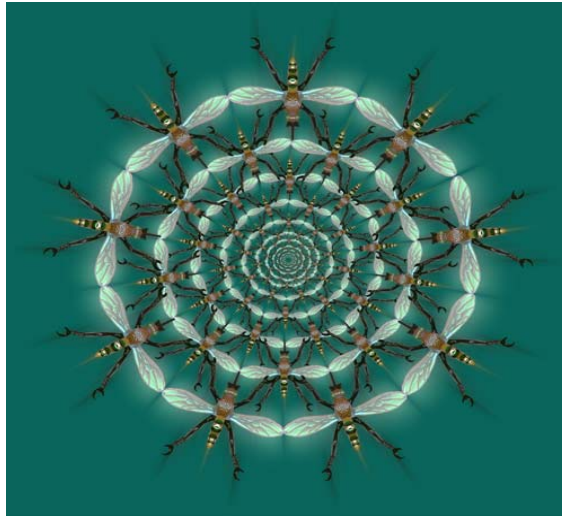




DISCIPLINA DE VIROLOGIA

A FEBRE AMARELA A FEBRE AMARELA

(MONOGRAFIA)



Ana Rita nº 16155

Cátia Cantante nº 17102

Nelson Tomás nº 14869

Sara Maridalho nº 16911

2004

PREFÁCIO

Esta monografia foi elaborada no âmbito da cadeira de Virologia leccionada pelo Profº Doutor Carlos Sinogas.

Neste trabalho pretendia-se, do ponto de vista pedagógico, que os alunos interagissem entre si, como grupo, em termos de pesquisa e de conhecimentos adquiridos, de forma a elaborarem uma monografia que contempla ser uma possível abordagem teórica no âmbito das matérias específicas leccionadas na disciplina.

Assim sendo, o trabalho apresentado contém uma possível revisão dos conhecimentos, sobre um tema (arbovírus - febre amarela) deste complexo e interessante domínio do conhecimento que é a Virologia, assim como uma introdução geral à temática dos vírus.

INTRODUÇÃO:

Na antiguidade, o termo vírus foi utilizado como sinónimo de veneno e referia-se a agentes de natureza desconhecida que provocavam diversas doenças.

A descoberta dos vírus deve-se a Dmitri Ivanowsky que em 1892, ao estudar a doença chamada “mosaico do tabaco” detectou a possibilidade de transmissão da doença a partir de extractos de vegetais doentes para vegetais sadios. Em 1935, isolaram-se e observaram-se pela primeira vez cristais de vírus, cuja composição parecia ser principalmente de natureza proteica. Porém, constatou-se mais tarde a presença de uma pequena quantidade de ácidos nucleicos.

As suas estruturas moleculares são apenas visíveis ao microscópio electrónico, pelo que o conhecimento dos vírus a este nível aumenta à medida que a tecnologia em microscopia electrónica evolui. Os vírus são tão pequenos que podem penetrar nas células das menores bactérias que se conhecem.

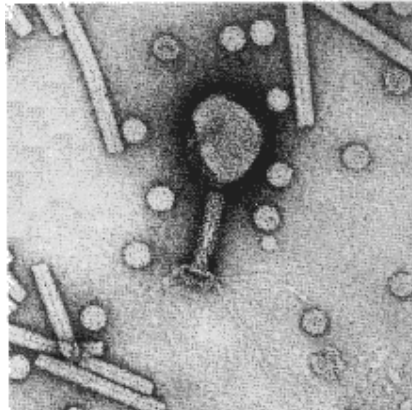


Figura 1: Estruturas de vários vírus observados ao microscópio electrónico: as partículas esféricas são os vírus do mosaico amarelo do nabo; os cilindros longos são os vírus do mosaico do tabaco e no centro, temos, o bacteriófago T4. Adaptado de (12).

Os vírus não são incluídos nos sistemas tradicionais de classificação dos seres vivos por não apresentarem características morfológicas celulares e por serem considerados partículas ou fragmentos que só adquirem manifestações vitais quando parasitam células vivas.

Os vírus são extremamente simples e diferem dos demais seres vivos pela inexistência de organização celular, por não possuírem metabolismo próprio e por não serem capazes de se reproduzir sem estarem dentro de uma célula hospedeira. São portanto, parasitas intracelulares obrigatórios, responsáveis, por vezes, por várias doenças infecciosas.

Geralmente, inibem o funcionamento do material genético da célula infectada e passam a comandar a síntese das proteínas.

Os vírus são constituídos por dois componentes essenciais: a parte central (cerne), onde se encontra o genoma, que pode ser DNA ou RNA, associado a uma “capa” proteica denominada cápside, formando ambos a nucleocápside. O virião constitui a última fase de desenvolvimento do vírus, ou seja, a partícula infectante madura.

O envelope é uma característica comum nos vírus de animais, porém incomum nos vírus de plantas.

Os vírus podem variar consideravelmente de tamanho, normalmente entre os 15 e os 300nm. Em termos de comparação podemos referir que as bactérias possuem aproximadamente 1000nm e as hemácias 7500nm de

diâmetro. O genoma dos vírus pode ser formado de DNA ou de RNA, nunca ambos. A exceção conhecida é o vírus da Hepatite B.

Os vírus não possuem actividade metabólica fora da célula hospedeira, pois não possuem ribossomas nem qualquer aparato para a síntese proteica, não possuem cadeias transportadoras de electrões e portanto, são incapazes de “fosforilar” ou de “desfosforilar” o que quer que seja como fonte de obtenção de energia.

Desta forma, os vírus apenas se replicam dentro das células vivas. O ácido nucleico viral contém informações necessárias para programar a célula hospedeira infectada, de forma a que esta passe a sintetizar várias macromoléculas específicas do vírus e, portanto, necessárias à sua progenia. Fora da célula as partículas virais são metabolicamente inertes mas podem infectar células animais, vegetais e de microrganismos. Algumas vezes não produzem prejuízos aos hospedeiros embora demonstrem efeitos visíveis.

No interior das células, a informação levada pelo genoma viral, faz com que a célula infectada produza novos vírus, levando-nos a pensar nos vírus como organismos excepcionalmente simples (12).

ARBOVÍRUS:

A designação de arbovírus (arthropod-borne viruses) não possui qualquer significado taxonómico.

Contudo, esta designação permitiu agrupar, até 2002, mais de 535 vírus a RNA, com envelope, que são transmitidos principalmente (mas não exclusivamente) por vectores artrópodes, tais como: mosquitos, mosca-da-areia, pulgas, carraças, etc.

O termo “vírus transmitidos por artrópodes” foi utilizado pela primeira vez em 1942. Estes vírus estão associados às encefalites e são transmitidos por picadas de mosquitos. Mais tarde, em 1963, após um maior leque de conhecimentos e algumas alterações de nome, o Internacional Committee for Taxonomy of Viruses (ICTV) decidiu denominar este grupo de vírus (maior até então conhecido) por arbovírus. A primeira definição de arthropod-borne foi: agentes com capacidade para infectar certos vertebrados, mamíferos e aves e de

se multiplicarem no corpo do artrópode (13). Hoje em dia esta definição já não é usada, pois sabe-se que os arbovírus são vírus animais, transmitidos biologicamente entre vertebrados susceptíveis, por intermédio de artrópodes hematófagos. Estes vírus provocam virémia no vertebrado, multiplicando-se nos tecidos dos artrópodes infectados, sendo posteriormente inoculados a um novo vertebrado não imune. Os arbovírus não provocam a morte do artrópode mas podem provocar a morte ou doença do vertebrado onde se multiplicam (15).

Este grupo de vírus foi, recentemente, dividido em **cinco** famílias distintas:

Características	Família/(Género)				
	<i>Togaviridae</i> (<i>Alphavirus</i>)	<i>Flaviviridae</i> (<i>Flavivirus</i>)	<i>Bunyaviridae</i> (<i>Bunyavirus</i>)	<i>Rhabdoviridae</i> (<i>Rhabdovirus</i>)	<i>Reoviridae</i> (<i>Reovirus</i>)
Tipo de Simetria	Icosaédrica	Icosaédrica	Helicoidal	Em forma de bala	Icosaédrica
Diâmetro aproximado (µm)	60-70	40-60	80-100	170 × 70	60-80
Genoma (RNA) Tamanho (kb)	(+)ss RNA 9,7-11,8	(+)ss RNA 10,7	(+ -)ss RNA triplamente segmentado 9,7-11,8	(-)ss RNA 13-16	ds RNA 10-12 segmentos 10-27kpb
Número de fragmentos de RNA	1	1	3	1	10-12
Número de serótipos identificados	28	69	253	63	77
Sensibilidade aos solventes dos lipídios: éter/desoxicolato de sódio	+	+	+	+	-

Tabela 1: Características de 5 famílias de arbovírus. Adaptado de (13).

Na tabela seguinte encontram-se descritos alguns dos principais síndromas dos arbovírus, tais como o vector e o vírus responsável (habitualmente os arbovírus recebem o nome do local onde são identificados ou da doença que provocam) pela transmissão e a sua respectiva distribuição.

Síndrome	Gênero do vírus	Vector tipo	Principal vírus responsável	Distribuição geográfica
Encefalite	<i>Alphavirus</i>	Mosquito	V. Enc. Equi. Leste V. Enc. Equi. Oeste V. Enc. Equi. Venezuela	EUA, Costa Oriental, Costa Ocidental, Caraíbas e América do Sul
Encefalite	<i>Flavivirus</i>	Mosquito	Vírus da Enc. Jap. B	Ásia Oriental
Febre Amarela (Febre Hemorrágica)	<i>Flavivirus</i>	Mosquito	Vírus da Febre Amarela	África, América do Sul
Encefalite	<i>Flavivirus</i>	Carraças	Vírus Louping ill	Reino Unido, Irlanda, Norte de Espanha
Encefalite transmitida por carraças	<i>Flavivirus</i>	Carraças	Vírus TBE	Toda a Europa Central e Oriental, para além dos Pirinéus
Encefalite	<i>Bunyavirus</i>	Mosquito	Vírus La Crosse	EUA
Febre, Febre Hemorrágica	<i>Flavivirus</i>	Mosquito	V. Dengue tipo 1 a 4	América Central e do Sul, Caraíbas, África, Ásia
Febre, Artralgias	<i>Alphavirus</i>	Mosquito	V. Chikungunya (Katolu-tolu)	África, Ásia
Febre Hemorrágica	<i>Nairovirus</i>	Carraças	V. Febre Hemorrágica Congo- crimeia	Europa Oriental e do Sul, África, Ásia
Febre, Meningite	<i>Phlebovirus</i>	Flebótomo	Vírus Toscana	Itália, Portugal

Tabela 2: Principais doenças causadas por arbovírus. Adaptado de (13).

A maioria destes vírus são relativamente frágeis, não resistindo à dissecação, portanto, estão dependentes dos vectores para poderem ser transmitidos. Assim, esta dependência tende a limitá-los às regiões tropicais e subtropicais, com excepção da rubéola e da HCV.

Estes vírus apresentam ciclos de vida complexos e replicam-se em ambos os hospedeiros primários, secundários (que podem ter como final a morte) e nos vectores artrópodes. Portanto, existem vários animais que servem como reservatórios para cada tipo de vírus. Assim, a erradicação é praticamente

impossível e a melhor aproximação consiste em bloquear a transmissão através da vacinação humana e/ou erradicação do vector, por exemplo os mosquitos:

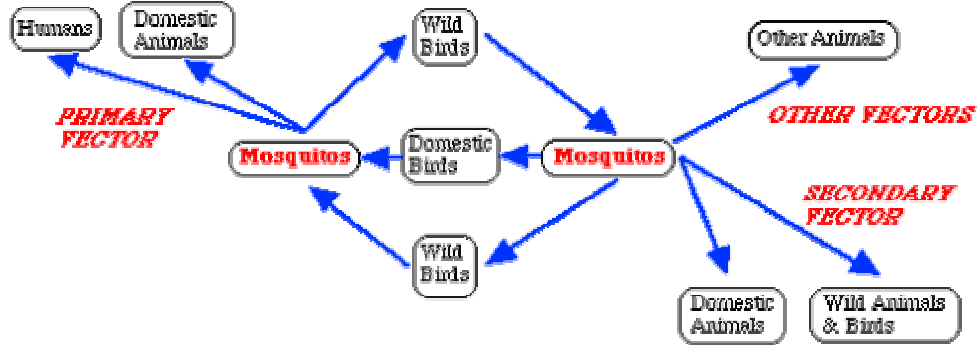


Figura 3: Esquema de transmissão dos arbovírus. Adaptado de (11).

ORGANIZAÇÃO GENÓMICA:

Flaviviridae:

O genoma destes vírus é constituído por (+)RNA de cadeia simples, com ~10,5kb. O extremo 5' apresenta cap mas o genoma não é poliadenilado. A Organização genética difere da dos *Togavirus* – proteínas estruturais situadas no extremo 5' do genoma em vez de estarem no extremo 3'.

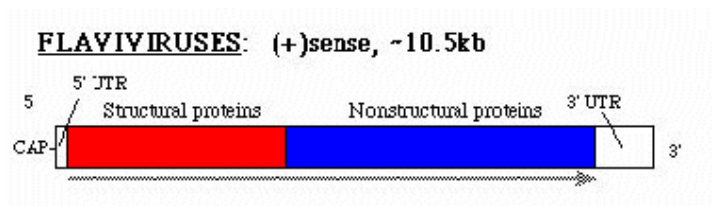


Figura 4: Organização genómica dos flavivírus. Adaptado de (11).

MECANISMOS DE REPLICAÇÃO:

Para especificar o mecanismo de replicação dos *flavivírus*, torna-se necessário primeiro abordar os mecanismos dos *togavírus*. Estes vírus caracterizam-se por apresentarem a tradução dividida em etapas:

1- O genoma de (+)RNA ('49S' = 11.7kb) actua directamente como mRNA e é parcialmente traduzido (terminal 5') para produzir as proteínas N e S.

2- Estas proteínas são responsáveis pela replicação, formando a cadeia a cadeia complementar (-) que serve de molde para futuras sínteses de (+)RNA.

3- São sintetizados 2 tipos de (+)RNA: RNA genómico (full length genomic RNA) e uma porção do mesmo (sub-genomic) com '26S' = 4.1kb

4- A tradução das cadeias de RNA subgenómicas recém sintetizadas, resulta na produção de proteínas estruturais (a partir do extremo 3' do genoma).

5- A montagem ocorre na superfície da célula e o envelope é adquirido à medida que o vírus efectua o “budding”. A libertação e a maturação ocorrem praticamente em simultâneo.

A replicação ocorre no citoplasma de forma rápida (~4h e 20 a 30h para os flavivírus). Os receptores celulares não são conhecidos. As glicoproteínas espiculadas são responsáveis pela ligação ao receptor.

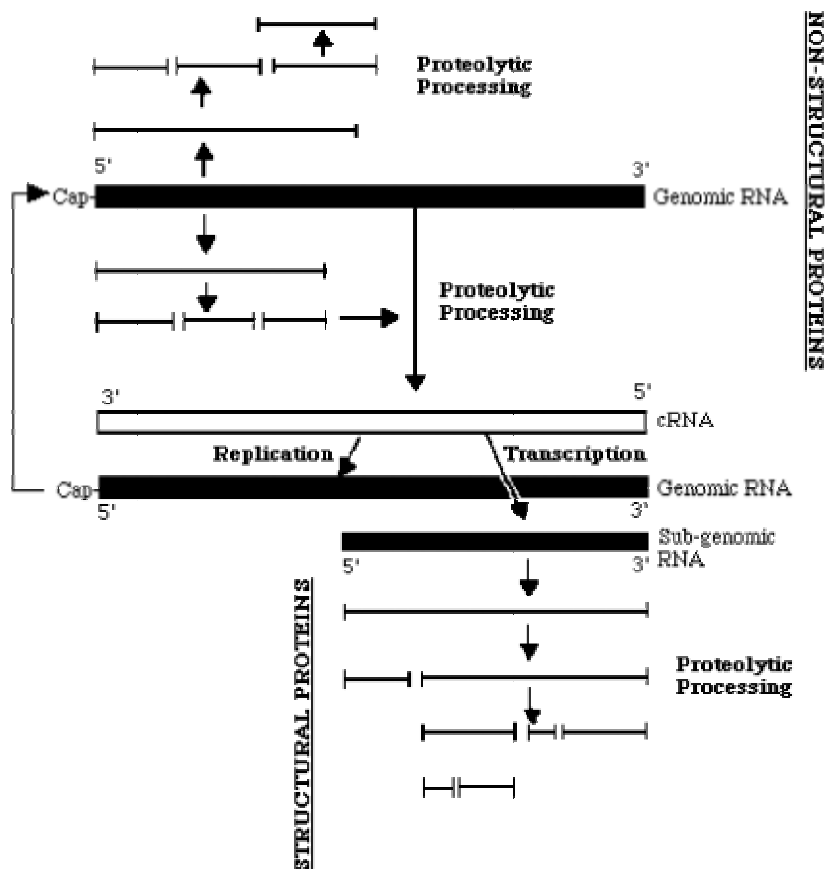


Figura 6: Mecanismos de replicação dos togavírus. Adaptado de (11).

REPLICAÇÃO DOS FLAVIVIRUS:

As etapas iniciais são semelhantes às dos vírus toga (ocorrem no citoplasma) mas, existem diferenças significativas:

- i. O genoma viral é traduzido integralmente numa poliproteína que é depois clivada em várias proteínas.
- ii. A cadeia (-)RNA é sintetizada pelas proteínas N e S e utilizada como cadeia molde para a síntese do RNA genómico da progenia.

- iii. A montagem ocorre durante o “budding”, que ocorre nas membranas dos organelos celulares, em vez de ser na superfície celular como nos vírus toga. A libertação ocorre aquando da lise da célula. Adaptado de (11).

Contudo, este trabalho visa contemplar em maior detalhe a família *Flaviviridae*.

A família *Flaviviridae* divide-se em três géneros: os *Flavivirus*, os *Pestivirus* e os *Hepacivirus*. Antigamente, os flavivírus e os pestivírus eram classificados noutra família de vírus, os togavírus, até que estudos posteriores dos genes virais, de estrutura e ciclo de replicação, demonstraram que os flavivírus evoluíram de um modo diferente (9 e 10).

Os vírus agrupadas no género *Flavivirus* provocam muitas doenças no Homem como febre do dengue, encefalitis, febres hemorrágicas e a febre amarela. Já aqueles do género *Pestivirus* afectam somente o gado. Os do género *Hepacivirus*, que consistem nos vírus da hepatite C, afectam aproximadamente 3% da população humana global (9 e 10).

Na imagem seguinte ilustra-se numa escala de tempo as datas em que algumas das doenças causadas por estes vírus foram descobertas.



Figura 7 – Timeline da família dos *Flaviviridae* (9 e 10).

Como se referiu, o genoma dos flavivírus é constituído por cadeias simples de (+)RNA, pelo que os próprios ácidos nucleicos infecciosos, ou seja, isolados são capazes de provocar uma infecção em células hospedeiras apropriadas.

Os viriões possuem envelope e uma estrutura icosaédrica. Há 3 proteínas estruturais principais: proteína E (envelope), proteína M (membrana ou matriz) e proteína C (cápside). As proteínas E constituem a maioria das proteínas de superfície e estão, provavelmente, integradas na ligação aos receptores e na fusão de membranas com células hospedeiras (9 e 10).

Geralmente, os anticorpos do hospedeiro reconhecem as proteínas E nas respostas imunitárias. As proteínas M são essenciais para a maturação de partículas virais imaturas em formas infecciosas. Enquanto que as proteínas C ajudam na formação das nucleocápsides (9 e 10).

Os flavivírus ligam-se aos receptores das células hospedeiras através das proteínas E. Os viriões entram na célula através de endocitose mediada pelos receptores, após a fusão das membranas viral e celular, processo durante o qual a nucleocápside viral se desintegra sendo os viriões transcritos em mRNA e traduzidos em várias proteínas (9 e 10).

O interessante da tradução é que uma grande poliproteína é traduzida do mRNA e é posteriormente dividida pelas proteases em dez ou mais produtos separados. O RNA é então replicado no citoplasma. Posteriormente, as partículas virais juntam-se e amadurecem no lúmen do retículo endoplasmático e os viriões são finalmente libertados da célula hospedeira (9 e 10).

Ambos os géneros *Pestivirus* e *Hepacivirus*, contêm locais de entrada nos ribossomas internos que permitem que se processe a iniciação da tradução para os ribossomas hospedeiros ao passo que o género *Flavivirus* inicia síntese proteica através de uma técnica de “scanning” ribossomal (9 e 10).

Em termos de morfologia podemos resumir que os viriões se assemelham a esferas com 40-65nm de diâmetro, com projecções superficiais que consistem em pequenos espinhos (6nm) rodeados por uma margem proeminente. São construídos através de duas proteínas virais: E e preM no caso de partículas de vírus associadas a células, e E e M no caso de partículas extracelulares. É possível diferenciar o envelope lipídico, obtido aquando do abandono da célula hospedeira, por baixo do qual se encontra uma cápside icosaédrica com 25-30nm de diâmetro (Figura 8). O núcleo é isométrico com um diâmetro de 30nm.

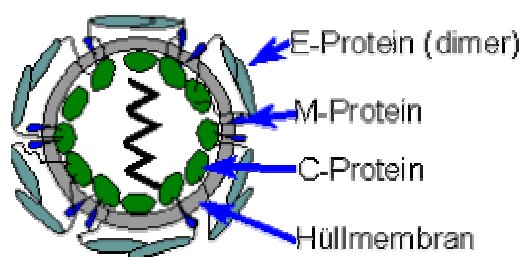


Figura 8 – Estrutura de um virião (9 e 10).

ASPECTOS CLÍNICOS:

Quadro clínico:

O período de incubação varia usualmente entre 3 a 6 dias. O quadro clínico caracteriza-se por início abrupto com febre alta (que pode atingir temperaturas de 39-40°C), calafrios, intensas cefaleias (dores de cabeça), dor lombar, mialgias (dores musculares), anorexia, náuseas e vômitos, pequenas hemorragias nas gengivas ou epistaxes, prostração, congestão conjuntival, astralgia e fotofobia com uma duração de cerca de 3 dias (2).

Este período corresponde ao **período de infecção**, durante o qual o vírus amarelado está presente no sangue. Após este período grande parte dos doentes (85%) recupera completamente e o indivíduo fica permanentemente imunizado contra a doença. Os restantes doentes entram num **período de remissão** com uma atenuação dos sintomas e uma fase de aparente melhora, seguida da reexacerbação dos sintomas (pode não existir) que dura, normalmente, 24 horas (1 e 14). A febre reaparece assim, com sintomas mais frequentes de vômitos, dores epigástricas e icterícia progressiva (olhos e coloração amarelos, daí o nome de febre amarela) – **período de intoxicação**. A virémia encontra-se normalmente ausente e os anticorpos, aparecem durante esta fase. Em simultâneo, ocorrem fenómenos hemorrágicos (hemorragias de coloração negra) como epistaxe, hemorragias bucais e cutâneas, hematemese e melena, equimose, hipotensão bradicardia (dissociação, pulso – temperatura, ou seja, sinal de Faget) e prostração acentuada. O comprometimento do sistema nervoso central manifesta-se em geral por delírio, convulsão e coma (2 e 14). A função renal deteriora-se, o que pode resultar de um nível anormal de proteínas na urina (albuminúria). Neste quadro que caracteriza uma síndrome hepato-nefrotóxica termina entre o sétimo e décimo dia da doença (2).

Cerca de 20 a 50% dos casos notificados de pacientes que se encontram na “fase tóxica” são letais, acabando estes por morrer em 10 a 14 dias, mesmo quando sujeitos às melhores condições de assistência médica (3 e 14).

DIAGNÓSTICO:

A febre amarela é difícil de diagnosticar, especialmente durante os estados iniciais (3). Por vezes, torna-se necessário efectuar um diagnóstico diferencial com outras infecções. De acordo com as regiões de incidência, assim deve ser colocada a hipótese de existência de outras doenças com sintomas similares, cujos principais diagnósticos são: hepatite viral aguda fulminante, malária pelo *Plasmodium falciporum*, leptospirose, septicémias bacterianas, dengue, febre do Vale do Rift, vírus Congo-Crimeia, rickettsiose, febre de Lassa, tifoide, febre Q, ébola e intoxicação química (envenenamento e indução de drogas) (2, 3, 13 e 14).

O diagnóstico específico depende do estudo histopatológico, isolamento do vírus, demonstração do antígeno viral ou resposta específica de anticorpos. O vírus amarelíco adquire-se em melhores condições a partir do soro obtido durante os primeiros 4 dias da doença, mas pode ser recuperado a partir de soro com 14 dias e, ocasionalmente, através de tecido do fígado na altura da morte do indivíduo infectado (14).

As tentativas de isolamento podem ser efectuadas por inoculação em culturas de células de ratos e mosquitos, em amostras de sangue ou fígado. As células mais utilizadas, actualmente, são provenientes de artrópodes, como por exemplo C/36, AP61 e TRA284 de *Aedes albopictus*, *Aedes pseudoscutellaris* e *Toxorhynchites amboinensis*, respectivamente (5).

A colheita de sangue deve ser feita em condições de assépsia, de preferência nos seis primeiros dias da doença. As amostras devem ser conservadas em gelo, ou a 4°C no frigorífico, se a inoculação for feita no mesmo dia. Caso seja necessário mais tempo para o transporte, os espécimes deverão ser identificados e ultracongelados em temperaturas inferiores a -60°C, mantidos em gelo seco ou azoto líquido, devidamente identificados com a ficha de investigação epidemiológica do laboratório (5).

A detecção do vírus poderá ser efectuada através de processos de imunofluorescência com a utilização de reagentes monoclonais e policlonais, PCR (Polymerase Chain Reaction) e/ou hibridação de ácidos nucleicos para uma detecção precoce, demonstração de anticorpos específicos por complexos de antígenos virais ou antígenos IgM pelas técnicas de *Immunoassay* ou ELISA (esta apresenta uma sensibilidade de detecção de 70%) e aumento significativo de anticorpos específicos em amostras de soro (14). Nesta última, as técnicas mais utilizadas são a Inibição da Hemaglutinação (IH), Fixação do Complemento (FC) e Neutralização (TN). Independentemente do teste adoptado, o diagnóstico está relacionado com o aumento de quatro ou mais vezes, no título de anticorpos específicos, entre amostras de soro colhidas nas fases aguda e de convalescência da doença. As amostras devem ser analisadas simultaneamente e devem ser colhidas com intervalo de 14 a 21 dias. As principais técnicas são:

- **Inibição da Hemaglutinação (IH)**: indicada para sorologia de rotina sensível. Fácil execução e requer equipamento simples. Ideal para estudos soropidemiológicos. Detecta anticorpos que aparecem na primeira semana após o início da doença;
- **Fixação de Complemento (FC)**: menos sensível e mais específica. Detecta anticorpos que aparecem mais tardiamente (na segunda semana da doença), ou que persistam em títulos moderados, por períodos prolongados (pelo menos dois anos);
- **Neutralização (TN)**: a mais específica. Detecta anticorpos que aparecem precocemente (na primeira semana) e permanecem por muitos anos (provavelmente toda a vida). O diagnóstico sorológico para a febre amarela é sugestivo ao demonstrar a presença de IgM específica nos soros iniciais, ou um aumento do título de anticorpos específicos em pares de soros obtidos na fase aguda da doença e na fase da convalescência. Ocorrem reacções sorológicas cruzadas com outros flavivírus sendo impossível diferenciar os anticorpos provenientes da vacina contra a febre amarela, dos anticorpos produzidos por imunidade natural;
- **MAC-ELISA**: técnica imunoenzimática que permite o diagnóstico através da

detecção de anticorpos da classe IgM. É bastante sensível, dispensando amostras de soro. A presença de anticorpos pode ser detectada através da recolha de uma amostra de soro a partir do sexto dia da doença. Esses anticorpos surgem precocemente (na primeira semana da doença) e perduram por cerca de 90 a 120 dias. A sua detecção indica infecção activa ou recente, tendo um valor diagnóstico (5).

TRATAMENTO:

A febre amarela não tem tratamento específico. Os indivíduos suspeitos de possuírem a infecção desta doença, devem ser internadas para investigação diagnóstica e tratamento de suporte, que é realizado basicamente com hidratação e antipiréticos. Não deve ser utilizado nenhum medicamento para a dor ou para a febre que contenha ácido acetil-salicílico (*AAS®*, *Aspirina®*, *Melhoral®* etc.), que possa aumentar o risco de sangramentos. Pelo menos durante os cinco primeiros dias de doença é imprescindível que estejam protegidas com mosquiteiros, uma vez que durante esse período podem ser fontes de infecção para o *Aedes aegypti*. As formas graves da doença necessitam de um tratamento intensivo e medidas terapêuticas adicionais, como diálise peritoneal e, eventualmente, transfusões de sangue (1).

A maioria dos doentes não beneficiam da disponibilidade de cuidados intensivos modernos. Desconhecem-se as formas de fluídos, a correcção de hipotensões, os electrólitos e as perturbações ácido-base que revertem o curso natural da doença. Alguns compostos *in vitro* com actividade antiviral como a ribavirina e compostos derivados, têm sido descritos. A ribavirina inibe a replicação *in vitro* do vírus da febre amarela mas em concentrações mais elevadas que as existentes *in vivo* (14).

ASPECTOS EPIDEMIOLÓGICOS :

A febre amarela é uma doença infecciosa aguda e hemorrágica, porque uma das proteínas contidas no envelope do vírus, inibe a coagulação do sangue (2).

A história natural da febre amarela é a mesma da exploração do Novo Mundo, pois esta seguiu as rotas de exploração desde a África Central até à América (acredita-se que a doença foi trazida para a América através de ovos de mosquitos nos barris de água dos navios) e daí para a Europa. As primeiras epidemias ocorreram no México e em Cuba, em 1648. A doença chegou pela primeira vez ao Brasil no Recife, em 1685 e a Salvador, em 1692 (2).

Embora tenha tido origem em zonas silvestres tropicais, não se restringe a estas. Cidades setentrionais, como Nova Iorque, Filadélfia, Boston, Marselha e Londres já foram atingidas no passado por epidemias devastadoras, assim como a Espanha, Portugal e Itália. Em 1793, morreram 4.500 pessoas em Filadélfia e metade da população fugiu da cidade. Na construção do Canal do Panamá estima-se a morte de 22 mil trabalhadores, a maioria de febre amarela, dengue e cólera. No Brasil a febre amarela sempre esteve presente, inclusive no Rio de Janeiro, sendo endémica no começo do século, afastando navios e turistas (e por isso recebendo o epíteto de "*túmulo dos estrangeiros*", pois entre 1897 e 1906 matou 4 mil imigrantes). O médico brasileiro Oswaldo Cruz ficou famoso ao conseguir debelar a epidemia através do combate aos mosquitos. Também foi a principal responsável pela espantosa mortalidade dos trabalhadores que construíram o caminho ferroviário Madeira-Mamoré (2).

A doença confere imunidade duradoura sem o conhecimento de uma reinfecção. Na infecção natural os anticorpos aparecem durante a primeira semana da doença e permanecem por toda a vida. A imunidade passiva transitória, de mães imunes para os seus filhos, pode durar até 6 meses. A imunidade activa é obtida mediante a aplicação da vacina contra a febre amarela (3).

TRANSMISSÃO:

A transmissão da febre amarela pode ocorrer em áreas urbanas, silváticas e rurais ("intermediária", em fronteiras de desenvolvimento agrícola) e depende apenas dos transmissores e local geográfico de aquisição de infecção (1).

O vírus da febre amarela é um vírus que sobrevive na natureza devido à existência de um ciclo biológico que envolve a transmissão biológica do vírus

por intermédio de algumas espécies de mosquitos. Destes destaca-se, em África o mosquito *Aedes aegypti* – principal vector transmissor da doença – (nas grandes florestas também o *Aedes africanus*) e, na América do Sul, o *Haemogogus* (13).

O sangue do paciente é infeccioso para o mosquito, um pouco antes do início do aparecimento da febre e durante os primeiros 3 a 4 dias da doença. Localidades onde existam muitas pessoas susceptíveis e uma elevada densidade de mosquitos transmissores, estão sujeitas a ocorrência de epidemias (3).

O ciclo extrínseco de incubação do vírus no *Aedes aegypti* é, em geral, de 9 a 12 dias nas temperaturas normais de Verão (23° a 32° C). Uma vez infectado, o *Aedes aegypti* assim permanecerá durante toda a vida que dura em média 30 a 60 dias. É importante ressaltar a possibilidade de que um indivíduo picado numa floresta, por mosquitos silváticos infectados, chega a localidades infestadas por *Aedes aegypti* ainda no período de incubação ou em plena fase virémica. Nestas condições, pode ser picado por estes mosquitos e dar início 9 a 12 dias mais tarde, a um surto urbano da doença (3).

Os estudos epidemiológicos efectuados a propósito da sobrevivência deste vírus na natureza permitiram verificar que o vírus amarílico pode sobreviver num ciclo biológico urbano, em que um homem não imunizado pode ser também envolvido (13). Na Febre Amarela Urbana (FAU) o homem é o único reservatório hospedeiro vertebrado com importância epidemiológica. Na América, as últimas notificações de FAU ocorreram em Trinidad, em 1954. Desde então, não se tem registado ocorrência de Febre Amarela Urbana, transmitida pelo *Aedes aegypti* no Continente Americano. No Continente Africano, têm sido registadas epidemias de FAU ao longo dos últimos dez anos. Assim, ocorreram epidemias em Burkina-Faso (1983), onde foram notificados 286 óbitos. Na Nigéria (1986-1988), surgiram mais de 30.000 casos, tendo 10.000 um desfecho fatal. No Brasil, a FAU está erradicada desde 1942, quando foi registrada pela última vez, no município de Sena Madureira, no Acre (4).

Um outro ciclo biológico, é o ciclo da Febre Amarela Silvática (FAS), em que a transmissão do vírus se mantém na natureza, passando de mosquitos infectados para animais não imunizados, normalmente macacos. Os artrópodes

infectados, uma vez em contacto com novos animais saudáveis, permitem a sobrevivência e transmissão do vírus. Nestas condições, o vírus pode manter-se num nicho ecológico na natureza sem que o homem tenha conhecimento da sua existência (4).

O homem só tem conhecimento da presença do vírus numa determinada região quando outros adoecem e é possível efectuar um diagnóstico (13). Na FAS, os primatas não humanos são os principais reservatórios e hospedeiros vertebrados do vírus amarílico, sendo o homem um hospedeiro acidental. A FAS tem um comportamento cíclico e é sempre precedida de epizootias. Na população humana, as epidemias aparecem de forma irregular, devido a factores de interferência entre a exposição do susceptível aos vectores silváticos infectados. Isto porque, pessoas não vacinadas, especialmente imigrantes, instalam-se em área de floresta na zona enzoótica, a fim de desenvolverem actividades especialmente relacionadas com a desflorestação de áreas para a extracção de madeira, bem como para instalação de projectos agropecuários (4).

A Febre Amarela Silvática, na América tropical apresenta anualmente 100 a 200 casos, na parte setentrional da América do Sul e na bacia amazónica, incluindo as grandes planícies da Colombia e as regiões orientais do Perú e Bolívia. Ocasionalmente, a doença ocorre em todos os países do continente americano, desde o México até à Argentina, com excepção de El Salvador, Uruguai e Chile. A idade, o sexo e a ocupação são factores de risco importantes, uma vez que a grande maioria dos casos ocorre entre adultos de 16 a 35 anos. A frequência de casos é seis vezes maior no sexo masculino. Imigrantes não imunizados, oriundos de áreas endémicas da doença, que desenvolvem actividades agrícolas, constituem um dos grupos de alto risco. No período de 1973 a 1992, foram notificados 355 casos, com 252 óbitos, correspondendo a uma taxa de mortalidade de 71%. Durante este período, o maior número de casos ocorreu em Goiás, Pará, Mato Grosso do Sul e Mato Grosso, estados que se encontram dentro da extensa área enzoótica (endémica) de FAS, que é a grande região amazónica, área onde existe circulação do vírus amarílico e onde a doença se mantém permanentemente, nas florestas, entre animais, afectando o homem de forma acidental (4).

Quando o vírus circula periodicamente causando uma alta mortalidade entre a população de primatas e alguns casos humanos, é considerada epizoótica. Entretanto, a distribuição dos casos por mês tem demonstrado que a maior frequência da doença ocorre entre os meses de Janeiro a Abril, período com maior índice pluviométrico, onde a densidade vectorial é elevada, coincidindo com a época de maior actividade agrícola (4).

Investigadores franceses encontraram carraças infectadas com o vírus amarelado em algumas regiões de África, parasitando bovinos, facto que permite compreender melhor o eventual transporte a longas distâncias de artrópodes infectados, que ficam assim com capacidade para originar novos focos epidémicos afastados do nicho ecológico original (13).

ECOLOGIA DA FEBRE AMARELA NA AMÉRICA TROPICAL:

Macacos sul-americanos (*Alouatta* sp.), macacos aranha (*Ateles* sp.), macacos esquilo (*Saimiri* sp.) e macacos coruja (*Aotus* sp.) são hospedeiros virais efectivos desenvolvendo, geralmente, infecções fatais, ao passo que os macacos capucho (*Cebus* sp.) e macaco felpudo woolly (*LaGothrix* sp.) são susceptíveis a infecções virais mas usualmente não desenvolvem sinais clínicos. Esta relação instável hospedeiro-parasita pode reflectir a recente introdução do vírus, possivelmente na época em que a navegação entre África e a América foi estabelecida (século XV). Acredita-se que outros vertebrados sul-americanos, incluindo marsupiais e roedores, têm um papel insignificante no ciclo de transmissão do vírus da febre amarela, apesar de estudos posteriores parecerem legítimos (14).

Mosquitos do género *Haemagogus* são os principais vectores da febre amarela da selva tropical americana. Reproduzem-se em buracos de árvores e alimentam-se na floresta durante as horas do meio dia, mas também foram encontrados a morder humanos nas clareiras das florestas e mesmo dentro das casas em aldeias perto desta. A transmissão transovárica do vírus no *Haemagogus* tem sido demonstrada experimentalmente. Este fenómeno pode explicar, em parte, a manutenção do vírus durante épocas secas prolongadas,

quando os vectores adultos da população diminuem. O mosquito *Sabethes chloropterus*, relativamente resistente a épocas secas e ineficiente como vector, pode também ter um papel importante na sobrevivência do vírus (14).

O desenvolvimento de campanhas anti-*aegypti* na América Latina durante o século XX culminou na erradicação do vector de muitos países que rodeiam a Bacia da Amazónia e o desaparecimento da febre amarela urbana após 1942. No entanto, nos últimos 15 anos, *Aedes aegypti* reinvadiu muitas áreas. O vector urbano voltou a existir perto ou em áreas da febre amarela enzoótica, aumentando o espectro de um futuro surto epidémico urbano (14).

ECOLOGIA DA FEBRE AMARELA EM ÁFRICA:

Algumas espécies de macacos testados provaram ser hospedeiros virais efectivos, circulando o vírus por vários dias ou mais em quantidades suficientes para infectar mosquitos. A infecção raramente resulta em doença ou morte indicando uma relação equilibrada entre hospedeiro e parasita (14).

O *Aedes africanus* é responsável pela transmissão do vírus nas florestas húmidas africanas equatoriais durante todo o ano. As zonas ecológicas à volta das florestas equatoriais assumiram grande importância na ecologia da febre amarela. Apropriadamente designada por zona de emergência, as zonas de savana com vegetação suportam grandes populações concentradas de macacos e mosquitos vectores. A actividade viral intensifica-se durante a estação das chuvas e diminui durante a época seca, quando as populações de vectores desaparecem virtualmente. A espécie principal envolvida na transmissão na floresta e em humanos é *Aedes luteocephalus*, também responsável pela propagação de epidemias na raça humana. Dependendo da localização, outros vectores que participam nos ciclos de transmissão da febre amarela incluem *Aedes vittatus*, *Aedes metallicus*, *Aedes opok*, *Aedes neoafricanus* e *Aedes keniensis*. A vigilância da actividade do vírus em vectores de floresta (colhidos no Senegal) mostrou uma correlação impressionante com as epidemias que ocorreram na região oeste de África. Os eventos ecológicos subjacentes ao período de amplificação do vírus são desconhecidos mas podem reflectir flutuações regionais consoante os padrões pluviométricos (14).

Em áreas de seca, a epidemia de febre amarela ocorre numa forma intermitente e os padrões imunitários dos humanos indicam pouca ou nenhuma infecção durante os períodos entre epidemias. Nestas áreas, o armazenamento de água doméstica é uma prática intensiva sendo também as populações de *Aedes aegypti* elevadas e a introdução da febre amarela pode resultar numa explosão de um surto epidémico. As áreas urbanas ao longo da costa oeste africana também são susceptíveis – em 1987 ocorreu uma grande epidemia urbana a oeste da Nigéria (14).

A transmissão vertical do vírus da febre amarela foi documentada experimentalmente em *Aedes aegypti*. As provas para esta transmissão na natureza foram obtidas através do isolamento do vírus de machos de *Aedes furcifer* a oeste de África. Este mecanismo assegura a sobrevivência do vírus durante o longo período de seca. Foi, também, isolado a partir da carraça *Amblyomma variegatum* na República Central de África aumentando a possibilidade de que vectores alternativos podem participar na dispersão ou na manutenção do vírus em épocas secas. Raramente, foi isolado de outros artrópodes, incluindo *Aedes dentatus*, *Coquilletidia fuscopennata* e algumas moscas. Foi no entanto isolado num morcego na Etiópia. Estas observações têm interesse mas provavelmente representam uma fraca relação para a ecologia da febre amarela.

EPIDEMIOLOGIA MOLECULAR:

Através do “fingerprinting” dos oligonucleótidos de RNA e a sua sequenciação distinguem-se pelo menos três áreas topográficas (uma na América do Sul e duas em África). Em África, a sequenciação nucleotídica do gene de proteína E distinguiu estirpes isoladas a oeste de África (E-genótipo IA) e na América (E-genótipo IB) de outra a este e no centro de África (E-genótipo II). O conjunto de genes da febre amarela parece ser bastante estáveis. A deriva genética é observada em cada genótipo indicando uma taxa de mutação aleatória de 2.2 bases por ano no envelope do gene. Todos os genótipos dos vírus de febre amarela de África são capazes de ampliações rápidas, propagação de epidemia e indução de infecções altamente letais, e têm

demonstrado a capacidade de passar de ciclos de transmissão de florestas para ciclos de transmissão em ambientes urbanos (14).

PRINCIPAL VECTOR DE TRANSMISSÃO DA FEBRE AMARELA- O MOSQUITO AEADES AEGYPTI:

Este mosquito inclui-se na família Culicidae pertencendo ao subgénero *Stegomyia*. É originário das regiões egípcias de onde deriva o seu nome. É uma espécie muito temida nas regiões em que habita, principalmente as zonas tropicais e subtropicais, pois é transmissor de várias doenças, com destaque para a febre amarela e para o dengue. Habita também em meios urbanos, tendo-se adaptado a habitats artificiais, como é o exemplo dos pneus. Deste modo, devido à expansão da rede de transportes e às alterações climáticas, estas doenças estão a alastrar cada vez mais pelo globo.

DISTRIBUIÇÃO GEOGRÁFICA:

De acordo com a World Health Organization (WHO), o vírus está constantemente presente em baixos níveis de infecção (endémico) em algumas áreas tropicais da África e América. Esta presença viral pode ser amplificada em epidemias regulares. No início deste século, ocorreram alguns surtos da doença na Europa, nas ilhas das Caraíbas, América Central e América do Norte. Mesmo que os vírus não se encontrem actualmente nestas áreas, estas devem ser consideradas zonas de risco (6).

O maior número de casos e mortes ocorre na região africana subsahariana, onde a febre amarela é um grande problema de saúde pública. Trinta e dois países africanos com uma população de 468 milhões de pessoas numa área desde 15°N para 10°S no Equador, estão em grande risco. No continente americano, a febre amarela é endémica em dez países da América do Sul e algumas das ilhas das Caraíbas. A Bolívia, Brasil, Colômbia, Equador, Peru e Venezuela também são considerados de risco para a contracção da doença (6,7). Contudo, a doença, usualmente, causa apenas alguns casos esporádicos e pequenos surtos, próximo dos grandes centros urbanos nos trópicos americanos

que foram reinfestados com o *Aedes aegypti*, pois a maioria desses locais tem uma baixa cobertura de imunização. A América Latina está agora sobre um grande risco de epidemias urbanas, como nunca esteve nos últimos 50 anos (7).

A WHO apresenta uma estimativa de cerca de 200 000 casos de febre amarela por ano (com 30 000 mortos), mas apenas uma pequena percentagem desses casos são identificados. Pequenos números de casos importados também ocorrem em países que não estão infectados pela febre amarela devido à imigração (6,8). Contudo a febre amarela nunca foi reportada na Ásia sendo esta uma região de risco, pois possui os primatas e mosquitos adequados à sua transmissão (6). As explicações possíveis para que tal aconteça incluem uma protecção cruzada pela imunidade contra o dengue e baixa competência da parte dos vectores *Aedes aegypti* asiáticos (14). Na figura 9 estão representadas as zonas endémicas da febre amarela, actualmente.



Figura 9: Mapas de distribuição das zonas endémicas da ocorrência da febre amarela no ano de 2003 (à esquerda está representada a América do Sul e à direita encontra-se representado o continente Africano). Adaptado de (7).

PREVENÇÃO E CONTROLO:

A única esperança de evitar ou debelar uma epidemia é vacinar a população. A causa da febre amarela foi descoberta em 1881 por um médico cubano, Carlos Juan Finlay, que identificou a forma de transmissão através do mosquito *A. aegypti*. No entanto, só em 1900 é que o médico militar americano Walter Reed comprovou inequivocamente essa forma de transmissão e sugeriu o combate aos mosquitos. Foi a primeira doença humana a ser descoberta na qual o agente causador passava por um filtro que detinha qualquer bactéria conhecida (não se sabiam ainda o que eram os vírus) (6).

VACINAÇÃO:

A primeira vacina foi desenvolvida em 1937 por Max Theiler, da Fundação Rockefeller (6). Para a prevenção da febre amarela existe disponível, actualmente, uma vacina viva atenuada denominada 17D que protege o homem contra esta doença. Esta vacina foi desenvolvida pela World Health Organization e é preparada através da inoculação em ovos embrionados de galinha, nos quais o vírus se multiplica. O material que contém o vírus da vacina é submetido a várias operações até ser liofilizado. Dado que se trata de uma vacina preparada com uma estirpe viral viva a vacina deve ser mantida a baixa temperatura. Uma vez hidratada deve rapidamente ser injectada por via subcutânea. Uma única dose é susceptível de dar origem a uma imunidade no homem que pode durar até 10 anos. A imunidade parece, no entanto, manter-se por toda a vida, pois existem vários estudos que mostram a persistência em anticorpos durante um período de 30 a 35 anos (8 e 14).

A vacina confere imunidade em cerca de 95% dos vacinados. O início da protecção começa a partir do décimo dia (3). A vacinação resulta em baixos níveis de virémia e começa a actuar 3 a 4 dias após a inoculação (14).

O Regulamento Sanitário Internacional exige a vacinação após 10 anos. A vacinação anti-amarílica pode ser aplicada a partir dos seis meses de idade, devendo estar incluída nos programas de vacinação de crianças residentes na área endemo-epidémica e deve ser aplicada ao pessoal de laboratório

susceptível à exposição do vírus (5). As reacções adversas à vacina 17D são extremamente incomuns, mas existem algumas contra-indicações gerais como: crianças menores de 6 meses de idade são susceptíveis a eventos adversos graves (encefalite); portadores de imunodeficiência congénita ou adquirida ou neoplasia maligna (leucemias, linfomas e HIV); pacientes sob tratamentos com imunossuppressores (corticóide, quimioterapia antineoplásica, radioterapia etc); como regra geral nenhuma vacina viral atenuada deve ser administrada na gravidez. Caso não haja possibilidade de adiar o deslocamento para áreas endémicas e considerando-se o alto risco de exposição, recomenda-se neste caso a vacinação; pessoas que possuem uma história de reacção anafilática após ingestão de ovo (3).

Situações como vigência de doenças febris graves, sobretudo para que os seus sinais e sintomas não sejam atribuídos ou mesmo confundidos com os possíveis eventos adversos da vacina e tratamento com imunossupressor (até três meses após a suspensão de seu uso), recomendam o adiamento da vacinação (3).

A vacina neurotrópica francesa produzida a partir de células do cérebro de ratos infectados já não é administrada. Apesar desta vacina ter a vantagem de ser muito estável e de fácil administração, aproximadamente 20% dos indivíduos vacinados desenvolviam sintomas sistémicos, 3 a 4% desenvolviam sinais meningeais e 0.5 a 1.3% desenvolviam encefalites pós-vacina. Os acidentes neurológicos eram mais frequentes em crianças do que em adultos e foram reportadas varias fatalidades e sequelas neurológicas permanentes (14).

OUTRAS MEDIDAS PREVENTIVAS:

- **Medidas de controlo do vector:** em relação ao vector da FAS, não existem medidas específicas para combatê-lo. Em relação ao *Aedes aegypti*, transmissor da FAU, são recomendadas as seguintes medidas:

- Medidas de controlo **mecânico:** são aquelas direccionadas aos recipientes com a eliminação daqueles que podem ser dispensados, evitando-se com isto a manutenção de locais favoráveis à proliferação do *Aedes*;

- Medidas de controlo **químico**: são aquelas dirigidas especificamente contra o vector, através do uso de larvicidas e/ou adulticidas. Dividem-se em: tratamento focal: tratamento interno de recipientes; e tratamento perifocal: aplicação de insecticida de acção residual sobre as superfícies internas e externas de recipientes e/ou superfícies verticais imediata aos recipientes, estejam estas dentro ou fora das habitações (5).

- **Medidas de controlo do paciente**: não existe isolamento nenhum. Em áreas infestadas com *Aedes*, deve ser evitado o acesso de mosquitos ao paciente durante os primeiros dias de infecção (5).

- **Medidas em caso de epidemias**: No caso da FAU deve-se proceder à vacinação em massa, aplicação de larvicidas e nebulização espacial, quando indicado. Quando ocorre a FAS vacinação imediata das pessoas residentes ou que se desloquem para a área em causa (5).

BIBLIOGRAFIA

- 1- www.cives.ufrj.br/informacao/fam/fam-iv.html;
 - 2- www.nib.unicamp.br/svol/cp000121.htm;
 - 3- www.cve.saude.sp.gov.br/htm/zoo/fa_informe.htm
 - 4- www.saude.pr.gov.br/Agravos/Febre_amarela/aspectos_epidemiologicos.htm
 - 5- www.funasa.gov.br/pub/Gve/PDF/GVEOSII.pdf
 - 6- www.who.int/inf-fs/en/fact100.html
 - 7- www.who.int/csr/disease/yellowfev/impact/en/
 - 8- [www.who.int/wer-](http://www.who.int/wer/) (Weekly epidemiological record, nº 40, 2003,78,349-360)
 - 9- <http://www.stanford.edu/~echao/flaviviruses/overview.html>
 - 10- http://www.virology.net/Big_Virology/BVRNAflavi.html
 - 11- <http://www.tulane.edu/~dmsander/WWW/335/arboviruses.html>
 - 12- <http://www.biomania.com.br/virus/estrutura.php>
- 13 - Ferreira, W. & Sousa, J. (2002), Microbiologia, volume 3, 1ª edição, Lidel- edições técnicas lda, Lousã, 466 pp.
- 14 - Fields, B.N., Knipe, D.M., Howley P.M. (2002). Fields Virology, 5th ed., Vol 1, Lippincott-Raven Pub., Philadelphia, USA.
- 15 - Wagner, E. & Hewlett, M. (2004), Basic Virology, 2nd edition, Blackwell Science,inc. United Kingdom, 440pp.