

# Febre amarela: reflexões sobre a doença, as perspectivas para o século XXI e o risco da reurbanização

*Yellow fever: reflections on the disease, prospects for the century and risk of re-urbanization*

## Resumo

Neste artigo é realizada revisão dos principais aspectos fisiopatológicos, clínicos, epidemiológicos e laboratoriais da febre amarela no Brasil, e também se abordam as linhas gerais do tratamento da doença. São ainda analisados e discutidos os mais recentes surtos e epidemias de febre amarela ocorridos no Brasil, bem como as suas causas e as conseqüências de eventual reurbanização da doença no país, risco que cresce a cada ano à medida que crescem os índices de infestação de *Aedes aegypti* e a crescente dispersão e transmissão do dengue no país. Finalmente, são comentadas as perspectivas da febre amarela para o século XXI no Brasil.

**Palavras-chaves:** Febre amarela. Revisão. Perspectivas. Reurbanização.

**Pedro Fernando da Costa Vasconcelos**

Médico Virologista

Pós-doutorado em Biologia Molecular

Centro Colaborador da Organização Mundial de Saúde para Arbovírus

Instituto Evandro Chagas

Fundação Nacional de Saúde (FUNASA)

Ministério da Saúde

Av. Almirante Barroso, 492, 66090-000, Belém, PA, Brasil.

pevascon@utmb.edu

## Abstract

This paper reviews the main epidemiological, clinical, laboratorial and pathological aspects of yellow fever. It also discusses the general guidelines for the treatment of yellow fever, as well as the most recent outbreaks and epidemics of the disease in Brazil. Finally, the author discusses the risk of the re-urbanization of yellow fever, taking into account the high levels and dispersion of the urban vector *Aedes aegypti* mosquito, and comments the prospects of yellow fever in the 21<sup>st</sup> Century in Brazil.

**Keywords:** Yellow fever. Review. Prospects. Re-urbanization.

## Conceito

A febre amarela é uma doença infecciosa não contagiosa, transmitida ao homem mediante picada de insetos hematófagos após um período de incubação extrínseco, para que o vírus se reproduza em seus tecidos. A doença ocorre sob duas modalidades epidemiológicas: silvestre e urbana. A diferença entre as mesmas está na natureza dos transmissores e dos hospedeiros vertebrados. Sob o aspecto clínico, a infecção é a mesma e pode se apresentar como assintomática, oligossintomática, moderada e grave. A letalidade global varia de 5% a 10%, mas entre os casos que evoluem com as formas graves da enfermidade, quais sejam, síndromes ictero-hemorrágica e hepato-renal, pode chegar à 50%. A febre amarela urbana foi eliminada da América em 1942, mas ainda hoje é reportada na África, os dois continentes endêmicos da arbovirose. Os pacientes mais acometidos são geralmente indivíduos jovens do sexo masculino realizando atividades agropecuárias e de extração de madeira, que adentram a floresta sem terem sido vacinados, mas um número crescente de turistas, e de mulheres e crianças, tem sido reportado<sup>1-7</sup>. Pode ser prevenida pela vacina anti-amarílica. Uma única aplicação da amostra 17D protege por 10 anos, quando se recomenda a revacinação<sup>8</sup>.

## Etiologia

O vírus da febre amarela pertence ao gênero *Flavivirus* (*Flavus* = amarelo) da família *Flaviviridae*, sendo o protótipo dessa família, daí a associação com ele<sup>9</sup>. É relacionado a diversos vírus responsáveis por doenças no homem, entre os quais Dengue, West Nile, Rocio e encefalite São Luís. É o agente causal da febre amarela, doença que hoje é encontrada basicamente nas bacias dos rios Amazonas e Araguaia-Tocantins, na América do Sul, e dos rios Nilo e Congo na África<sup>8,10</sup>. O vírus da febre amarela possui um genoma constituído de RNA de fita simples não segmentado, polaridade positiva, com cerca de 11 kilobases de comprimento,

com 10.800 nucleotídeos que codificam 3.411 aminoácidos. O vírion mede cerca de 25-30nm de diâmetro e é envolto por um envoltório conhecido como envelope e que é originário da célula hospedeira, onde o vírus se reproduziu. A partícula íntegra (vírion mais envelope) mede cerca de 40nm. O RNA viral expressa 7 proteínas não estruturais (NS1, NS2A, NS2B, NS3, NS4A, NS4B e NS5) e três proteínas estruturais prM, E e C. As proteínas estruturais codificam a formação da estrutura básica da partícula viral, o precursor da proteína da membrana, envelope e capsídeo, respectivamente, enquanto as proteínas não estruturais são responsáveis pelas atividades reguladoras e da expressão do vírus. O estudo do genoma do vírus da febre amarela é importante para estabelecer as diferenças genéticas entre as cepas isoladas. Assim, estudos filogenéticos têm mostrado a existência de sete genótipos do vírus, sendo cinco na África e dois nas Américas<sup>11-32</sup>.

## Epidemiologia

Sendo uma arbovirose que se adquire no meio da floresta, uma pergunta freqüente e que deve estar sempre na mente do médico é que grupos populacionais estão sob risco de adoecer por febre amarela? Neste particular, podemos considerar que todas as pessoas não vacinadas e que se submetem às picadas dos transmissores infectados em áreas de floresta, dentro da área endêmica da virose (especialmente onde esteja ocorrendo circulação do vírus) podem vir a adoecer com febre amarela. Em outras palavras, as áreas florestais e rurais da América do Sul e África, que correspondem às bacias dos rios Amazonas, Paraná e Araguaia-Tocantins, na América do Sul, e Nilo e Congo na África<sup>2,10,12-14</sup>. No Brasil, as áreas de risco (endêmica e epizootica ou de emergência) incluem as regiões Norte, Centro Oeste, o estado do Maranhão e mais a parte ocidental dos estados da Bahia, Minas Gerais, São Paulo, Paraná, Santa Catarina e Rio Grande do Sul. Nestas áreas, a doença ocorre principalmente entre lenhadores, seringueiros, vaqueiros, garimpeiros, caçadores, ribeirinhos

dos rios amazônicos e em turistas (praticantes do turismo ecológico) do sexo masculino com idade variando entre 14 a 35 anos. Essa preferência se deve à maior exposição e não a uma possível maior susceptibilidade ao vírus<sup>2,6,7,14</sup>.

A letalidade global da febre amarela situa-se entre 5-10%, mas, nos casos graves que necessitam de hospitalização, oscila entre 40%-60%<sup>13-15</sup>.

O vírus da febre amarela é mantido por dois ciclos básicos: um silvestre (bastante complexo), onde os mosquitos responsáveis pela transmissão diferem na América e na África, e um ciclo urbano, onde o mosquito *Aedes aegypti* é o responsável pela disseminação da doença nos dois continentes<sup>12</sup>. Neste ciclo, a transmissão pelo *Ae. aegypti* é feita diretamente ao homem. Este, uma vez infectado, e se não for vacinado, pode desenvolver a doença e serve de fonte de infecção para novos mosquitos (*Ae. aegypti*) e assim o ciclo se perpetua, até que se esgotem os susceptíveis ou se realize vacinação em massa da população para interromper a transmissão. É importante salientar que a última grande epidemia urbana em território brasileiro ocorreu em 1929 na cidade do Rio de Janeiro. A partir de então, casos esporádicos ainda foram reportados em diversos estados, sendo que os últimos casos urbanos ocorreram em 1942 em Sena Madureira no Acre<sup>16</sup>.

O ciclo silvestre, além de complexo, é ainda imperfeitamente compreendido e varia de acordo com a região onde ocorre. Na África, por exemplo, várias espécies de mosquitos do gênero *Aedes* têm sido associados com a transmissão, sendo *Ae. africanus*, *Ae. furcifer* e *Ae. simpsoni*, os mais importantes. Os mosquitos, além de serem transmissores, são os reservatórios do vírus, desde que uma vez infectados assim permanecem por toda a sua vida, ao contrário dos macacos que, como os homens, ao se infectarem morrem ou se curam, e ficam imunes para sempre. Portanto, os macacos atuam tão somente como hospedeiros amplificadores da virose<sup>8</sup>.

Na África, temos transmissão em dife-

rentes níveis: transmissão silvestre, transmissão rural ou peri-urbana e transmissão urbana. A África é responsável por cerca de 90% de todos os casos notificados de febre amarela à OMS. Em alguns países, ainda ocorre transmissão urbana. Outro aspecto próprio da África é a existência de um vetor de ligação entre os ciclos urbano e silvestre, o mosquito *Ae. simpsoni*, que sai da mata indo picar os indivíduos nas periferias das cidades, podendo inclusive, manter uma transmissão contínua, ainda que limitada nessas áreas<sup>8</sup>.

Nas Américas, o ciclo silvestre é distinto do africano. Os responsáveis pela transmissão são os mosquitos dos gêneros *Haemagogus* (*Hg. janthinomys*, *Hg. albomaculatus*, etc.) e *Sabethes* (*Sa. chloropterus*, *Sa. soperi*, etc.). O *Hg. janthinomys* é o principal responsável pela transmissão da febre amarela<sup>17-19</sup>. Este é um mosquito que apresenta a maior distribuição geográfica, mas que possui hábitos estritamente silvestres, ou seja, só pica o indivíduo quando este adentra na mata (floresta), portanto, quando alguém penetra em seu nicho ecológico. Esta espécie apresenta as condições ideais para transmitir o vírus amarelo, pois é extremamente suscetível ao vírus. Em infecções experimentais, se infecta com baixas doses infectantes; é primatófilo, ou seja, se alimenta preferencialmente em macacos e secundariamente no homem, e apresenta atividade diurna, período em que a maioria dos que adoecem da enfermidade realizam suas atividades nas matas. E mais, durante as epidemias freqüentemente são encontrados infectados. Tais características explicam porque esta espécie é tão hábil em transmitir a virose, e torna este mosquito, por conseguinte, o principal transmissor da febre amarela no Brasil e em muitos países da América do Sul<sup>2,3,14,17,18</sup>.

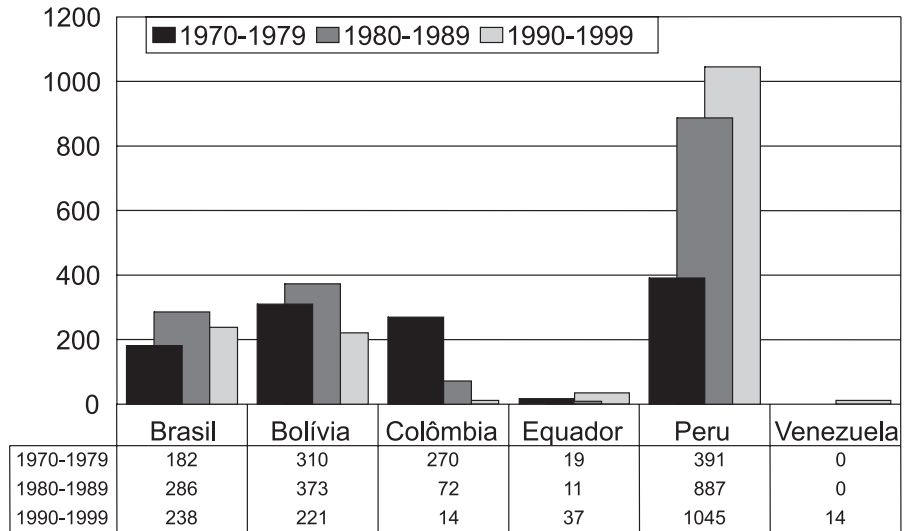
Tanto na África quanto na América, os hospedeiros silvestres do vírus amarelo são os primatas não humanos<sup>8,12,14</sup>. No Continente africano, os macacos são geralmente mais resistentes ao vírus e, ainda que desenvolvam a infecção, raramente sucumbem à mesma. Na América, ao contrário, todas as

espécies de macacos identificadas e infectadas experimentalmente se mostraram sensíveis e susceptíveis ao vírus amarelo. Ademais, é comum a presença de anticorpos contra febre amarela em símios capturados. Alguns macacos mostram grande susceptibilidade, como por exemplo o guariba (gênero *Allouatta*), enquanto outros mostram considerável resistência, como é o caso do macaco prego (gênero *Cebus*). Nos primeiros, doses mínimas do vírus da febre amarela levam ao desenvolvimento de infecção fulminante e invariavelmente fatal, em muito similar aos casos humanos fatais. O máximo que se consegue é retardar o desfecho fatal diminuindo a dose infectante. Já os segundos, infectados com doses elevadas, quando muito desenvolvem febre. O macaco prego geralmente desenvolve a infecção, faz viremia e produz anticorpos que neutralizam reinfeções, mas raramente manifesta qualquer sintoma ou sinal de enfermidade<sup>14</sup>.

No período de 1970-1999 foram notificados para a Organização Panamericana de Saúde<sup>20-33</sup> na América do Sul 4.270 (Figura 1) casos de febre amarela, todos da forma silvestre. O Peru, com 2.223 casos (52,1%), e a Bolívia, com 907 casos (21,2%), são os dois países que mais reportaram casos. O Brasil ocupa o terceiro lugar, com 706 casos (16,5%) notificados no período. A situação do Brasil é no mínimo preocupante, pois ainda que na última década o número anual de casos notificados raramente tenha excedido a 40 notificações, o que ocorreu nos anos de 1984<sup>21</sup>, 1993<sup>2</sup>, 1998-99<sup>6</sup> e 2000<sup>7</sup>, a letalidade é elevada e a tendência nos últimos três anos tem sido de aumento do número de ocorrências (Figura 2). Uma pergunta que intriga é qual a verdadeira área epizootica ou epidêmica da febre amarela? Nos últimos anos, áreas consideradas livres da virose, mostraram-se receptivas e capazes de permitir a circulação autóctone do vírus em áreas muito devastadas, por vezes apenas com matas ciliares. Talvez nunca tenhamos resposta a esta pergunta, mas é possível que fatores ambientais, especialmente alterações climáticas, desempenhem um papel importante

na manutenção e distribuição do vírus da febre amarela na natureza. Já foram identificados indícios acerca do papel do clima na ocorrência de casos de febre amarela no Brasil<sup>5,7</sup>. Face a este problema, a FUNASA reuniu um grupo de especialistas para estu-

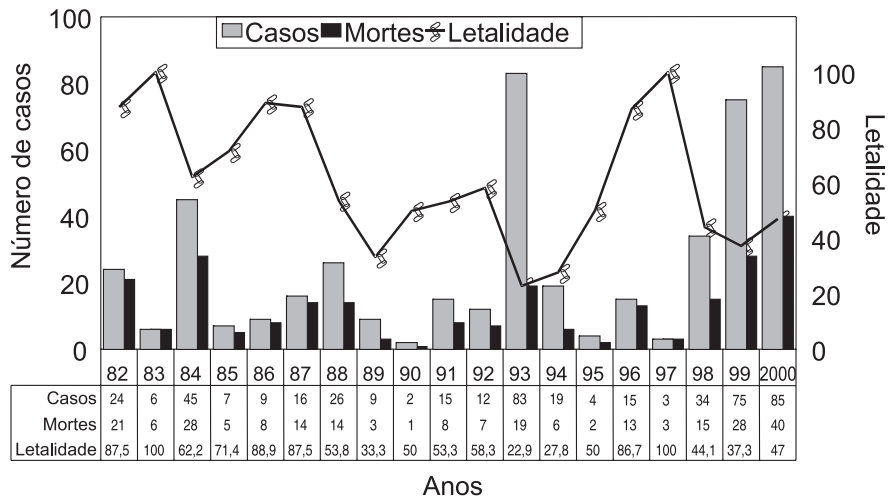
dar o problema e propor uma nova área, que pudesse conter todas as áreas de risco. Estas novas áreas passaram então a ser oficialmente as áreas endêmica, epizootica (ou de transição) e indene da febre amarela silvestre do Brasil (Figura 3).



Fonte/Source: OPAS/OMS

**Figura 1** - Casos de Febre amarela notificados à Organização PanAmericana da Saúde (OPS) por país na América do Sul, 1970-1999.

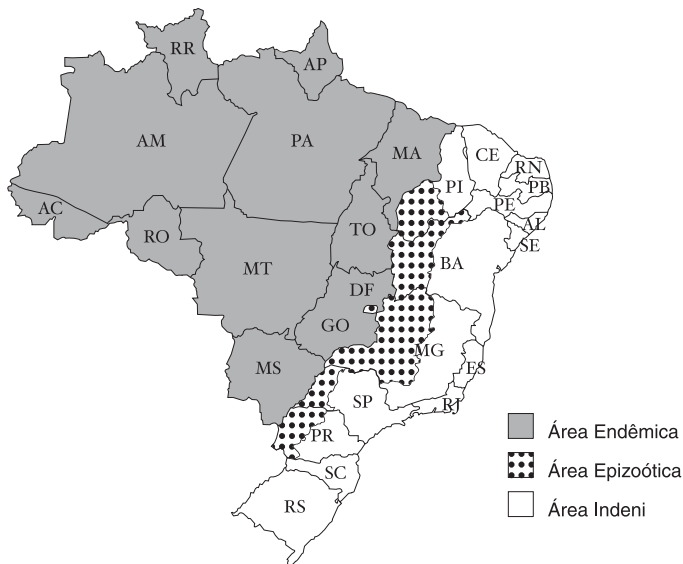
**Figure 1** - Yellow fever cases reported to the Pan-American Health Organization (PAHO) by country in South America, 1979 – 1999.



Fonte/Source: CENEPI/FUNASA/MS

**Figura 2** - Casos, mortes e letalidade por febre amarela no Brasil, 1982-2000.

**Figure 2**- Cases, deaths and mortality due to yellow fever in Brazil, 1982-2000.



Fonte/Source: CENEPI/FUNASA/Ministério da Saúde (CENEPI/FUNASA/Ministry of Health).

**Figura 3** - Febre amarela silvestre. Áreas Epidemiológicas no Brasil, 2001.

**Figure 3** - Jungle yellow fever in epidemiological areas in Brazil, 2001.

## Patogenia

Os aspectos patogênicos da infecção pelo vírus da febre amarela não são completamente conhecidos e decorrem principalmente de estudos realizados em primatas não humanos, camundongos e hamsters, e de dados histopatológicos a partir de casos fatais. A inoculação do vírus amarílico em camundongos desencadeia encefalite fatal; já em hamsters, se observa viremia e alguns animais sucumbem à infecção com quadro viscerotrópico de hepatite fulminante<sup>22</sup>. Por outro lado, a infecção experimental de macacos determina um tropismo semelhante ao do homem, isto é, o viscerotropismo, tendo como órgão alvo o fígado<sup>12,13</sup>.

No homem, após a introdução do vírus amarílico na circulação pela picada do transmissor, o vírus rapidamente atinge linfonodos regionais e desaparece da circulação nas 24 horas seguintes. Já nos linfonodos, células linfóides e macrófagos são infectadas preferencialmente pelo vírus. Posteriormente, as partículas virais são levadas pelos vasos linfáticos até a corrente sanguínea e daí até o fígado. O período de viremia varia de acor-

do com a apresentação clínica, sendo de algumas horas até dois dias nas formas frustas e leves, respectivamente, e de até cinco a sete dias nas formas graves. Este período de viremia coincide com o início do período prodrômico da enfermidade, e em particular com a febre. Em infecções experimentais de voluntários, o vírus foi encontrado na corrente sanguínea cerca de 48 horas após o inóculo. O Título viral cresceu até aproximadamente 96 horas. Decresceu em seguida, para raramente ser encontrado após 120 horas da inoculação<sup>12</sup>.

No fígado, principal órgão a ser acometido na febre amarela, as células de Küpffer e os hepatócitos são infectados. Nas primeiras, o vírus determina degeneração acidófila em zonas focais, já durante o período inicial de replicação. Em seguida, ocorre degeneração baloniforme e, posteriormente, necrose do tipo hialina. Nos hepatócitos, o vírus amarílico causa necrose em grandes extensões do parênquima hepático. O antígeno viral é encontrado em hepatócitos, células de Kupffer e nos corpúsculos de Councilman-Rocha Lima<sup>12,23-25</sup>.

Em infecções experimentais, 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 algumas estruturas, preservando outras. Assim é que em um lóbulo, a área localizada entre o espaço porta e a veia centro lobular é a área mais atingida pela necrose, conhecida como necrose médio-zonal. Ainda que este tipo de necrose seja observado em outras viroses, como o dengue, e mesmo em alguns casos de hepatite fulminante, ela é muito mais associada com a infecção amarílica. Nas áreas médio-zonais necrosadas, há desorganização da arquitetura hepática normal, com destruição das traves de Remack. Por vezes, entretanto, quando a necrose é muito extensa, o diagnóstico histopatológico fica muito difícil<sup>24</sup>.

Dentro da área necrosada, observam-se infiltrado inflamatório com predomínio de células mononucleares, debris celulares e vários tipos e graus de lesões degenerativas. A característica mais importante e tida como indicativa de febre amarela, ainda que não patognomônica, pois é observada em outras doenças, como malária por *Plasmodium falciparum*, hepatites virais, dengue, mononucleose infecciosa e outras febres hemorrágicas virais, é a degeneração hialina, acidófila dos hepatócitos, conhecida como corpúsculo de Councilman-Rocha Lima. Também é comum a ocorrência de degeneração gordurosa (esteatose), observada tanto em células necrosadas como nas preservadas. Ainda mais raramente são encontrados os corpúsculos de Torres e Villela, estes encontrados em hepatócitos, células de Küpffer e macrófagos. Nos seres humanos, os achados histopatológicos são muito semelhantes aos observados nos macacos, e decorrem principalmente de exames de necropsia<sup>12,24</sup>.

### Quadro clínico

A resposta à infecção amarílica é ampla e variável. Estima-se que cerca de 90% dos casos com expressão clínica sejam das formas classificadas como leve e oligossinto-

mática (com poucos sintomas) e que somente 10% sejam das formas graves. Ademais, algumas pessoas desenvolvem quadros assintomáticos. Estas formas assintomáticas, e os casos sub-clínicos e formas leves da doença, costumam ocorrer em crianças de baixa idade cujas mães foram vacinadas e transmitiram (via transplacentária durante a gestação) anticorpos maternos do tipo IgG. Índios que geralmente adquirem imunidade materna e também ao longo de sua vida, constituem grupos que se infectam com formas leves da enfermidade. Outros indivíduos desenvolvem formas severas da doença. Aí se incluem as pessoas nunca vacinadas, portanto completamente indefesas à doença. Estas pessoas desenvolvem quadros clássicos, severos e extremamente graves da enfermidade (Quadro I). Nas formas leves e moderadas, a sintomatologia é indiferenciada, não característica, e se confunde com muitas doenças comuns nas áreas endêmicas, tais como malária, hepatites virais, febre tifóide, mononucleose infecciosa, etc. Em geral, os sintomas na forma leve se restringem a febrícula ou febre moderada, acompanhada de cefaléia discreta e astenia ou indisposição passageira. Evolui por até dois dias, findos os quais o paciente se recupera sem seqüelas.

Na forma moderada, o paciente além desses sintomas pode apresentar náuseas sem vômitos, bem como, mialgias e artralguas que não incomodam o paciente nem dificultam sua locomoção. A cefaléia costuma ser mais duradoura. A febre só cede mediante o uso de antitérmicos e a astenia já mais pronunciada. Acompanha este quadro pelo menos um dos sintomas clássicos da doença: hematêmese (vômito negro), icterícia ou oligúria/anúria. O período de estado é de dois a três dias e a recuperação é completa.

Nas formas graves da febre amarela os pacientes apresentam os três sintomas clássicos que caracterizam a falência hepatorenal. O quadro evolui em duas fases ou períodos, com um período de remissão entre as mesmas. Ressalte-se, no entanto que nem sempre é possível se separar tais fases. A



**Quadro 1** - Espectro clínico da febre amarela no homem (Adaptado de Vasconcelos et al., 1994).

**Chart 1** - *Clinical spectrum of yellow fever in people (Adapted from Vasconcelos et al., 1994)*

Forma clínica	Evolução	Principais manifestações	Grupos mais acometidos
Leve	até 2	febre e cefaléia	crianças com anticorpos maternos (IgG) adquiridos
Moderada	2-3 dias	sintomas anteriores e mais mialgias, artralguas, náuseas, vômitos e astenia.	peessoas com imunidade para outros <i>Flavivirus</i> *
Grave	3-5 dias	além dos anteriores, icterícia, hematêmese ou oligúria.	agricultor, pescador, caçador, lenhador e outros suscetíveis com imunidade cruzada para <i>Flavivirus</i> .
Maligna	≥6 dias	Todos os sintomas clássicos são observados	peessoas sem imunidade cruzada para outros <i>Flavivirus</i>

\* A resposta sorológica para um dado vírus desse gênero apresenta no indivíduo infectado certa imunidade cruzada que é parcial e que se supõe conferir algum grau de proteção contra outras infecções provocadas por outros *Flavivirus*.

\* *The serologic response for a given virus of this gender presents a certain cross immunity in the infected individual, which is partial and is assumed to provide a certain level of protection against other infections caused by other Flaviviruses.*

sintomatologia da forma clássica (grave) da febre amarela é caracterizada por início abrupto, após um período de incubação médio de 6 dias (período de tempo que vai da picada infectante até o início dos sintomas) e que pode ser de até duas semanas. Inicialmente surge febre elevada, em que o paciente reporta ter-se sentido bem e executado seus afazeres algumas horas antes. A febre não é acompanhada de elevação da pulsação. Ao contrário, é comum observar-se febre elevada com redução da pulsação, o que é conhecido como sinal de Faget. Pouco tempo depois do aparecimento da febre surge cefaléia holocraniana de tal intensidade que o paciente muitas vezes sente necessidade de pedir o uso de analgésicos. Acompanhando esse quadro, dores musculares generalizadas, especialmente nas costas, costumam estar presentes. Astenia, prostração e náuseas completam esse quadro que evolui por 2 a 3 dias e corresponde ao período prodrômico ou fase infecciosa da enfermidade.

Em muitos pacientes, seguindo-se ao período infeccioso há uma fase de remissão

que se caracteriza por sensação de melhora e cura iminente por parte do paciente, pois a febre diminui ou cessa, as dores musculares diminuem e a cefaléia fica suportável. Este período dura de 12 até 48 horas. Em seguida, ao contrário dos indivíduos que desenvolvem as formas leves e moderadas que realmente curam, o estado desses pacientes repentinamente se agrava, com piora de todos os sintomas apresentados e o surgimento de outros. É o início do período de intoxicação, toxêmico ou fase de localização, pois neste período o vírus deixa de circular no sangue, sendo encontrado somente no fígado. As náuseas se intensificam e vômitos surgem repentinamente. Estes de início são alimentares e depois francamente hemorrágicos. Os vômitos são em borra de café se o sangue chegou a sofrer ação do suco gástrico, ou francamente hemorrágico se o sangramento é recente ou intenso. Ressalte-se que outras manifestações hemorrágicas são usualmente encontradas. As hemorragias mais frequentes são do tegumento, das gengivas e do ouvido. No trato gastrintestinal pode ocorrer melena, quando a hemorragia estoma-



cal é intensa ou quando há sangramento do intestino. Acompanhando ou mesmo antecedendo as hemorragias, há plaquetopenia, muitas vezes tão acentuada que pode chegar a menos de 20.000/mm<sup>3</sup> de sangue. É interessante notar que alguns pacientes, mesmo com tais níveis de plaquetas, não sangram, enquanto outros com taxas entre 50.000 a 100.000 plaquetas apresentam hemorragias exuberantes. Parece que nem sempre a gravidade da hemorragia está associada com a contagem das plaquetas<sup>14,24</sup>.

Junto com esses sintomas surge icterícia (dessa cor amarela da pele e das escleróticas dos olhos e da febre, resulta o nome da doença). A icterícia é basicamente do tipo verdínica e se deve, sobretudo, ao aumento da fração direta. Por volta do 5º ao 7º dia do período de estado, se instala a insuficiência renal, que se manifesta inicialmente pela diminuição do volume urinário, e se não tratada rapidamente pode evoluir para anúria e parada completa da diurese devido à necrose tubular aguda generalizada que se instala. Neste período é que mais frequentemente ocorrem os óbitos<sup>12,14,24</sup>.

Os que sobrevivem se recuperam lentamente completamente, e sem seqüelas. Durante a convalescência, astenia, indisposição e dores musculares costumam perdurar por até duas semanas. Na África tem sido frequente a ocorrência de formas fulminantes, com evolução de até três dias. Nestes casos, o quadro predominante é a insuficiência renal e quase não ocorre icterícia ou mesmo alterações hepáticas. Por outro lado, mais raramente ainda, ocorrem mortes tardias devidas ao vírus amarelado. Tais casos têm associação com lesões cardíacas tardias<sup>8,14</sup>.

Nos casos em que a icterícia é intensa e os níveis séricos de bilirrubina são muito elevados, a encefalopatia é frequente e é um sinal de mau prognóstico, mas a maioria dos pacientes morre, ou por insuficiência hepato-renal ou em decorrência das hemorragias, muitas vezes incontroláveis<sup>12,14</sup>.

## Tratamento

Como ainda não existe um medicamen-

to específico (e eficaz) para o tratamento da doença, e os exames que diagnosticam com certeza a infecção demoram em média uma semana, o tratamento de suporte deve ser iniciado imediatamente, sendo aconselhado o internamento do paciente com as formas graves em hospitais com boa infra-estrutura e de preferência em UTI, pois há necessidade de uma série de procedimentos que só se dispõe com mais facilidades nessas unidades. Assim, o tratamento medicamentoso deve ser voltado para combater os sintomas<sup>14</sup>. Portanto, a medicação a ser prescrita depende das manifestações clínicas, mas é comum o uso de analgésicos e antitérmicos nas doses usualmente indicadas para o peso e a idade. É contraindicado, entretanto, o uso de medicamentos que contenham em sua fórmula o ácido acetil-salicílico ou seus derivados, pois podem agravar os fenômenos hemorrágicos. Outros remédios para controlar os vômitos, em particular a metoclopramida e, o uso de medicamentos para proteger a mucosa gástrica (bloqueadores H<sub>2</sub>), como cimetidina e ranitidina, são extremamente úteis para prevenir os sangramentos gástricos, uma das mais fatais complicações da febre amarela<sup>14,15</sup>. Na primeira evidência de insuficiência renal, evidenciada por oligúria, é importante prescrever diuréticos. A furosemida pode ser usada, bem como o manitol, nas doses usuais. A avaliação do paciente deve ser contínua e inclui a verificação dos sinais vitais, da diurese, e a solicitação de pelos menos os seguintes exames: hemograma, plaquetas, sumário de urina e verificação das funções hepática (dosagem das aminotransferases, bilirrubina e gama GT) e renal (dosagem de uréia e creatinina, e monitoramento do balanço hídrico)<sup>14,15</sup>.

Nos pacientes com insuficiência renal instalada e rebelde aos diuréticos comuns se indica a diálise peritoneal ou mesmo hemodiálise. Não existe um critério para a indicação formal de diálise peritoneal. Depende da evolução do paciente. Considerando o agravamento do quadro pelo médico assistente ou de toda a equipe, na minha opinião, níveis de creatinina acima de 4mg%

associada ou não com uréia de 200mg% são parâmetros razoáveis. Ressalte-se entretanto que é possível indicar hemodiálise com níveis menores se se instalou anúria, ou pode-se manter uma conduta de expectativa se a diurese mantém-se satisfatória mesmo que taxas mais elevadas de uréia e creatinina sejam observadas. Ou seja, o melhor momento depende do estado geral do paciente, dos valores de creatinina e uréia, da resposta aos diuréticos e da ocorrência ou não de complicações<sup>14</sup>.

Como droga específica tem sido usada experimentalmente a ribavirina, com resultados promissores. Mas requer que mais estudos sejam feitos para definir dose, tempo de uso e via de administração<sup>15</sup>.

## Diagnóstico

### Exames específicos

O diagnóstico definitivo da febre amarela pode ser feito pelo isolamento (exame de cultura) do vírus, detecção de antígenos virais e do RNA viral, e por métodos sorológicos - dosagem de anticorpos específicos pelo método de MAC ELISA (captura de IgM em ensaio enzimático) ou conversão sorológica em testes de inibição da hemaglutinação (IH). O isolamento do vírus pode ser feito utilizando-se diferentes sistemas: camundongos recém nascidos ou cultivo celular (células VERO, clone C6/36). Após a inoculação da amostra suspeita, obtém-se evidências da replicação viral em torno do 5º ao 7º dia de cultura. Ao ser isolada, a amostra viral é identificada em testes de imunofluorescência indireta, usando-se anticorpos monoclonais ou alternativamente mediante testes de fixação do complemento<sup>6-10</sup>.

Os métodos sorológicos que detectam IgM específica, como é o caso do MAC ELISA, podem dar um diagnóstico presuntivo rápido com uma amostra sorológica, se a mesma for obtida do paciente a partir do 5º dia de doença. A presença de IgM pode ser decorrente de infecção recente (2-3 meses) ou corrente (atual), daí a importância de se ter a história clínica e epidemiológica

completa para a interpretação do resultado laboratorial. É pertinente lembrar que a vacinação anti-amarílica também induz à formação de IgM e, por isso, é importante saber os antecedentes vacinais do suspeito. Quando o paciente sobrevive, é usual comparar-se os resultados sorológicos das amostras aguda e convalescente. Títulos de anticorpos aumentados quatro vezes ou mais na amostra convalescente em comparação com os títulos da amostra da fase aguda, são conclusivos para infecção recente pelo vírus amarílico. É claro que os dados da história clínica e os antecedentes vacinais também são importantes e devem ser sempre valorizados<sup>14</sup>.

Nos casos fatais em que não se dispõe de sangue para sorologia e a pesquisa de vírus foi negativa ou prejudicada, pode-se realizar a detecção de antígenos específicos por imunohistoquímica em tecidos hepáticos conservados em formalina tamponada<sup>25</sup>, ou detectar o genoma viral por RT-PCR do sangue (células e soro) e fígado, preservado sob refrigeração<sup>11,29-31</sup>. Raramente outros tecidos se mostram positivos. A detecção de genoma viral é uma arma que se bem utilizada poderá esclarecer casos indefinidos por má conservação dos espécimes ou com resultados sorológicos inconclusivos, e dos quais não se dispõe de espécimes para histopatologia e/ou imunohistoquímica<sup>14</sup>.

### Exames inespecíficos

Diversos exames devem ser realizados durante a evolução do quadro de febre amarela. Começamos pelo hemograma: nos primeiros dias da doença, ocorre leucopenia com neutropenia e linfocitose, com valores de 3.000 a 4.000 células por mm<sup>3</sup> de sangue. Não raro, entretanto, se observam pacientes com leucogramas exibindo 1.000 a 2.000 leucócitos/mm<sup>3</sup>. À medida que progride o quadro se acentua a leucopenia, salvo nos casos em que ocorre infecção bacteriana. Nesses casos e nos pacientes terminais, ocorre inversão com leucogramas exibindo contagens de 15.000 a 20.000 leucócitos por mm<sup>3</sup> de sangue. Quando isto ocorre pode gerar

dúvidas, confundindo o diagnóstico, e sugerir a ocorrência de septicemia. A série vermelha usualmente se encontra normal, salvo nos casos com sangramento severo em que há queda do hematócrito e da hemoglobina. As plaquetas, como comentado no período dos aspectos clínicos, usualmente se encontram com valores em torno de 50.000/mm<sup>3</sup> de sangue, mas podem apresentar valores ainda menores. Diversos fatores de coagulação são consumidos e quando dosados apresentam-se alterados. Os mais consumidos durante a infecção pelo vírus amarelo são a protrombina, fator VIII e tromboplastina. Em consequência disso, os tempos de sangria e de coagulação se encontram alterados<sup>12,14,15</sup>.

No sumário de urina se observa presença de bilirrubina e de hemácias, mas o que mais chama a atenção é a proteinúria. Com efeito, as proteínas são encontradas com valores elevados. É comum encontrar-se proteínas com valores acima de 500mg/100ml de urina. A densidade pode estar alterada, mas não é raro apresentar valores normais<sup>14</sup>.

### Diagnóstico diferencial

Durante episódios epidêmicos é relativamente fácil diagnosticar clinicamente a febre amarela, pois a existência prévia de casos aumenta a suspeita. Entretanto, quando ocorre esporadicamente é mais difícil se realizar o diagnóstico clínico, pois a clínica da enfermidade lembra a de outras doenças, especialmente as que evoluem com quadros de febre hemorrágica, febres icterohemorrágicas e com comprometimento hepato-renal. As enfermidades infecciosas que devem ser incluídas no diagnóstico diferencial da febre amarela incluem necessariamente a malária, hepatites virais, febre tifóide, dengue hemorrágico e septicemias<sup>12,14</sup>. Entre as não infecciosas, deve-se lembrar da púrpura trombocitopênica idiópática e algumas formas de envenenamento, inclusive a picada de cobras com peçonha que induz a presença de hemorragias.

A história clínica, os antecedentes epide-

miológicos e a realização precoce de alguns exames laboratoriais podem dirimir as dúvidas na maioria dos casos.

### Prevenção

A febre amarela é doença de notificação compulsória e, como tal, qualquer caso suspeito deve ser imediatamente notificado à autoridade sanitária local, estadual ou nacional, que por sua vez reporta aos organismos internacionais. Posteriormente, caso seja confirmado ou descartado laboratorialmente, a notificação do caso é confirmada e a autoridade nacional confirma ou descarta a notificação à autoridade sanitária internacional. Isto deve sempre ser feito para agilizar as medidas preventivas<sup>10</sup>.

O método mais eficaz para se prevenir a ocorrência de febre amarela é a vacinação com a amostra 17D. Recomenda-se que sejam vacinadas todas as pessoas híginas com mais de seis meses de idade que estejam expostas ou que venham a se expor à infecção. Uma única dose da vacina protege o indivíduo por pelo menos 10 anos, quando então se recomenda a revacinação. No entanto, estudos têm mostrado que pessoas vacinadas uma única vez e vivendo fora das áreas de risco, mostram anticorpos neutralizantes por até 35 anos, o que pode indicar que a imunidade conferida pela vacinação anti-amarela pode ser por toda a vida<sup>26,27</sup>.

Como a vacina é feita com vírus vivo atenuado, não se recomenda a vacinação de pessoas com imunodeficiência face aos riscos de reversão da virulência em um hospedeiro com depressão do sistema imune. Os pacientes com SIDA/AIDS, câncer e em uso de medicação que deprime a resposta imune não devem ser vacinados, salvo em casos particulares e após cuidadosa avaliação dos riscos. Entretanto, pessoas fortuitamente vacinadas não desenvolveram a doença, mas também muitos não responderam produzindo anticorpos neutralizantes<sup>28</sup>. Por outro lado, o registro de dois casos fatais em pessoas aparentemente híginas, ocorridos no Brasil<sup>20,29</sup> e quatro nos EUA<sup>30</sup> nos alerta que a vacina deve ser usada quando formalmen-

te indicada. Nestes casos, não houve reversão da virulência e as amostras brasileiras foram seqüenciadas e mostraram-se idênticas à vacina, significando que a vacina continua estável e os casos decorreram de problemas de idiosincrasia<sup>31</sup>.

Outro procedimento que pode prevenir a ocorrência da febre amarela é o combate aos vetores e o uso de proteção individual. O combate aos vetores silvestres é inviável. Resta o combate ao vetor urbano, *Ae. aegypti*, que tem sido tentado desde o início do século com bons e maus resultados. Afora a vacina, o combate ao vetor urbano, é o único procedimento que pode impedir a reurbanização da febre amarela. Algumas medidas de proteção individual, como o uso de repelentes e de mosquiteiros, carecem de importância em saúde pública. Assim, o risco de reurbanização da febre amarela, considerando-se a dispersão e os índices de infestação de *Ae. aegypti* hoje existentes no Brasil, é no mínimo preocupante. Abaixo são tecidos comentários acerca desse risco.

## Risco de urbanização

A questão da reurbanização é complexa, muito discutida, pouco estudada cientificamente, e tudo o que se fala não tem respaldo técnico por absoluta falta de estudos, principalmente acerca da verdadeira susceptibilidade do mosquito *Ae. aegypti* ao vírus da febre amarela, de qual o título virêmico capaz de infectar os mosquito, bem como da capacidade do *Ae. albopictus* em se infectar com o vírus da febre amarela e de servir como vetor de ligação entre o ciclo silvestre e o meio urbano. Também não sabemos quantos pacientes são necessários para infectar uma população representativa do transmissor urbano que seja em número suficiente para iniciar e manter uma transmissão autóctone, e quais os fatores associados com a dispersão viral em áreas urbanas. Todos esses aspectos merecem estudo, e pouco ou nada foi feito neste sentido. Portanto, tudo o que se falar ou escrever sobre o assunto é baseado em opiniões pessoais e não com base em estudos cientificamente desenvolvidos.

Desde os anos 80, e com maior evidência nos anos 90, tem-se verificado um incremento do número de casos, tanto na África (onde o problema é mais grave, com milhares de casos anualmente reportados e inclusive com epidemias urbanas) como na América, onde dezenas e freqüentemente centenas de casos são reportados a cada ano<sup>4,8,10,33</sup>. No nosso continente, cerca de 80% dos casos notificados nas décadas de 80-90 ocorreram no Peru e na Bolívia. O Brasil é o terceiro país, com cerca de 16% dos casos (Figura 1). Todos os anos têm sido diagnosticados casos da doença. Nos anos 70, o estado que mais reportou casos foi Goiás. Nos anos 80, Pará e Mato Grosso do Sul lideraram as estatísticas. Nos Anos 90, novamente o Pará e o Maranhão foram os mais acometidos. Só existe transmissão da forma silvestre. Cerca de 90% dos casos são associados a transmissão pelo *Hg. janthinomys*. Mais de 80% ocorreram em adolescentes e adultos jovens do sexo masculino (portanto em plena idade produtiva) e a letalidade tem variado enormemente (média de 40%), o que se acredita dever-se a falha no diagnóstico das formas leves (não havia no passado a preocupação em se diagnosticar as formas leves, embora se saiba que são importantes fontes de infecção para os mosquitos transmissores<sup>3,4,16</sup>; hoje isso está mudando, o que tem contribuído para diminuir a taxa de letalidade da doença). Até o início dos anos 80, apenas o IEC (no Pará) realizava o diagnóstico sistemático da doença; atualmente, temos laboratórios realizando o diagnóstico no Amapá, Amazonas, Acre, Bahia, Distrito Federal, Goiás, Mato Grosso, Mato Grosso do Sul, Minas Gerais, Paraná, Rio de Janeiro, Roraima, São Paulo e Tocantins. Portanto, melhorou sensivelmente a capacidade laboratorial, o que agiliza a vigilância epidemiológica, que é estratégico perante o risco da reurbanização.

Por outro lado, o *Ae. aegypti* está distribuído em todos os estados do país (tanto dentro como fora das áreas endêmica e epizootica). Nenhum estudo no território nacional foi feito (nem eu recomendo que seja feito no atual estado de disseminação

do vetor urbano, se não forem garantidas as melhores condições de segurança) com o *Ae. aegypti* para se conhecer sua susceptibilidade, sensibilidade e capacidade de transmitir o vírus da febre amarela. Resumindo, não se sabe a real capacidade vetorial da população de *Ae. aegypti* que hoje circula no Brasil. Não sabemos inclusive se temos apenas uma ou várias populações do *Ae. aegypti*. Se são muitas, existe diferença na susceptibilidade ao vírus e na capacidade vetorial? Caso exista diferença, é urgente que se faça um mapeamento dessas populações, objetivando conhecer as áreas mais vulneráveis.

A cobertura vacinal anti-amarílica varia de acordo com a área, sendo boa na endêmica (entre 80-95%) e péssima na área indene da doença. É possível que existam áreas (principalmente nos estados do sul) onde no máximo 20% da população tenham proteção contra febre amarela, adquirida por vacinação. Em números teríamos cerca de 4 a 8 milhões de pessoas não vacinadas na área endêmica, principalmente nas capitais e em áreas de difícil acesso, e algo como 70 a 100 milhões na área indene! Com estes números, há algumas medidas que são importantes e que devem ser adotadas (algumas já foram sistematizadas pelo Ministério da Saúde):

- Tentar vacinar o máximo de pessoas nas capitais da área endêmica;
- Vacinar todas as pessoas que se deslocam para as áreas de risco;
- Melhorar a vigilância epidemiológica, adotando a vigilância sindrômica (ou seja, realizar exames nos quadros infecciosos agudos que cursem com febre, hemorragia, icterícia e insuficiência renal). Isto aumenta a sensibilidade do sistema de vigilância;
- Continuar a descentralização do diagnóstico para agilizar as ações de prevenção e controle;
- Diminuir os índices de infestação do *Ae. aegypti* nos grandes núcleos urbanos de

todo o país. Esta ação é estratégica e talvez a mais importante, pois se implementada permitiria diminuir os riscos da reurbanização e ao mesmo tempo impedir ou reduzir a ocorrência de dengue e os riscos de dengue hemorrágico;

- Na suspeita clínica e/ou epidemiológica de caso(s) em áreas urbanas, deve-se atuar simultaneamente na colheita de amostras de contatos e familiares e também de outros casos suspeitos, e simultaneamente vacinar toda a população exposta como forma de impedir, bloquear ou abortar a transmissão urbana;
- Encomendar estudos para estabelecer a capacidade vetorial da(s) população(ões) circulante(s) de *Ae. aegypti* e de *Ae. Albopictus*; e
- Treinar e reciclar clínicos no reconhecimento da doença, o que elevará o índice de suspeita da febre amarela e, consequentemente, dos casos diagnosticados.

Estes são pontos vitais, estratégicos que devem ser priorizados em todos os níveis ou esferas de governo, e, se forem viabilizados, não resta dúvida que a reurbanização da febre amarela deixará de ser o fantasma que tanto apavora a todos que conhecem a fúria histórica da doença. Que o risco existe seria leviano negar, e que continuaremos a ter casos da forma silvestre anualmente diagnosticados não temos dúvida, pois existe a necessidade de adentrar as matas para explorar os recursos naturais, o que leva ao contato com vetores silvestres infectados, mas a ingenuidade e a ignorância das pessoas atuam favoravelmente ao vírus. Portanto, temos que melhorar a vigilância principalmente nos municípios e estados, ou seja, é preciso estar sempre alerta, suspeitando da doença, educar e reciclar melhor o pessoal de saúde, vacinar mais as populações suscetíveis nas áreas de risco e aquelas que para lá se dirigem (turistas, migrantes, etc.) e estudar melhor as epidemias. Assim, iremos aumentar os conhecimentos acerca da história natural da doença.

## Referências

1. Vasconcelos PFC, Travassos da Rosa APA, Dégallier N, Travassos da Rosa JFS et al. Clinical and ecoepidemiological situation of human arboviruses in Brazilian Amazonia. **Braz J Assoc Advanc Sci** 1992; 44: 117-24.
2. Vasconcelos PFC, Rodrigues SG, Dégallier N, Moraes MAP et al. An epidemic of sylvatic yellow fever in the southeast region of Maranhão State, Brazil, 1993-1994: epidemiologic and entomologic findings. **Am J Trop Med Hyg** 1997; 57: 132-7.
3. Vasconcelos PFC, Travassos da Rosa APA, Pinheiro FP, Dégallier N et al. Febre amarela. In: Leão RNQ (ed.). *Doenças Infecciosas e Parasitárias. Enfoque Amazônico*. Belém: Editora CEJUP; 1997. p. 265-84.
4. Vasconcelos PFC, Travassos da Rosa APA, Pinheiro FP, Rodrigues SG et al. *Aedes aegypti*, dengue and re-urbanization of yellow fever in Brazil and other South American Countries. Past and present, and future perspectives. **WHO Dengue Bulletin** 1999; 23: 55-66.
5. Vasconcelos PFC, Travassos da Rosa APA, Rodrigues SG, Travassos da Rosa ES et al. Inadequate management of natural ecosystem in the Brazilian Amazon region results in the emergence and reemergence of arboviruses. **Cad Saúde Pública** 2001; 17(Supl I): 155-64.
6. Vasconcelos PFC, Travassos da Rosa APA, Rodrigues SG, Travassos da Rosa ES et al. Yellow fever in Pará State, Amazon region of Brazil, 1998-1999. Entomological and epidemiological findings. **Emerg Infect Dis** 2001; 7: 565-9.
7. Vasconcelos PFC, Costa ZG, Travassos da Rosa ES, Luna E et al. An epidemic of jungle Yellow fever in Brazil, 2000. Implications of climatic alterations in disease spread. **J Med Virol** 2001; 65: 598-604.
8. World Health Organization. *Prevention and control of yellow fever in Africa*; Geneva; 1985.
9. Monath TP. Flaviviruses. In: Fields BN, Knipe DM, et al. (ed.) **Virology** 2nd ed. New York: Raven Press; 1990. p. 763-814.
10. Robertson SE, Hull BP, Tomori O, Bele O et al. Yellow Fever. A decade of reemergence. **J Am Med Assoc** 1996; 276: 1157-62.
11. Wang E, Weaver SC, Shope RE, Tesh RB et al. Genetic variation in yellow fever virus: duplication in the 3' noncoding region of strains from Africa. **Virology** 1996; 225: 274-81.
12. Strode GK (ed.). **Yellow fever**. New York: McGraw-Hill; 1951.
13. Monath TP. Yellow fever. In: Monath TP (ed.) *Arboviruses: ecology and epidemiology*. Vol. V. Boca Raton; CRC Press; 1988. p.139-241.
14. Vasconcelos PFC. **Febre amarela**. Rio de Janeiro: Sociedade Brasileira de Pediatria; 2000.
15. Monath TP. Yellow fever. A medically neglected infectious disease. **Rev Infect Dis** 1987; 9: 165-75.
16. Nobre A, Antezana D, Tauil PL. Febre amarela e dengue no Brasil: epidemiologia e controle. **Rev Soc Bras Med Trop** 1994; 27(Supl III): 59-66.
17. Hervé JP & Travassos da Rosa APA. Ecologia da febre amarela no Brasil. **Revista Fundação SESP** 1983; 28(1): 11-9.
18. Dégallier N, Travassos da Rosa APA, Vasconcelos PFC, Travassos da Rosa ES, Rodrigues, SG; Sá Filho, GC & Travassos da Rosa, JFS. New entomological and virological data on the vectors of sylvatic yellow fever in Brazil. **Ciência e Cultura** 1992; 44: 136-42
19. Mondet B, Travassos da Rosa APA, Vasconcelos PFC. Les risques d'épidémisation urbaine de la fièvre jaune au Brésil *Aedes aegypti* et *Aedes albopictus*. **Bull Soc Path Exot** 1996; 89: 107-14.
20. PAHO. Serious adverse events associated with Yellow Fever 17D Vaccine, Brasil. *Meeting Of the Group of Experts on Yellow Fever*, Brasília, 10-11 May 2000, mimeo.
21. Travassos da Rosa APA, Vasconcelos PFC, Hervé JP, Travassos da Rosa JFS. Febre amarela silvestre no Estado do Pará, Brasil, 1984. **Boletim Epidemiológico (MS)** 1984; 16: 97-104.
22. Tesh RB, Guzman H, Travassos da Rosa APA, Vasconcelos PFC et al. Experimental yellow fever virus infection in the Golden Hamster (*Mesocricetus auratus*). 1. Virologic, Biochemical and Immunologic studies. **J Infect Dis** 2001; 183: 1431-6.
23. Soper FL. Febre amarela. **O Hospital** 1942; 22: 141-71.
24. Pinheiro FP, Moraes MAP. Febre amarela. In: Neves J (ed.) *Diagnóstico e Tratamento das Doenças Infecciosas e Parasitárias*. Rio de Janeiro: Editora Guanabara; 1984.
25. Hall WC, Crowell TP, Watts DM, Barros VLR, Kruegr H, Pinheiro FP, Peters CJ. Demonstrations of yellow fever and dengue antigens in formalin-fixed paraffin-embedded humans live by immunohistochemical analysis. **Am J Prop Med Hyg** 1991; 45: 408-417.
26. Groot H & Bahia-Ribeiro R. Neutralizing and haemagglutination-inhibiting antibodies to yellow fever 17 years after vaccination with 17D vaccine. **Bull World Health Organ**, 1962; 27: 699-707.
27. Poland JD, Calisher CH, Monath TP, Downs WG et al. Persistence of neutralizing antibody 30-35 years after immunization with 17D yellow fever vaccine. **Bull World Health Organ** 1981; 59: 895-900.



28. Sibailly TS, Wiktor SZ, Tsai TF et al. Poor antibody response to yellow fever vaccination in children infected with human immunodeficiency virus type 1. ***Pediatr Infect Dis J*** 1997; 16: 1177-9.
29. Vasconcelos PFC, Luna EJ, Galler R, Silva LJ et al. Serious adverse events associated with yellow fever 17DD vaccine in Brazil: a report of two cases. ***Lancet*** 2001; 358: 91-7.
30. Martin M, Tsai TF, Cropp B, Chang GJJ et al. Advanced age a risk for illness temporally associated with yellow fever vaccination. ***Emerg Infect Dis*** 2001; 7: 945-51.
31. Galler R, Pugachev KV, Santos CLS, Ochran SW et al. Phenotypic and molecular analyses of yellow fever 17DD vaccine viruses associated with serious adverse events in Brazil. ***Virology*** 2001; 290(2): 309-19.
32. Mutebi JP, Wang H, Li L, Bryant JE, Barrett ADT. Phylogenetic and Evolutionary Relationships along yellow fever virus isolates in Africa. ***J Virol*** 2001; 85: 6999-7008.
33. Pan American Health Organization. *Casos y muertes por fiebre amarilla en región de las Américas*. Washington; 1999.

Recebido em 09/04/02; aprovado em 02/09/02