL, S. G.; ELKHOURY, A. N. M. S. Febre amarela no Brasil: recomendações para a vigilância, prevenção e controle. *Epidemiologia em Serviços de Saúde*. v. 20, n. 1, p. 101-106, jan-mar; Brasília, 2011

RYLANDS, A. B. & MITTERMEIER, R. A. (2009). The diversity of the New World primates (Platyrrhini): an annotated taxonomy. In: IUCN (ed.) *South American primates*. Springer.

RYLANDS, A.B., HEYMANN, E.W., LYNCH ALFARO, J., BUCKNER, J.C., ROOS, C., MATAUSCHEK, C., BOUBLI, J.P., SAMPAIO, R., AND MITTERMEIER, R.A. (2016). Taxonomic review of the New World tamarins (Primates: Callitrichidae). *Zool. J. Linn. Soc.* 177, 1003–1028

SALLIS, ESV. BARROS, VLRS. GARMATZ, L. FIGHERA, RA. GRAÇA, DL. A case of yellow fever in a brown howler (*Alouatta fusca*) in Southern Brazil. *J Vet Diagn Invest* 15:574–576, 2003.

SILVA, T. C. F. 2010. Estudo da variação na pelagem e da distribuição geográfica em *Cebus flavius* (Schreber, 1774) e *Cebus libidinosus* (Spix, 1823) do Nordeste do Brasil. Programa de Pós-graduação em Ciências Biológicas. Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa.

SOPER FL. The New epidemiology of yellow fever. *Am J Publ Health* 1937;27 (1):1-14.

SOPER, F. L. Jungle yellow fever: new epidemiological entity in South America. *Revista de Higiene e Saúde Pública*. v. 10, n. 1, p. 107-144, 1936.

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

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.

TAUIL, P.L. Aspectos Críticos de Controle da Febre Amarela no Brasil. **Revista Saúde Pública** 2010; v. 44, n.3, p.555-558, 2010

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.

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

TIGERTT, W.D. BERGE, T.O. GOCHENOUR, W.S. GLEISER, C.A. EVELAND, W.C. BRUEGGE, C.V. SMETANA, H.F. Experimental yellow fever. Transactions of the New York Academy of Science 22: 323-333, 1960.

TORRES DE ASSUMPÇÃO, C. (2014). Resultados preliminares de reavaliação das raças do macaco-prego *Cebus apella* (Primates: Cebidae). Revista Nordestina de Biologia, 6, 15-28.

VASCONCELOS, P.F.C. Febre Amarela. Artigo de Revisão. Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical. v.36, n.2; p.275-293, mar-abr, 2003.

VASCONCELOS, P.F.C. RODRIGUES, S.G. DÉGALLIER, N. MORAES, M.A.P. TRAVASSOS DA ROSA, J.F.S. TRAVASSOS DA ROSA, E.S. MONDET, B. BARROS, V.L.R.S. TRAVASSOS DA ROSA, A.P.A. 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, P.F.C. Febre Amarela. Sociedade Brasileira de Pediatria, Rio de Janeiro, 2000.

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

## **CAPÍTULO II: LESÕES HEPÁTICAS EM PRIMATAS NÃO HUMANOS NATURALMENTE INFECTADOS NO SURTO DE FEBRE AMARELA NO BRASIL, 2014 À 2018.**

### **1. INTRODUÇÃO**

A febre amarela (FA) é uma doença viral infecciosa aguda, não contagiosa, de curta duração, causada por um vírus do gênero *Flavivirus*, transmitido por vetores e que acomete humanos, primatas não humanos (PNH) e possivelmente outros mamíferos silvestres. (MONATH, 2001). Estima-se que 80 a 90% dos casos da doença apresentam-se nas formas clínicas leves ou moderadas e que evoluem para a cura, enquanto entre 10% e 20% desenvolvem quadros graves com letalidade em torno de 50%. A forma clássica se caracteriza por um quadro ictero-hemorrágico tanto em humanos como em primatas (VASCONCELOS, 2003).

Nas Américas, todas as espécies de primatas testados se mostram suscetíveis à infecção viral. Os principais gêneros de macacos envolvidos no ciclo silvestre da doença são: *Sapajus sp.* (macaco-prego), *Alouatta sp.* (guariba) e *Callithrix sp.* (sagui). Na febre amarela urbana, o homem constitui o principal hospedeiro (ACHA, 2003), embora o ciclo urbano de transmissão não seja detectado no país desde a década de 1940. Primatas do gênero *Alouatta sp.* vem sendo considerados como uma das espécies mais susceptíveis à infecção amarílica, assim como macacos do gênero *Sapajus sp.* são considerados mais resistentes (VASCONCELOS, 2003; HOLZMANN et al, 2010), porém, ainda são inexistentes estudos epidemiológicos, patológicos ou sobre a patogênese da doença que comprovem em definitivo essas observações.

A observação histórica mostra que nos primatas a doença manifesta-se periodicamente em intervalos de tempo suficiente para a renovação das 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 et al; AMARAL END TAUIL, 1983; KINDLOVITS, 2009).

No Brasil, a partir de 1999, houve mudança no perfil epidemiológico da FA, quando a maioria dos casos passou a ser registrada fora das regiões Norte e Centro-Oeste, consideradas focos naturais da doença. Esta situação determinou a necessidade de implantação de novas estratégias de vigilância, prevenção e controle no país (LIMA et al, 2010; ROMANO et al, 2011; BRASIL, 2017;).

A vigilância de epizootias em primatas não humanos (PNH) no Brasil foi implementada em 1999, sendo um dos componentes da vigilância da febre amarela (FA), e funciona como evento sentinela para a ocorrência da doença em humanos, dando oportunidade ao desencadeamento das ações de prevenção e controle. Para efeito de vigilância da FA no Brasil, a Epizootia em PNH foi definida como: “primata não humano de qualquer espécie, encontrado morto (incluindo ossadas) ou doente, em qualquer local do território nacional” (BRASIL, 2017).

A vigilância de epizootias tem como objetivos prevenir a ocorrência de casos humanos da doença, reduzir a ocorrência de casos, identificar precocemente a circulação viral e oportunizar a aplicação de medidas de prevenção e controle, de forma a subsidiar a tomada de decisão para a redução da morbimortalidade da doença na população humana em áreas afetadas (com transmissão ativa) e ampliadas (áreas adjacentes) (BRASIL, 2017).

Recentemente, no período de monitoramento 2014/2015, a reemergência do vírus da FA foi registrada além dos limites da área considerada endêmica, manifestando-se por epizootias em PNH confirmadas por critério laboratorial. Atualmente, no período 2017/2018 e 2018/2019, foi registrado um dos eventos mais expressivos da história da FA no Brasil. A dispersão do vírus alcançou a costa leste brasileira, na região do bioma Mata Atlântica, que abriga uma ampla diversidade de primatas não humanos e de potenciais vetores silvestres e onde o vírus não era registrado há décadas (BRASIL, 2019a)

No Brasil existem poucos estudos detalhados em primatas acometidos naturalmente pelo vírus amarelo, os poucos trabalhos existentes são provenientes de estudos experimentais realizados em primatas africanos (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 (BEARCROFT, 1957). No entanto, a partir de amostras de PNH que foram acometidos pelo vírus amarelo durante o surto de FA, foram comparados os padrões e a gravidade da lesão hepática entre os gêneros *Alouatta*, *Callithrix* e *Sapajus*. Assim, foi avaliada a frequência das alterações histopatológicas hepáticas e a intensidade das lesões de acordo com a localização nos três gêneros de primatas, e determinadas as possíveis diferenças entre eles.

## 2. MATERIAL E MÉTODO

Trata-se de um estudo retrospectivo a partir dos registros de dados e amostras de PNH coletados pela rede de vigilância de epizootias do Ministério da Saúde (MS), durante a reemergência da FA no Brasil, no período de julho 2014 a junho de 2018. Os dados epidemiológicos foram solicitados ao Ministério da Saúde por meio da Lei de Acesso à Informação, art. 11, § 1º, da Lei nº 12.527/2011, solicitação nº 25820.006968/2019-35.

No período de 2014 a 2018, foram notificadas ao Ministério da Saúde 15.882 epizootias em PNHs, destas 1.326 (8,3%) foram confirmadas por critério laboratorial, 1.232 (7,7%) foram confirmadas por vínculo epidemiológico, 5.035 (31,7%) foram descartadas laboratorialmente, 3.141 (19,8%) permanecem em investigação e 5.148 (32,4%) foram indeterminadas por não possuir amostras coletadas e/ou o resultado laboratorial foi inconclusivo para FA.

Dos registros de FA em PNHs confirmados por critério laboratorial, foram possíveis identificar o gênero em 1.326 epizootias com o envolvimento de 1.459 animais. Foram acometidos 723 (54,5%) primatas do gênero *Alouatta*, 331 (25,0%) *Callithrix*, 52 (3,9%) *Sapajus*, 19 (1,4%) de outros gêneros e 201 (15,1%) não foram possíveis identificar e/ou não foi informado o gênero do primata acometido.

Dos animais confirmados para FA, foram selecionados aleatoriamente entre os casos que continham lâminas histopatológicas de fígado dos gêneros mais acometidos durante a reemergência de FA no Brasil. A seleção aleatória das lâminas histopatológicas ocorreu a partir do banco de amostras de epizootias em primatas não humanos do Ministério da Saúde, com resultados de imuno-histoquímica sabidamente positivos para FA. A partir dos arquivos físicos dos Laboratórios de Referência Nacional e Regional do Ministério da Saúde para o diagnóstico da FA em PNHs, Instituto Evandro Chagas (SAPAT/IEC), Fundação Oswaldo Cruz (INI/Fiocruz) e Laboratório de Patologia Veterinária UnB foram requisitadas as lâminas histológicas coradas com Hematoxilina e Eosina (HE). Adicionalmente foram registradas as localizações e distribuição no espaço e no tempo das epizootias no período de janeiro/2014 a dezembro/2018. As amostras selecionadas incluíram os gêneros *Callithrix* (n=31), *Alouatta* (n=30) e *Sapajus* (n=14), todas com diagnóstico imuno-histoquímico positivo para FA.

Nos laboratórios de referência as amostras foram seccionadas em cortes de 5 µm, coradas com hematoxilina-eosina (HE) para análise morfológica em microscopia de luz. Todas as amostras também foram submetidas ao exame de imuno-histoquímico empregando-se o método da fosfatase alcalina com polímeros e anticorpo anti-FA produzido, segundo adaptação

da técnica do Center for Disease Control (CDC), e técnica padronizada no IEC, laboratório de Referência Nacional do Ministério da Saúde.

Todas as lâminas selecionadas foram lidas por um único patologista veterinário e os dados foram ordenados em tabelas, avaliando a localização e a intensidade de cada lesão hepática. A localização foi classificada como periportal, centrolobular e médiozonal, e a intensidade foi medida em um ranking de 0 a 3 cruzes: 0 (ausente); + (leve); ++ (moderada) e +++ (intensa) onde zero foi classificado como ausência de lesão e três foi a maior intensidade de lesão hepática. As alterações hepáticas avaliadas foram: corpúsculo de Councilman Rocha-Lima, necrose, esteatose microvacuolar, dissociação dos hepatócitos, hemorragia, células de Kupfler, congestão, inflamação polimorfonuclear, esteatose microvacuolar, tumefação celular e hiperplasia ductos biliares.

Para análise estatística, os achados histopatológicos foram divididos em duas categorias, (I) frequência de lesões hepáticas em cada gênero selecionado para o estudo e (II) análise comparativa das lesões hepáticas, avaliando a intensidade em cada localização entre gêneros. Os dados foram tabulados e as análises estatísticas foram realizadas no software estatístico R Core Team (2019), utilizando os pacotes `dunn.test` (DINNO, 2017) e `RVAideMemoire` (HERVÉ, 2019).

Para cada categoria definida no estudo foram realizados métodos estatísticos diferentes:

- I. Teste Exato de Fisher, associado com comparações pareadas com o p-ajustado: teste (não paramétrico) de igualdade de proporções para dados de contagem (nesse caso, testa se a proporção de animais com lesões iguais entre os gêneros).  $H_0$  é a proporção de animais com lesões iguais entre os gêneros, e  $H_1$  é a proporção de animais com lesões diferente entre os gêneros. Se  $H_0$  é rejeitada ( $p < 0,05$ ).
- II. Teste de Kruskal-Wallis, associado com o Teste de Dunn. O Kruskal-Wallis é um teste não-paramétrico para variáveis quantitativas ou qualitativas ordinais (intensidade das lesões em cada localização) para comparação de 3 ou mais grupos independentes (gêneros de primatas), onde,  $H_0$  é a intensidade das lesões em cada localização e é igual entre os gêneros, e  $H_1$  é a intensidade das lesões em cada localização e é diferente entre os gêneros. Se  $H_0$  é rejeitada ( $p < 0,05$ ), é necessário realizar um teste post-hoc de múltiplas comparações. No teste post-hoc foi utilizado o método de Dunn's test que é um teste múltiplas comparações.

III. Teste de Friedman, associado com o Teste de Wilcoxon pareado. O Friedman é um teste não-paramétrico para variáveis quantitativas ou qualitativas ordinais (intensidade das lesões) para comparação de 3 ou mais grupos dependentes (localização das lesões em cada animal; amostras pareadas), onde  $H_0$  é a intensidade das lesões em cada gênero e é igual entre as localizações, quando for  $H_1$  a intensidade das lesões em cada gênero é diferente entre as localizações. Se  $H_0$  é rejeitada ( $p < 0,05$ ), é necessário realizar um teste post-hoc de múltiplas comparações (Teste de Wilcoxon pareado).

### 3. RESULTADOS

Neste estudo, foram analisadas amostras de fígado provenientes de primatas não humanos (PNH) com envolvimento dos gêneros *Alouatta*, *Callithrix* e *Sapajus*, cujas as amostras foram coletadas em epizootias durante o surto de Febre Amarela (FA) no Brasil, no período de 2014 a 2018. A distribuição espaço-temporal (Estados, anos de ocorrência) dos animais analisados encontra-se na Figura 1.

Entre os animais dos gêneros *Alouatta*, *Callithrix* e *Sapajus* que morreram de FA e que tiveram amostras de fígado submetidas ao exame histopatológico, as lesões mais relevantes observadas foram a apoptose dos hepatócitos (corpúsculos de Councilman Rocha-Lima), necrose de hepatócitos, dissociação dos cordões de hepatócitos, esteatose microvacuolar, hemorragia, congestão e infiltrado inflamatório de neutrófilos e células mononucleares (Figura 2 e Figura 3). Houve diferenças significativas ( $p < 0,05$ ) entre proporção de gêneros PNHs com esteatose microvacuolar, hemorragia, congestão, inflamação de polimorfonucleares e mononuclear e hiperplasia dos ductos biliares (Tabela 1).

A esteatose microvacuolar foi menos frequente ( $p < 0,05$ ) no gênero *Alouatta* em comparação a *Callithrix* e *Sapajus*. A hemorragia foi mais frequente em *Alouatta* e *Callithrix* que no gênero *Sapajus* ( $p < 0,05$ ). Quanto a congestão, a frequência da lesão foi maior em *Callithrix* comparado a *Alouatta* ( $p < 0,05$ ). O gênero *Sapajus* apresentou inflamação polimorfonuclear hepática mais frequente que em *Callithrix* ( $p < 0,05$ ). A inflamação mononuclear foi mais frequente em *Callithrix* quando comparada aos gêneros *Alouatta* e *Sapajus* ( $p < 0,05$ ). A hipertrofia de células de Kupffer foi outra alteração hepática encontrada em número considerável de animais, apesar de não haver diferenças entre os gêneros. As lesões menos frequentes e relevantes nos PNHs avaliados foram esteatose microvacuolar e hiperplasia dos ductos biliares, que foi significativa apenas no gênero *Callithrix*.

A análise comparativa da intensidade das lesões hepáticas entre os gêneros de primatas por localização anatômica encontra-se na Tabela 2. A presença do corpúsculo de Councilman Rocha-Lima nos três gêneros de primatas foi mais intensa na região mediozonal quando comparada com as regiões centrolobular e periportal ( $p < 0,05$ ). A intensidade da necrose e dissociação de hepatócitos foi maior na região mediozonal nos gêneros *Alouatta* e *Callithrix* em comparação à região periportal nos *Sapajus* ( $p < 0,05$ ). Em *Callithrix*, a dissociação de hepatócitos e necrose também foram mais intensas na região centrolobular que na região periportal ( $p < 0,05$ ). A esteatose microvacuolar foi mais intensa na região mediozonal ( $p < 0,05$ )

em relação à localização centrolobular nos gêneros *Alouatta* e *Callithrix*. A hemorragia centrolobular foi mais intensa que na região periportal nos gêneros *Alouatta* e *Callithrix* ( $p < 0,05$ ) em relação a *Sapajus*. Em *Callithrix*, a hemorragia mediozonal ainda foi mais intensa que na região periportal ( $p < 0,05$ ) em relação aos outros dois gêneros de primatas. No *Callithrix*, a congestão foi mais intensa nas regiões centrolobular e mediozonal em relação a localização periportal quando comparada a *Alouatta* e *Sapajus*. A inflamação de polimorfonucleares no fígado foi mais intensa e com distribuição difusa no gênero *Alouatta* em comparação aos gêneros *Callithrix* e *Sapajus*. A intensidade da inflamação mononuclear no fígado do gênero *Callithrix* foi maior que em *Alouatta* e *Sapajus*, sendo mais intensa na região mediozonal ( $p < 0,05$ ).

#### 4. DISCUSSÃO

A FA é conhecida há vários séculos e causa uma doença viral infecciosa aguda, não contagiosa, de curta duração, causada por um vírus do gênero *Flavivirus*, transmitido por vetores e que acomete humanos e primatas não humanos (PNH) (MONATH, 1990). Atualmente no Brasil vive o maior surto da história da Febre Amarela Silvestre (FAS), desde que o ciclo de transmissão silvestre foi descrito na década de 1930, ocorreram nos períodos de monitoramentos 2016/2017 e 2017/2018, quando foram registrados mais de 2000 mil casos humanos e mais de 700 óbitos pela doença, além de cerca de 2300 epizootias em PNH (BRASIL, 2019b). Nosso estudo fora utilizadas amostras hepáticas de primatas dos gêneros *Alouatta*, *Callithrix* e *Sapajus* captadas pela vigilância de epizootias de PNH, durante a reemergência do vírus amarílico, no período de 2014 a 2018. Os tecidos dos animais analisados estão distribuídos espaço temporalmente nos estados de Tocantins, Goiás, Minas Gerais e Espírito Santo, estados onde ocorreram o maior número de epizootias e muitas mortes em humanos pela FA (Figura 1).

No Novo Mundo, todos os gêneros de primatas não humanos (PNHs) natural e experimentalmente infectados se mostraram sensíveis e suscetíveis ao vírus amarílico (STRODE et al, 1951). Nas Américas, alguns primatas mostram maior susceptibilidade ao vírus da Febre Amarela (VFA) como por exemplo, o guariba (gênero *Alouatta*); outros, como o macaco prego (gênero *Sapajus*), são considerados resistentes e refratários ao vírus da febre amarela (STRODE et al, 1951; VASCONCELOS, 2000). Nosso estudo foi motivado por ausência de informações sobre os aspectos patológicos da infecção natural amarílica em PNHs. Os aspectos patogênicos da infecção pelo VFA são conhecidos em humanos, raros estudos experimentais em PNHs e em roedores (MONATH, 1997; XIAO, 2001).

Nos três gêneros de PNHs analisados a presença de corpúsculo de Councilman Rocha-Lima (apoptose de hepatócitos) na região mediozonal ocorreu com maior frequência e intensidade quando comparado às regiões centrolobular e periportal. O quadro hepático típico da infecção amarílica, com corpúsculos de Councilman-Rocha Lima e tropismo viral pelas células na região mediozonal e constitui evento tardio, tornando-se evidente nas 24 a 48 horas que antecedem a morte (MONATH et al, 1981). O mesmo padrão de lesão hepática tem sido observado em hamsters inoculados via intraperitoneal com amostra viral adaptada a esses animais (XIAO, 2001). Os aspectos anatomopatológicos do fígado são caracterizados pela gravidade das lesões em todo o lóbulo, no entanto, as lesões são mais frequentes na região mediozonal, permitindo a identificação dos hepatócitos preservados em torno do espaço-porta

e da veia centrolobular. As regiões centrolobular e a mediozonal são as áreas mais afetadas, porém, a região mediozonal geralmente mantém o cordão de hepatócitos mais preservados ao redor do espaço porta, mostrando níveis variáveis de alterações degenerativas e regenerativas (VIEIRA et al, 1983). Nos três gêneros de PNHs brasileiros avaliados, a presença do corpúsculo de Councilman Rocha-Lima na região mediozonal representa uma das alterações patológicas mais relevantes para o diagnóstico da doença. Adicionalmente, nossos achados também demonstraram de maneira inédita que a apoptose na região mediozonal, além de mais frequente, também ocorre com maior intensidade, que nas outras regiões hepáticas.

A necrose de hepatócitos e dissociação dos cordões de hepatócitos também foram achados muito frequentes e semelhantes entre os gêneros *Alouatta*, *Callithrix* e *Sapajus*, no entanto, essas lesões foram mais intensas na região mediozonal nos dois primeiros gêneros. A dissociação de hepatócitos e necrose também foram mais intensas na região centrolobular que na região periportal em *Callithrix*. O vírus amarelíco causa necrose em grandes extensões do parênquima hepático, preferencialmente nas áreas mediozonais, poupando as extremidades do lóbulo, sendo raro o encontro de células necróticas antes do terceiro dia pós-inoculação do vírus (BEARCROFT, 1957 e PINHEIRO, 1983). Nas áreas mediozonais necróticas, raramente há desorganização da arquitetura. Por vezes, entretanto, quando a necrose na FA mostra-se muito extensa (necrose maciça hepática), o diagnóstico histopatológico pode tornar-se muito difícil (ROBERT et al, 1999) ao se confundir com fenômenos autolíticos.

Nos gêneros de primatas infectados pelo VFA avaliados nesse estudo, a dissociação dos cordões de hepatócitos foi um achado frequente e relevante. Essa alteração é observada em lesões hepáticas graves e difusas, resultado do colapso do arcabouço das fibras de reticulina (CULLEN & STALKER, 2016). Em humanos, a dissociação dos cordões de hepatócitos é um achado patológico ausente em pacientes com FA, geralmente detectada em outras hepatites de origem viral e na leptospirose (DEL RIO & MEIER, 1998). As graves lesões hepáticas observadas nos três gêneros de PNHs avaliados, a ausência de qualquer forma de tratamento terapêutico por serem todos animais de vida-livre, poderia justificar uma maior injúria ao arcabouço hepático e a dissociação das células.

A esteatose microvacuolar foi outra alteração patológica relevante em nosso estudo e mais intensa na região mediozonal nos símios *Alouatta* e *Callithrix* infectados pelo VFA. A esteatose hepática é frequentemente observada em primatas do gênero *Alouatta* infectados naturalmente pelo vírus da FA (LEAL et al, 2016). A presença de vacúolos lipídicos de hepatócitos também é comum em modelos experimentais com outras espécies de animais

infectadas (LI et al, 2008). Em humanos, A distribuição da esteatose microvacuolar inclui geralmente células não afetadas por necrose ou apoptose especialmente nos hepatócitos residuais ao redor da veia centrolobular ou em outras regiões menos afetadas (ELISAF et al, 1993; DEL RIO & MEIER, 1998). A esteatose é considerada uma alteração característica da FA quando associada a um padrão de distribuição da lesão mais intensa na região mediozonal (VIEIRA et al, 1983; QUARESMA et al, 2005). A identificação da esteatose microvacuolar, especialmente na região mediozonal, é considerada como um critério de grande relevância para o diagnóstico da FA (ROCHA-LIMA 1912; DEL RIO & MEIER, 1998; QUARESMA, et al, 2015). A intensidade da esteatose na região mediozonal geralmente coincide com a apoptose em humanos com FA (QUARESMA et al, 2005). A esteatose microvacuolar também é um achado patológico hepático consistente para o diagnóstico da infecção amarelada nos três gêneros de PNHs estudados e semelhante ao que ocorre em humanos.

A hemorragia hepática foi mais frequente em *Alouatta* e *Callithrix*, sendo mais intensa na região centrolobular. Essa lesão no gênero *Callithrix* foi mais frequente do que em *Alouatta*. A hemorragia na região mediozonal pode refletir a gravidade da lesão e o envolvimento vascular (célula endotelial) na infecção pelo vírus da FA (WILLUWEIT et al, 2001). Em *Macaca mulatta* infectados pelo VFA foi encontrada hemorragia na região mediozonal e centrolobular hepáticas (HUDSON, 1928). Em humanos infectados, geralmente há poucos focos hemorrágicos próximos a focos de necrose (CARDEMAN et al, 1928; QUARESMA et al, 2006). Em fígados de macacos infectados naturalmente por FA em Trinidad, assim como em macacos Rhesus experimentalmente infectados visualizou-se áreas extensas de hemorragia sob a cápsula hepática (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). Nossas observações reforçam que a hemorragia hepática é uma lesão mais frequente e importante no diagnóstico histopatológico da FA em PNHs do que em humanos.

A hipertrofia de células de Kupffer foi um achado mais frequente no gênero *Callithrix*, seguido do *Alouatta* e *Sapajus*. Em humanos, esse achado é encontrado frequente em indivíduos com FA (QUARESMA et al, 2006). Em estudo comparativo das lesões hepáticas entre seres humanos e símios (*Macaca mulatta*) foi observada a hipertrofia das células de Kupffer em ambos, embora, foi mais frequente nos humanos (HUDSON, 1928). Esse achado histopatológico é um critério importante para o diagnóstico das arboviroses, não havendo preferência pela região anatômica do fígado (CARDEMAN et al, 1973). A hipertrofia de células

de Kupffer possivelmente refletiu uma resposta celular frente à infecção pelo VFA nos animais estudados e também deve ser considerada no diagnóstico da enfermidade em primatas.

A congestão hepática foi mais frequente no gênero *Callithrix*, sendo mais intensa nas regiões centrolobular e mediozonal. Na infecção experimental em macacos Rhesus, a congestão hepática geralmente é leve e infrequente (HUDSON, 1928). Em seres humanos e PNHs, alguns a congestão hepática é mais frequente e intensa nos estágios iniciais da doença na região centrolobular, enquanto nos estágios posteriores é encontrada uma distribuída de forma mais uniforme pelo tecido hepático (KLOTZ, 1930). Diferenças quanto a congestão hepática em primatas brasileiros naturalmente infectados pelo VFA, nunca foram descritas, e ainda, pouco se conhece quanto a sua relevância no diagnóstico ou patogênese da enfermidade nesses gêneros.

A presença de infiltrado inflamatório polimorfonuclear e mononuclear no fígado dos animais avaliados, demonstrou algumas variações de intensidade, distribuição e sua frequência entre os gêneros. Porém, até o momento, não é possível inferir qual a relevância dessas variações. Em humanos, a presença de infiltrado inflamatório hepático não é reconhecida como um achado relevante na FA, principalmente pelo fato da apoptose induzida pelo vírus, ser considerada o principal mecanismo de morte celular na doença (DEL RIO & MEIER, 1998). Quando observadas, as células inflamatórias geralmente estão presentes nas regiões necróticas, representadas por discreto infiltrado inflamatório com predomínio de células mononucleares e podem variar de acordo com o grau ou extensão da necrose parenquimatosa (HUDSON, 1928; VASCONCELOS, 2003). Em humanos com FA, a presença do infiltrado inflamatório no fígado é raro, e quando encontrado, ocorre predominante na região mediozonal (DEL RIO & MEIER, 1998, QUARESMA et al. 2006). Independentemente das variações quanto ao infiltrado de células inflamatórias no fígado encontradas nos gêneros de primatas avaliados, é importante ressaltar, que se trata de um achado frequente, e portanto, não pode ser utilizado como critério excludente no diagnóstico da FA nesses animais. Nossos achados demonstram, que existem diferenças na resposta dos PNHs frente a infecção amariçica em comparação aos seres humanos, pois aparentemente, a ação viral no fígado dos primatas, parece incitar maior resposta inflamatória.

Nosso estudo demonstrou que as principais lesões hepáticas nos gêneros *Alouatta*, *Callithrix* e *Sapajus* com FA, são similares o que se observa em humanos com a doença (QUARESMA et al, 2007). A necrose e apoptose de hepatócitos, esteatose e hemorragia foram as lesões mais frequentes em bugios (*Alouatta*), sugerindo suas associações com um forte efeito

patogênico do VFA (SALLIS et al. 2003; LEAL et al. 2016). Devemos ressaltar, que nossos achados, apesar de pequenas variações entre os gêneros, demonstram graves lesões hepáticas em todos os animais, não sendo possível afirmar que o gênero *Alouatta* apresenta maior susceptibilidade, assim como o gênero *Sapajus* tenha maior resistência à infecção amarílica.

O estudo com os três gêneros de primatas em epizootias de FA, demonstrou que o infiltrado de células inflamatórias no fígado foi um achado frequente, diferentemente dos padrões morfológicos histopatológicos hepáticos da doença em humanos (QUARESMA et al, 2007). A dissociação de cordões de hepatócitos, também foi uma alteração hepática bastante frequente nos primatas, entretanto, praticamente não ocorre em humanos (DEL RIO & MEIER, 1998). Apesar das similaridades das lesões hepáticas entre PNHs e seres humanos que permitem a suspeita diagnóstica pelo exame histopatológico, algumas diferenças foram observadas e requerem maiores estudos para a melhor compreensão da patogênese da FA em nos principais gêneros de primatas envolvidos em epizootias no Brasil.

## 5. CONCLUSÕES

- As lesões hepáticas mais frequentes nos gêneros *Alouatta*, *Callithrix* e *Sapajus* são similares aquelas observadas em humanos e utilizadas como critério para o diagnóstico histopatológico da Febre Amarela;
- A região mediozonal hepática apresentou com maior frequência e intensidade nas principais lesões relevantes para diagnóstico da FA nos três gêneros avaliados: corpúsculo de Coulciman Rocha-Lima, necrose, dissociação de hepatócitos e esteatose microvacuolar;
- A dissociação de hepatócitos e a presença de infiltrado inflamatório no fígado dos primatas avaliados foram características distintas do quadro patológico da FA em humanos e precisam ser melhor investigadas;
- Pequenas diferenças patológicas hepáticas ocorreram entre os primatas *Alouatta*, *Callithrix* e *Sapajus* avaliados, porém as lesões eram graves em todos eles, e não permitem afirmar que existem diferenças quanto à susceptibilidade ou nos padrões histopatológicos significativos para o diagnóstico da infecção pelo VFA entre os gêneros.

## 6. REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA

ACHA, P. N.; SZYFRES, B. Zoonosis y Doenças Transmisíveis Comunes al Hombre y a los Animales. Organización Panamericana de Salud. Tercera Edición. v.II. Clamidiosis, rickettsiosis y virosis. p. 80-105. Publicación Científica y Técnica N° 580. OPS. Washington, DC, EUA. 2003.

DINNO, A.. dunn.test: Dunn's Test of Multiple Comparisons Using Rank Sums. R package version 1.3.5. <https://CRAN.R-project.org/package=dunn.test>. 2017.

AMARAL, R; TAUIL, P.L. Duas ameaças de um mosquito: febre amarela e dengue. 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, W.G.C. The histopathology of the liver of yellow feverinfected Rhesus monkeys. Journal Pathology of Bacteriology 74:295-303, 1957.

BRASIL. Guia de Vigilância de Epizootias e Entomologia aplicada a Vigilância da Febre Amarela. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. 2ª edição (atualizada). Serie A. Normas e Manuais Técnicos. 100p. Brasília, 2017.

BRASIL. Ministério da Saúde. Febre amarela: Guia de vigilância em saúde. Brasília: Secretaria de Vigilância em Saúde. Ministério da Saúde; 2019a.

BRASIL. Ministério da Saúde. Situação Epidemiológica da Febre Amarela no monitoramento 2018/2019 e perspectivas para o período sazonal 2019/2020 no Brasil: avanços na avaliação de risco e na definição de áreas prioritárias para vigilância e imunização. Boletim Eletrônico – Secretaria de Vigilância em Saúde. Brasília. Ministério da Saúde Volume 50. N° 39. 2019b.

CARDEMAN, L. KASTENER, M.R.Q. CARDEMAN, S. QUERALTÓ, M.C.K. Febre Amarela. II Estudo Histológico do Fígado. Revista Sociedade Brasileira de Medicina Tropical. Vol. X. Número 02. 1973

CULLEN, J.M. STALKER, M.J. Liver and Biliary System. In: Maxie, G.M. Jubb, Kennedy and Pamer's. Pathology of Domestic Animals, V. 2. 6ed, Elsevier. New York. p. 259-351. 2016.

CUNHA, M.S. DA COSTA, A.C. AZEVEDO, F.N.C.C, GUERRA, J.M. DOS SANTOS, F.C.P. NOGUEIRA, J.S. et al. Epizootics due to yellow fever virus in São Paulo state, Brazil: viral dissemination to new areas (2016–2017). Sci Rep. 2019;9:1–13. 2017.

DE LA MONTE, S.M., ARCID, J.M., MOORE, G.W., HUTCHINNS, G.M., Midzonal necrosis as a pattern of hepatocellular injury after shock. Gastroenterology 86, 627–631. 1984.

DEL RÍO, C. MEIER, F.A. Pathology of Emerging Infections 2. Chepter 2: Yallow Fever. Copyright. ASM Press. ISBN 1.55581.140.x. Page 13-41. 1998.

ELISAF, M.S. STEFANAKI, M. REPANTE, H. KORAKIS, E. TSIANOS AND K. C. Liver involvement in hemorrhagic fever with renal syndrome. *J. Clin. Gastroenterol.* 17:33-37. 1993.

HOLZMANN, I. AGOSTINI, A. ARETA, J.I. FERREURA, P.B. BITETTI, D. Impact of Yellow Fever Outbreaks on Two Howler Monkey Species (*Alouatta guariba clamitans* and *A. caraya*) in Misiones, Argentina. *American Journal of Primatology.* 71:1-6 2010.

HUDSON, N.P. The pathology of experimental yellow fever in the *Macacus rhesus*. II Microscopic Pathology. Received for publication, May 19, 1928. p. 407-418. 1928

JUNGERMANN, K., KATZ, N. A functional specialization of different hepatocytes populations. *Physiol. Rev.* 69, 708–769. 1989.

KINDLOVITS, L.M. 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.

KLOTZ, O. BELT, T. H. Thee pathology of thie liver in yellow fever. Rockefeller Foundetion. Department of Pathology and Bacteriology, University of Toronto, Canada. *American Journal Pathology.* Vol. VI. July. Pages 663-687. 1930.

LEAL, S. G. ROMANO, A. P. M; MONTEIRO, R. V. ; Melo, Cristiano Barros de ; VASCONCELOS, P. F. C. ; Castro, M.B . Frequency of histopathological changes in Howler monkeys (*Alouatta sp.*) naturally infected with yellow fever virus in Brazil. *Sociedade Brasileira de Medicina Tropical. Revista,* v. 49, p. 29-33, 2016.

Li G, Duan T, Wu X, Tesh RB, Soong L, Xiao S. Yellow Fever Virus Infection in Syrian Golden Hamsters: Relationship between Cytokine Expression and Pathologic Changes. *Int J Clin Exp Pathol* 2008; 1:169-179.

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.

HERVÉ. M (2019). *RVAideMemoire: Fisher's exact test (p-adjusted), Testing and Plotting Procedures for Biostatistics.* R package version 0.9-73. <https://CRAN.R-project.org/package=RVAideMemoire>

MONATH, T.P. BRINKER, K.R. CHANDLER, F.W. KEMP, G.E. CROPP, C.B. Pathophysiologic correlations in a rhesus monkey model of yellow fever: with special observations on the acute necrosis of B cell areas of lymphoid tissues. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 30:431-443, 1981.

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

PINHEIRO, F.P. MORAES, M.A.P. Febre amarela. In: Neves J (ed.) Diagnóstico e tratamento das doenças infectuosas e parasitárias, 2ª ed, Editora Guanabara-Koogan, Rio de Janeiro, p. 303314,1983.

PINHEIRO, F.P. 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. FERNANDES, E.R. PAGLIARI, C. GUEDES, F. VASCONCELOS, P.F.C. JUNIOR, H.F.A. DUARTE, M.I.S. Immunohistochemical examination of the role of Fas ligand and lymphocytes in the pathogenesis of human liver yellow fever. 2006 Elsevier B.V. All rights reserved. August 2006. 0168-1702.

QUARESMA, J.A.S, DUARTE, M.I.S. VASCONCELOS, P.F.C. Midzonal lesions in yellow fever: A specific pattern of liver injury caused by direct virus action and in situ inflammatory response. *Elservier. Medical Hypotheses* (2016) 67. 618-621.

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

R CORE TEAM (2019). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <https://www.R-project.org/>.

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

ROCHA-LIMA H. Zur pathologische anatomie des gelbfiebers. *Verh Dtsch Path Ges* 1912;15:163–82.

ROMANO, A. P. M.; RAMOS, D. G.; ARAÚJO, F. A. A; SIQUEIRA, G. A. M.; RIBEIRO, M. P. D.; LEAL, S. G.; ELKHOURY, A. N. M. S. Febre amarela no Brasil: recomendações para a vigilância, prevenção e controle. *Epidemiologia em Serviços de Saúde*. v. 20, n. 1, p. 101-106, jan-mar; Brasília, 2011

SALLIS, ESV. BARROS, VLRS. GARMATZ, L. FIGHERA, RA. GRAÇA, DL. A case of yellow fever in a brown howler (*Alouatta fusca*) in Southern Brazil. *J Vet Diagn Invest* 15:574–576, 2003.

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

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.

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

TIGERTT, W.D. BERGE, T.O. GOCHENOUR, W.S. GLEISER, C.A. EVELAND, W.C. BRUEGGE, C.V. SMETANA, H.F. Experimental yellow fever. *Transactions of the New York Academy of Science* 22:323-333, 1960.

VASCONCELOS, P.F.C. Febre Amarela. Artigo de Revisão. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*. v.36, n.2; p.275-293, mar-abr, 2003.

VIEIRA, W.T. GAYOTTO, L.C. DE LIMA, C.P. DE BRITO, T. Histopathology of the human liver in yellow fever with special emphasis on the diagnostic role of the Councilman body. *Histopathology* 1983; 7:195–208.

WILLUWEIT A, SASS G, SCHONEBERG A, EISEL U, TIEGS G, CLAUSS M. Chronic inflammation and protection from hepatitis in transgenic mice expressing TNF in endothelial cell. *J Immunol*. 2001; 167:3944-3952.

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

**Tabela 1.** Frequência e comparação das proporções de presença de lesões entre os gêneros de primatas não humanos

Lesões Histopatológicas	Alouatta			Callithrix			Sapajus			Teste de Fischer p(0,05)*	Teste de Fischer (p-ajustado) p(0,05)**		
	A	P	%	A	P	%	A	P	%		Callithrix vs Alouatta	Sapajus vs Alouatta	Sapajus vs Callithrix
	Corpúsculo de Councilman Rocha-lima	0	31	100,0%	2	28	93,3%	0	14		100,0%	0,497	
Necrose	3	28	90,3%	2	28	93,3%	4	10	71,4%	0,142			
Esteatose microvacuolar	16	15	48,4%	4	26	86,7%	2	12	85,7%	<b>0,002*</b>	<b>0,007**</b>	1,000	
Dissociação dos hepatócitos	10	21	67,7%	14	16	53,3%	6	8	57,1%	0,502			
Hemorragia	20	11	35,5%	13	17	56,7%	14	0	0,0%	<b>0,00*</b>	0,126	<b>0,001**</b>	
Congestão	26	5	16,1%	16	14	46,7%	10	4	28,6%	<b>0,033*</b>	<b>0,040**</b>	0,428	
Hipertrofia de células de Kupffer	22	9	29,0%	19	11	36,7%	11	3	21,4%	0,241			
Inflamação polimorfonuclear	27	4	12,9%	28	2	6,7%	8	6	42,9%	<b>0,012*</b>	0,671	<b>0,024**</b>	
Inflamação mononuclear	29	2	6,5%	15	15	50,0%	13	1	7,1%	<b>0,000*</b>	<b>0,000**</b>	<b>0,011**</b>	
Esteatose macrovacuolar	28	3	9,7%	28	2	6,7%	12	2	14,3%	0,685			
Hiperplasia dos ductos biliares	31	0	0,0%	28	2	6,7%	13	1	7,1%	<b>0,025*</b>	<b>0,029**</b>	0,342	

Legenda:

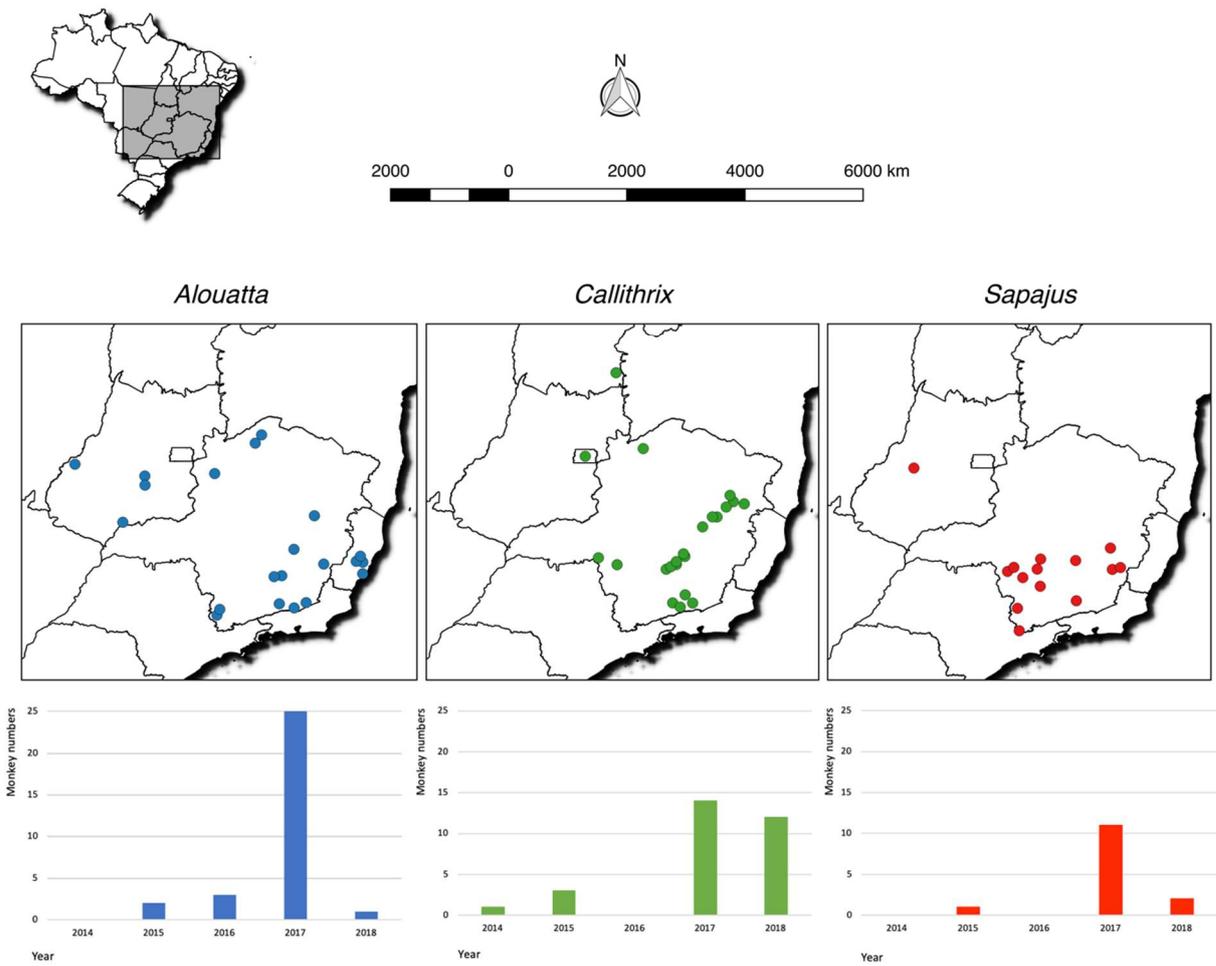
A: Ausência de lesão; P: Presença de lesão

Tabela 2. Análise comparativa da localização e intensidade das lesões hepáticas entre os três gêneros de primatas.

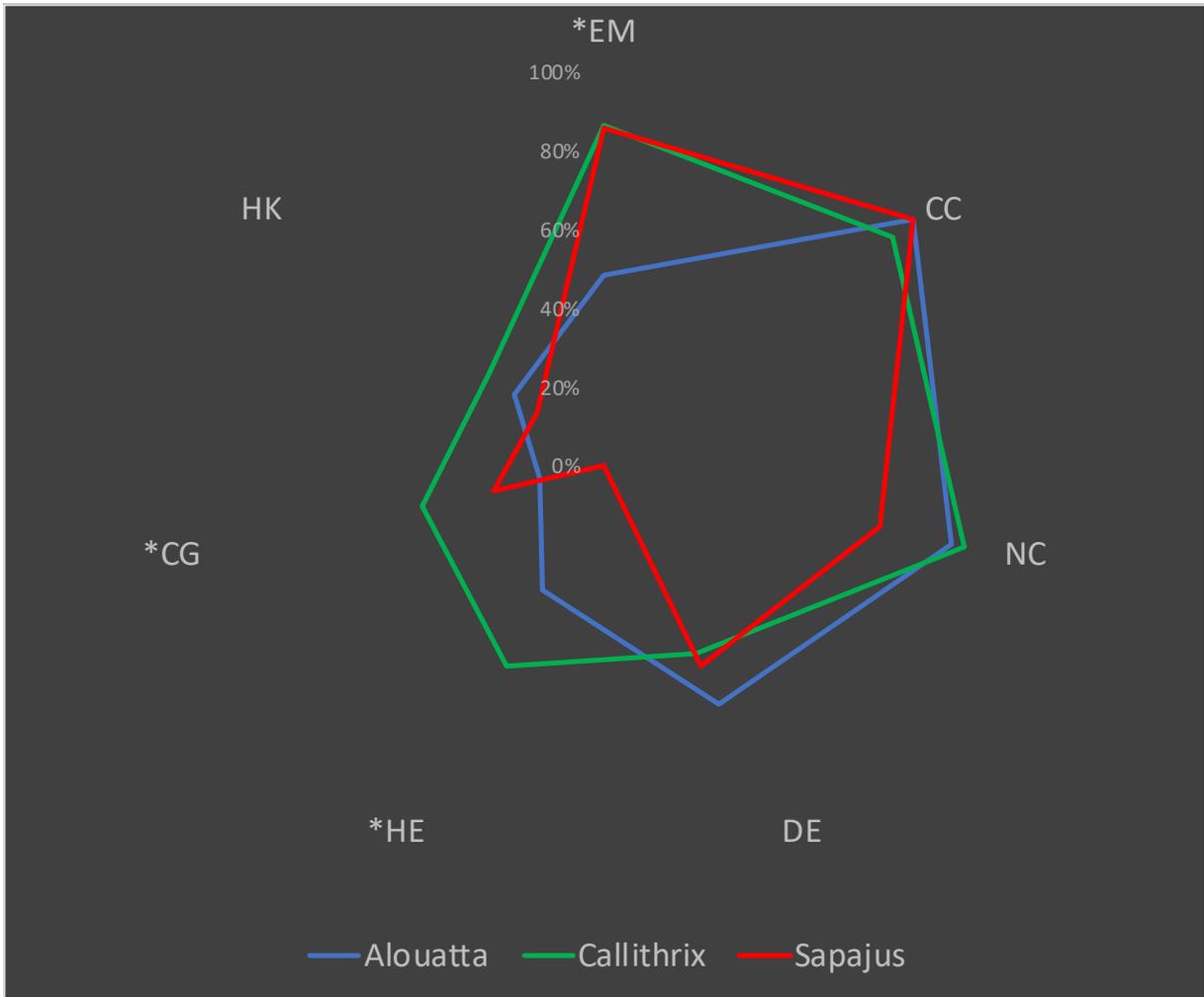
Lesão Histopatológico	Gêneros	Teste de Friedman p(0,05)*	Teste de Wilcoxon (post-hoc) p(0,05)**			Interpretação
			MZ vs CL	PP vs CL	PP vs MZ	
Corpúsculo de Councilman Rocha-lima	<i>Alouatta</i>	<b>0,000*</b>	<b>0,001**</b>	0,245	<b>0,003**</b>	MZ>(CL, PP)
	<i>Callithrix</i>	<b>0,000*</b>	<b>0,000**</b>	0,350	<b>0,000**</b>	MZ>(CL, PP)
	<i>Sapajus</i>	<b>0,000*</b>	<b>0,021**</b>	0,055	<b>0,010**</b>	MZ>(CL, PP)
Necrose	<i>Alouatta</i>	<b>0,003*</b>	0,082	0,089	<b>0,035**</b>	(MZ>PP)=CL
	<i>Callithrix</i>	<b>0,000*</b>	0,439	<b>0,006**</b>	<b>0,000**</b>	(MZ=CL)>PP
	<i>Sapajus</i>	<b>0,004*</b>	0,144	0,144	0,058	MZ=CL=PP
Esteatose microvacuolar	<i>Alouatta</i>	<b>0,007*</b>	<b>0,012**</b>	0,227	0,105	(MZ>CL)=PP
	<i>Callithrix</i>	<b>0,019*</b>	<b>0,020**</b>	0,110	0,290	(MZ>CL)=PP
	<i>Sapajus</i>	0,207				
Dissociação dos hepatócitos	<i>Alouatta</i>	<b>0,002*</b>	0,766	0,067	<b>0,018**</b>	(MZ>PP)=CL
	<i>Callithrix</i>	<b>0,000*</b>	0,089	<b>0,007**</b>	<b>0,011**</b>	(MZ=CL)>PP
	<i>Sapajus</i>	<b>0,004*</b>	0,371	0,107	0,058	MZ=CL=PP
Hemorragia	<i>Alouatta</i>	<b>0,001*</b>	0,095	<b>0,013**</b>	0,095	(CL>PP)=MZ
	<i>Callithrix</i>	<b>0,000*</b>	0,322	<b>0,001**</b>	<b>0,001**</b>	(MZ=CL)>PP
	<i>Sapajus</i>	1,000				
Congestão	<i>Alouatta</i>	0,223				
	<i>Callithrix</i>	<b>0,000*</b>	0,424	<b>0,006**</b>	<b>0,006**</b>	(MZ=CL)>PP
	<i>Sapajus</i>	0,097				
Inflamação polimorfonucleares	<i>Alouatta</i>	<b>0,050*</b>	0,690	0,220	0,690	MZ=CL=PP
	<i>Callithrix</i>	0,607				
	<i>Sapajus</i>	0,229				
Esteatose macrovacuolar	<i>Alouatta</i>	-				
	<i>Callithrix</i>	0,223				
	<i>Sapajus</i>	0,368				
Inflamação mononuclear	<i>Alouatta</i>	0,135				
	<i>Callithrix</i>	<b>0,004*</b>	0,184	0,184	<b>0,028**</b>	(MZ>PP)=CL
	<i>Sapajus</i>	1,000				

Legenda:

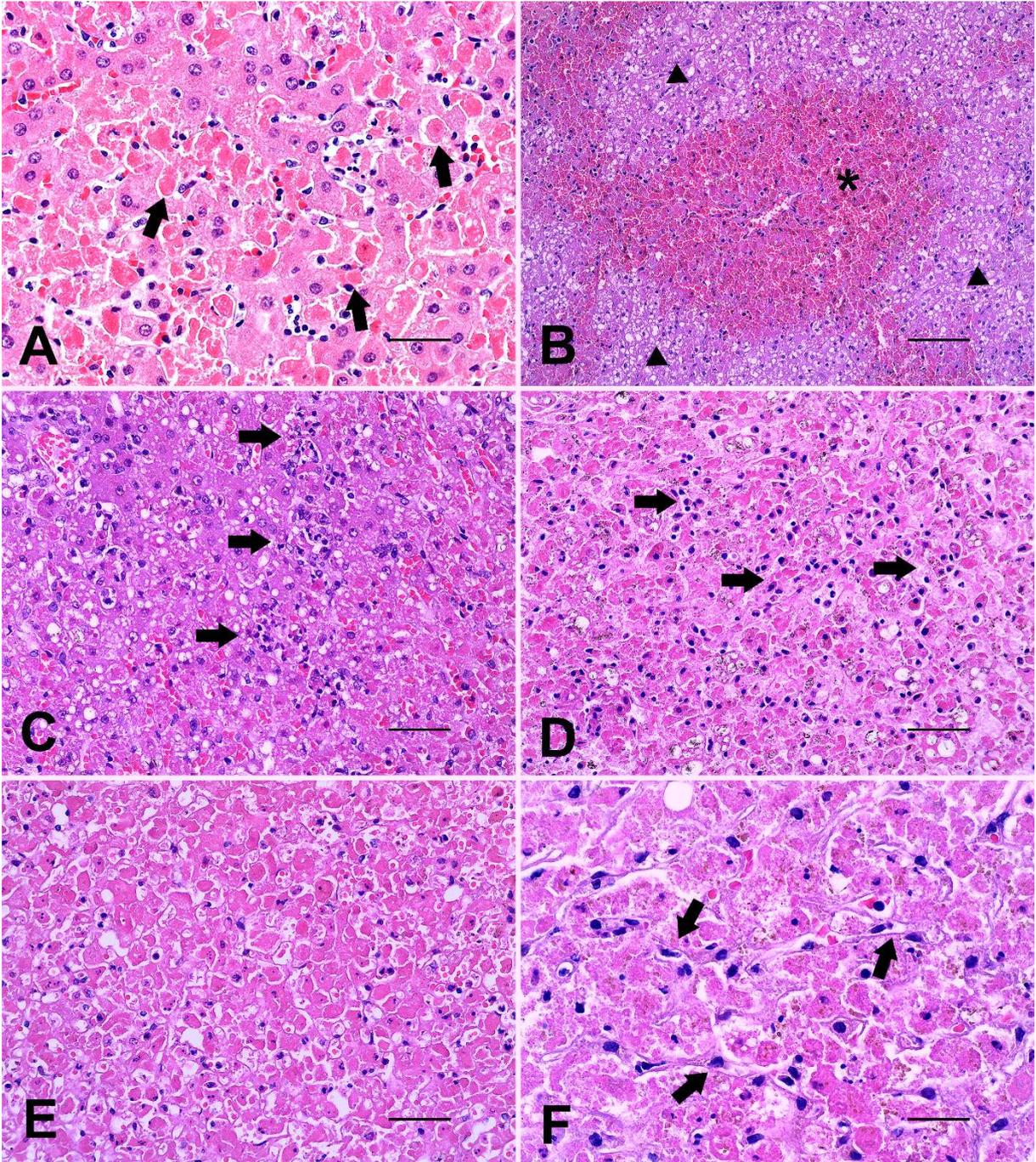
MZ: Mediozonal; CL: Centrolobular; PP: Periportal



**Figura 1.** Distribuição espaço-temporal das epizootias em PNH selecionadas para o estudo, Brasil, janeiro/2014 a dezembro/2018.



**Figura 2.** Lesões hepáticas mais frequentes entre os gêneros de PNHs. EM: Esteatose microvacuolar; CC: Corpúsculo de Councilman Rocha-Lima; NC: Necrose; DE: Dissociação dos cordões de hepatócitos; HE: Hemorragia; CG: Congestão; HK: Hipertrofia de células de Kupffer; \*Teste de Fisher – ( $p < 0,05$ )



**Figura 3.** Primatas não-humanos naturalmente infectados pelo vírus da FA, fígado. **A.** Corpúsculo de Councilman Rocha-Lima (setas) e necrose de hepatócitos (*Aloautta* sp., HE, barra=25  $\mu$ m). **B.** Hemorragia mediozonal e centrolobular (\*) e esteatose moderada nos hepatócitos adjacentes ( $\blacktriangle$ ) (*Callithrix* sp., HE, barra=250  $\mu$ m). **C.** Infiltrado inflamatório multifocal de polimorfonucleares (setas) (*Sapajus* sp., HE, barra=50  $\mu$ m). **D.** Infiltrado inflamatório multifocal de células inflamatórias mononucleares (setas) (*Sapajus* sp., HE, barra=50  $\mu$ m). **E.** Marcante dissociação dos cordões de hepatócitos (*Aloautta* sp., HE, barra=50  $\mu$ m). **F.** Moderada hipertrofia das células de Kupffer (*Aloautta* sp., HE, barra=50  $\mu$ m).