INSTITUTO DE INFECTOLOGIA EMÍLIO RIBAS
NATÁLIA MERCEDES CABRAL AMDI

RELATO DE DOIS CASOS DE RECRUDESCÊNCIA DA HEPATITE APÓS FEBRE AMARELA

SÃO PAULO
ANO 2020

INSTITUTO DE INFECTOLOGIA EMÍLIO RIBAS

NATÁLIA MERCEDES CABRAL AMDI

RELATO DE DOIS CASOS DE RECRUDESCÊNCIA DA HEPATITE APÓS FEBRE AMARELA

Monografia apresentada à Divisão Científica do Instituto de Infectologia Emílio Ribas, como requisito para conclusão do curso de Residência Médica em Infectologia.

Orientador: Dra Claudia Figueredo-Mello

Co-orientador: Dr. Amaro Duarte-Neto

SÃO PAULO

ANO 2020

Dedico este trabalho,

Ao meu pai, em cuja inspiração me trouxe até aqui.

À minha mãe, pelo apoio, carinho e principalmente incentivo, motivos pelos quais jamais pensei em desistir.

Ao meu marido, que trilhou comigo todos os caminhos, desde quando infectologia era apenas um sonho.

AGRADECIMENTOS

Agradeço aqui àqueles que contribuíram direta ou indiretamente para a conclusão deste trabalho.

Primeiramente agradeço aos meus familiares, em especial minha mãe, meu marido, minha irmã e meu sobrinho, que sempre me apoiaram e me ajudaram em todos os grandes desafios da minha vida.

Aos meus orientadores, pois sem eles a execução deste trabalho jamais seria possível.

Agradeço a quem nesses três anos de estudo foram mais do que professores, foram exemplos de boa formação, ética e humanidade. Em especial Dra. Giselle Burlamaqui Klautau, Dr. Marcos Vinícius da Silva e Dra. Fabiana Gabas-Kallás.

Ao Dr. Mario Peribañez Gonzalez, meu tutor desde o primeiro ano de residência, que com seu jeito alegre e descontraído nas tutorias, não apenas me acolheu, mas deu conselhos que levo pra vida.

Aos meus amigos, e todos os colegas de turma, em especial Kamilla Moraes, responsável por tornar a dura rotina da residência mais leve e divertida, e quem assim como meus familiares, me acolheu nos momentos difíceis.

À Mônica, secretária da COREME, que sempre acatou meus “pedidos de última hora” me ajudando a sanar minhas eventuais pendências.

À Dra. Renata Bacic Palhares, médica patologista do IIER, pela contribuição na análise histopatológica dos casos e à Sra. Cleusa Takakura, técnica do Departamento de Patologia, pela contribuição no processamento do material em parafina para microscopia eletrônica.

E por fim, a todos os pacientes que passaram pela minha formação no Instituto de Infectologia Emílio Ribas, por me motivarem a estudar e aprender todos os dias.

A persistência é o menor caminho do êxito

“Charles Chaplin”

Amdi NMC. **Relato de dois casos de recrudescência da hepatite após febre amarela** [monografia]. São Paulo: Instituto de Infectologia Emílio Ribas, Coordenadoria de Serviços de Saúde, Secretaria de Estado da Saúde de São Paulo; 2020.

RESUMO

A febre amarela é uma arbovirose causada por um *Flavivirus* da família *Flaviviridae*, endêmica na região da bacia amazônica e em alguns países da África. Surtos no Brasil ocorrem periodicamente com sazonalidade bem definida entre os meses de dezembro e abril. Recentemente ocorreu um grande surto de febre amarela silvestre na região sudeste do Brasil, que ressuscitou o temor quanto a sua urbanização e globalização. Apesar de doença antiga, muitos aspectos da sua fisiopatogenia ainda permanecem por ser elucidados. Esta recente epidemia trouxe às ciências médicas, com o auxílio da tecnologia moderna, novos conhecimentos sobre a doença e apresentações atípicas foram observadas. Aqui relatamos dois casos de recrudescência da hepatite após melhora do quadro agudo. Ambos os pacientes apresentaram lesão hepática com aumento significativo de transaminases e disfunção do órgão. Foram excluídas outras causas de hepatite, como viral e autoimune, e realizado biópsia hepática. Análise histopatológica foi sugestiva de hepatite por febre amarela e antígenos virais foram detectados no tecido hepático através de imunohistoquímica. A recrudescência da hepatite é um fenômeno ainda mal compreendido, que parece decorrer de agressão direta do vírus e mais estudos são necessários para sua completa elucidação.

Palavras-chave: Febre amarela. Hepatite. Hepatite rebote. Recrudescência da hepatite.

Amdi NMC. **Relato de dois casos de recrudescência da hepatite após febre amarela** [monografia]. São Paulo: Instituto de Infectologia Emílio Ribas, Coordenadoria de Serviços de Saúde, Secretaria de Estado da Saúde de São Paulo; 2020.

ABSTRACT

Yellow fever is caused by a *Flavivirus*, an arbovirus belonging to *Flaviviridae* family, endemic in the Amazon basin region and in some countries in Africa. Outbreaks in Brazil occur periodically with well-defined seasonality between December and April. There has recently been a major outbreak of wild yellow fever in the southeastern region of Brazil, which has revived fears about its urbanization and globalization. Despite an old disease, many aspects of its pathophysiology remain to be elucidated. This recent outbreak brought to the medical sciences, with the help of modern technology, new knowledge about the disease and atypical manifestations were observed. Here we report two cases of hepatitis rebound, after improvement of the acute condition. Both patients had marked liver cytolysis with organ dysfunction. Other causes of hepatitis, such as viral and autoimmune, were excluded and a liver biopsy was performed. Histopathological analysis was suggestive of hepatitis due to yellow fever and viral antigens were detected in liver tissue through immunohistochemistry. Hepatitis rebound is a phenomenon still poorly understood, which seems to be a result of cytopathic effect of the virus and further studies are needed for its complete elucidation.

Keywords: Yellow fever. Hepatitis. Hepatitis rebound.

FIGURAS

Figure 1 - Hepatite rebote da febre amarela, em dois pacientes na convalescência da doença (IIER, São Paulo, SP, Brasil): (A, B) Caso 1, com infiltrado inflamatório crônico exuberante no lóbulo hepático, com aspecto granulomatoso (A, H&E) e com pesquisa de antígeno (foto da autora) 28

LISTA DE TABELAS

LISTA DE ABREVIATURAS

ALT	Alanina aminotransferase
AMA	Anticorpo anti-mitocôndria
ANCA	Anticorpo anti-citoplasma de neutrófilos
Anti-LKM1	Anticorpo anti-microssoma de fígado e rim
Anti-SMA	Anticorpo anti-músculo liso
AST	Aspartato aminotransferase
BD	Bilirrubina direta
BI	Bilirrubina indireta
BT	Bilirrubina total
ELISA	*Enzyme-Linked Immunosorbent Assay*
FA	Fosfatase alcalina
FAN	Fator anti-núcleo
GGT	Gama glutamil transferase
H&E	Coloração Hematoxilina-Eosina
IHQ	Imunohistoquímica
INR	International normalized ratio
NK	Células *natural killer*
PCR	*Polymerase chain reaction*
PNH	Primatas não humanos
RNA	Ácido ribonucleico
SOFFA	*Efficacy of sofosbuvir as treatment for yellow fever: protocol for a randomized controlled trial in Brazil*
LTCD4+	Linfócito T CD4+
LTCD8+	Linfócito T CD8+
TFG-β	Fator de crescimento tecidual β
Th1	Linfócito T *helper* 1
Th3	Linfócito T *helper* 3
TNF-α	Fator de necrose tecidual α
VFA	Vírus da febre amarela
VHA	Vírus da hepatite A

VHB	Vírus da hepatite B
VHC	Vírus da hepatite C

SUMÁRIO

SUMÁRIO 13
1) Introdução à febre amarela 14
1.1 Etiologia 14
1.2 Epidemiologia 14
1.3 Fisiopatogenia 19
1.4 Manifestações clínicas 21
1.5 Tratamento 23
2) Metodologia 25
3) Relato de casos 26
3.1 Caso 1 26
3.2 Caso 2 27
4) Discussão 29
5) Conclusão 31
6) Referências 33

1) Introdução à febre amarela

1.1 Etiologia

A febre amarela é uma doença infecciosa e não contagiosa, causada por um RNA vírus de fita simples, envelopado, pertencente ao gênero *Flavivirus*, da família *Flaviviridae*.1

O genoma viral tem aproximadamente 11kb de comprimento, e codifica uma única poliproteína, que é clivada por proteinases virais em três proteínas estruturais – proteína C do capsídeo viral, proteína M da membrana, proteína E do envelope – além de sete proteínas não estruturais – NS1, NS2A, NS2B, NS3, NS4A, NS4B, NS5 – responsáveis pelas funções essenciais do vírus **[Cunha MDP et al. Origin of the São Paulo Yellow Fever epidemic of 2017-2018 revealed through molecular epidemiological analysis of fatal cases. Sci Rep. 2019 Dec 31;9(1):20418. doi: 10.1038/s41598-019-56650-1]**, como por exemplo a maturação e a replicação, além de propriedades antigênicas importantes para aplicação de métodos diagnósticos. **[Lindenbach BD, Rice CM. trans-Complementation of yellow fever virus NS1 reveals a role in early RNA replication. J Virol. 1997 Dec;71(12):9608-17]** A proteína NS1 é prevalente entre os *Flavivírus*, exibindo até 80% de similaridade entre eles e pode ser detectada na superfície da célula infectada. **[Liedenbach]**

Foram identificados quatro genótipos do vírus da febre amarela (VFA) em diferentes continentes: (i) África Oriental, (ii) África Ocidental, (iii) América do Sul I, (iv) América do Sul II. **[Cunha MDP]**

1.2 Epidemiologia

A febre amarela é considerada uma arbovirose de suma importância, no cenário mundial destacam-se as áreas endêmicas, em mais de 40 países da América do Sul e da África. Trata-se de uma doença leve a moderada na maioria dos casos, porém com alta taxa de mortalidade entre os casos graves, variando entre 20 a 60%. **[Ferreira MS. Yellow Fever. Ann Hepatol. 2019; 18(6):788-789]**

Na África subsaariana, apenas em áreas endêmicas estima-se que a febre amarela seja causa de aproximadamente 1% das hepatites graves. Entre dezembro de 2015 e julho de 2016 ocorreu um surto de febre amarela urbana originado em Angola, nos arredores de Luanda que se espalhou até o país vizinho, a Republica Democrática do Congo, com um total aproximado de 3.000 casos, entre suspeitos e confirmados, resultando em 253 mortes. O surto só cessou após vacinação em massa da população com cerca de 30 milhões de doses aplicadas. **[Otshudiema J. O. et al. MMWR Morb Mortal Wkly Rep. Março 2017]**

Entre 2016 e 2018, sete países na América do Sul reportaram casos de febre amarela em seus territórios, sendo a maioria dos casos situados no Brasil, com pico de notificação em janeiro de 2018. **[Cunha MDP. Origin of the São Paulo Yellow Fever epidemic of 2017-2018 revealed through molecular epidemiological analysis of fatal cases. Sci Rep. 2019 Dec 31;9(1):20418. doi: 10.1038/s41598-019-56650-1]**

Existem duas apresentações da doença: silvestre e urbana. Em relação a forma silvestre, os vetores no Brasil são mosquitos *Haemagogus* (*Haemagogus janthinomys* e *Haemagogus leucocelaenus*) ou *Sabethes* (*Sabethes chloropterus* e *Sabethes albiprivus*) que vivem e se alimentam nas copas das árvores. Os macacos são os principais hospedeiros do vírus e dentre eles, os mais suscetíveis são os bugios, os capuchinhos e o sagui comum. A transmissão aos seres humanos é incidental, ocorrendo na maioria das vezes quando as pessoas entram em uma área florestal para atividades de extração ou recreação, o que explica uma prevalência maior no sexo masculino (aproximadamente 80%), entre 15 e 35 anos. A epizootia ocorre ciclicamente e os períodos de silêncio epidemiológico provavelmente coincidem com uma diminuição no número de primatas suscetíveis. A forma urbana está associada à participação do vetor *Aedes aegypti*. Apesar da presença deste inseto no vasto território brasileiro, não há relatos de casos urbanos da doença no país desde a última epidemia na cidade de Sena Madureira no Acre, em 1942. Na história do Brasil, surtos em humanos e epizootias vem sendo descritos periodicamente e de forma irregular. Apresentam também uma marcada sazonalidade, com a maioria dos casos ocorrendo entre dezembro e maio, época de chuva. **[Litvoc USP]**

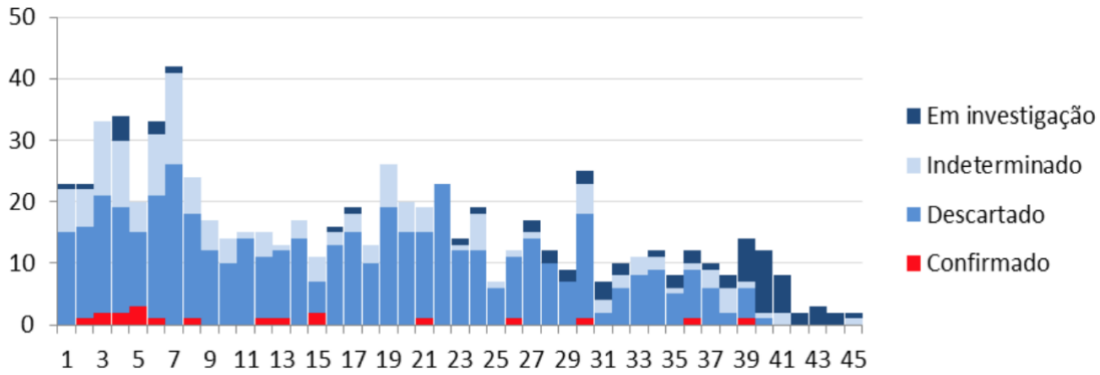
A doença permanece endêmica em regiões da bacia amazônica, com alguns surtos ocorrendo além dessa região geográfica. Observou-se nos últimos anos, entre 2016-2017 e 2017-2018, um aumento expressivo no número de casos na região sudeste do país, reconhecido como a maior epidemia da região, ressuscitando o risco de urbanização da doença, por disseminação rápida a uma área densamente povoada onde não havia recomendação de vacinação, uma vez que nos últimos 70 anos, não se detectava circulação viral. **[Ferreira MS. Yellow Fever. Ann Hepatol. 2019; 18(6):788-789]**

A nova epidemia se iniciou em dezembro de 2016 e no final daquele verão, no ano seguinte, já havia mais de 1.345 casos suspeitos, 295 casos confirmados e 215 mortes atribuídas à febre amarela, predominantemente no estado de Minas Gerais, disseminando-se posteriormente para os estados vizinhos da região sudeste e Bahia, através de corredores ecológicos de mata atlântica. Em 2016 a cobertura vacinal média em Minas Gerais era de aproximadamente 57%, sendo que em um terço dos municípios apenas metade da população era vacinada. A cobertura vacinal era superior a 95% em somente em 3,3% dos municípios.

[Rezende IM. et al. Persistence of Yellow fever virus outside the Amazon Basin, causing epidemics in Southeast Brazil, from 2016 to 2018. PLoS Negl Trop Dis. 2018;12(6):e0006538]

No estado de São Paulo, o surto se iniciou em dezembro de 2017, na cidade de Mariporã, município nos arredores da região metropolitana de São Paulo, e em alguns meses se disseminou para cidades próximas, totalizando 504 casos confirmados com 176 óbitos e letalidade de 35%. Em 2018-2019 a região do Vale do Ribeira, na fronteira com estado do Paraná, viveu um surto com mais de 700 casos notificados, sendo 67 confirmados até o momento, com 13 óbitos e taxa de letalidade de 19,4%. Atualmente é mantida a suspeição quanto a permanência da circulação viral, com a última epizootia confirmada na 39ª semana epidemiológica de 2019, e novos casos ainda em investigação, **[Secretaria de Estado da Saúde São Paulo. Boletim epidemiologico febre amarela. In: Centro de Vigilancia Epidemiologica professor Alexandre Vranjac, ed. Vol 18/11/2019. São Paulo, 2019.]** conforme gráfico abaixo:

Distribuição do número de primatas não humanos notificados segundo classificação. Estado de São Paulo, janeiro a novembro de 2019*.



Fonte: SINANNET; Divisão de Doenças Transmitidas por Vetores e Zoonoses/CVE/CCD/SES-SP.

Dados atualizados em 22/10/2019*.

Cunha MDP et al, sugere que a introdução do vírus no estado de São Paulo se deu por três situações distintas: (i) através do movimento de primatas não humanos (PNH), oriundos de Minas Gerais, entrando pelo noroeste do estado, entre abril e outubro de 2017, responsável pela maior parte dos casos, (ii) através de um paciente contaminado por uma outra linhagem vinda do Espírito Santo e (iii) por um paciente contaminado por uma linhagem proveniente do estado do Rio de Janeiro. **[Cunha MDP. Origin of the São Paulo Yellow Fever epidemic of 2017-**

2018 revealed through molecular epidemiological analysis of fatal cases. Sci Rep. 2019 Dec 31;9(1):20418. doi: 10.1038/s41598-019-56650-1]

No Espírito Santo o surto se iniciou pelas cidades de Ibatiba, no sudoeste do estado, e São Roque do Canaã e Colatina, no noroeste, todos próximos a fronteira com Minas Gerais. O surto se estendeu de forma rápida, registrando mais de 800 casos suspeitos nos primeiros 7 meses e prontamente identificado como o maior do estado. **[Moussalem TM. et al. Rev Panam Salud Publica. 2019; 43: e29]**

Um estudo filogenético e epidemiológico recente, realizado em Minas Gerais entre 2017 e 2018, analisou sequências nucleotídicas de proteínas estruturais de capsídeo e envelope viral de vírus detectados em humanos (n=6) e primatas não humanos (n=10). Sugere-se que a última epidemia decorreu de uma linhagem única do VFA, que após inserida na região sudeste, evoluiu localmente, dando origem à subgrupos: um agrupamento relacionado tanto à epidemia em humanos e epizootias, e outro possivelmente relacionado apenas a PNH. Tal linhagem possui um ancestral comum, datado de 2015, estreitamente relacionado com uma linhagem da Venezuela, que teria entrado no Brasil, seguido através da região norte e centro-oeste, com casos registrados em áreas de intensa atividade turística de Tocantins e Goiás, o que pode ter contribuído para sua disseminação, atingido a região sudeste em 2016. De forma similar às epidemias que ocorreram entre 2000-2001 e 2008-2009, a circulação viral entre PNH foi detectada 1 a 2 anos antes da existência de casos em humanos. Embora estudos filogenéticos comparativos apresentem a fragilidade da escassez de bancos de dados de genomas e sequências nucleotídicas, a disseminação pela região sudeste através da região centro-oeste parece ser um fato comum entre as epidemias, o que torna a intensificação da vigilância da circulação viral na região centro-oeste estratégica na detecção precoce de surtos em regiões fora da bacia amazônica. A persistência do vírus através de estações epidêmicas e interepidêmicas, indica que a região sudeste reúne características ecológicas e climáticas favoráveis à disseminação viral. **[Rezende IM. et al. Persistence of Yellow fever virus outside the Amazon Basin, causing epidemics in Southeast Brazil, from 2016 to 2018. PLoS Negl Trop Dis. 2018;12(6):e0006538]**

Os vírus que circularam na região sudeste no último surto pertencem ao genótipo sulamericano I, subclasse 1E, **[Bonaldo MC. et al. Mem Inst Oswaldo Cruz. 2017;112(6):447-451] [Casadio LVB et al. Lipase and factor V (but not viral load) are prognostic factors for the evolution of severe yellow fever cases. Mem Inst Oswaldo Cruz. 2019;114:e190033. doi: 10.1590/0074-02760190033] [Rezende IM. et al. Persistence of Yellow fever virus outside the Amazon Basin, causing epidemics in Southeast Brazil,**

from 2016 to 2018. PLoS Negl Trop Dis. 2018;12(6):e0006538] contudo, Bonaldo MC. et al, observou que o VFA que circulava no Espírito Santo no início da epidemia, através de análise comparativa com genoma de outros vírus que circularam entre Brasil e Venezuela desde 1980, mostrava oito alterações semi-conservativas, em aminoácidos das proteínas C, NS3 e NS5, e que sete das oito alterações localizam-se nas proteínas não estruturais NS3 (2 alterações) e NS5 (5 alterações), relacionadas com a replicação viral, o que pode consequentemente, traduzir-se fenotipicamente em vantagem adaptativa do vírus. Apesar deste achado, não se pode afirmar que tais alterações pertençam apenas às cepas relacionadas ao último surto, pois pouquíssimas sequências genômicas completas do VFA americano estão descritas no banco de dados da GenBank. **[Bonaldo MC. et al. Mem Inst Oswaldo Cruz. 2017;112(6):447-451]**

Dados publicados na última década reforçam a preocupação global com a exportação da febre amarela através do turismo, trazendo aos profissionais de saúde de áreas não endêmicas, a necessidade de manterem-se atualizados quanto ao diagnóstico e manejo de pacientes apresentando o variado espectro desta doença. Com o aumento recorde registrado do número de casos em viajantes, além das mudanças climáticas e o efeito do clima no habitat do *Aedes aegypti*, é crescente a preocupação com surtos na Europa **[Sekhawat V, Lucas SB. Re-emergent yellow fever: new faces of an old killer. Histopathology. 2019 Nov;75(5):636-637. doi: 10.1111/his.13939]**e principalmente nos Estados Unidos, onde a população do vetor urbano tem crescido.

[Moreno-Madrin~a n MJ, Turell M. History of mosquitoborne dis- eases in the United States and implications for new pathogens. Emerg. Infect. Dis. 2018; 24; 821–826]

[Sekhawat V, Lucas SB. Re-emergent yellow fever: new faces of an old killer. Histopathology. 2019 Nov;75(5):636-637. doi: 10.1111/his.13939]

Em 2002 foi observado que mais de nove milhões de pessoas provenientes de países não endêmicos na Ásia, Europa e América do Norte viajaram para áreas com registro de surtos. Naquele ano, o risco estimado de contrair a doença em países africanos foi de 1 em 267, enquanto que na América do Sul, este risco era considerado dez vezes menor. Atualmente, com o global aumento no volume de viagens esse risco torna-se ainda maior. **[Monath TP, Cetron MS. Prevention of yellow fever in persons traveling to the tropics. Clin Infect Dis. 2002;34(10):1369–78. https://doi.org/10.1086/340104]**

[Gubler DJ. Pandemic yellow fever: a potential threat to global health via travelers. J Travel Med. 2018;25:1. https://doi.org/10. 1093/jtm/tay097] Em 2016, onze trabalhadores chineses exportaram a doença de Angola para Ásia pela primeira vez na história do continente, onde habitam além do vetor urbano *Aedes aegypti*, mais de 2 bilhões de pessoas

imunologicamente suscetíveis. **[Wilder-Smith A, Lee V, Gubler DJ. Yellow fever: is Asia prepared for an epidemic? Lancet Infect Dis. 2019;19(3):241–2. https://doi.org/10.1016/S1473-3099(19)30050-7.]** Apenas em 2018, foram relatados 10 casos de febre amarela relacionados a viagens, incluindo quatro mortes, em viajantes internacionais que retornavam do Brasil. Metade dos viajantes era proveniente da América do Sul e outra metade de países da Europa, incluindo Reino Unido **[Hamer DH. et al. Yellow Fever in Travelers to brazil. MMWR Morb Wkly Rep. 2018; 67(11): 340–341]**, país onde o último caso conhecido foi um acidente ocupacional ocorrido em 1930. **[Sekhawat V, Lucas SB. Re-emergent yellow fever: new faces of an old killer. Histopathology. 2019 Nov;75(5):636-637. doi: 10.1111/his.13939]**

Em janeiro de 2018, a Organização Mundial da Saúde atualizou e ampliou as recomendações de vacinação contra a febre amarela no Brasil para incluir os estados do Espírito Santo, São Paulo e Rio de Janeiro e em algumas cidades do estado da Bahia. **[Hamer DH. et al. Yellow Fever in Travelers to brazil, 2018. MMWR Morb Wkly Rep. 2018; 67(11): 340–341]**

1.3 Fisiopatogenia

Após a inoculação do VFA pela picada do mosquito durante o repasto sanguíneo, ele é transportado por células dendríticas da pele até os linfonodos regionais para apresentação de antígeno e replicação, e só então ocorre a viremia e disseminação para todos os órgãos, especialmente para fígado, rins, baço, cérebro e coração, replicando-se nestes órgãos.

No fígado, principal órgão alvo da infecção, as primeiras células infectadas são as células de Küpffer seguido de infecção dos hepatócitos. Estes, por sua vez, passam por alterações importantes, como degeneração eosinofílica (corpúsculos de Coucilman Rocha-Lima) e gordurosa. Essas alterações ocorrem principalmente na região mediozonal – uma alteração característica e sempre presente na hepatite da febre amarela, que ocorre possivelmente por efeito citopático direto do VFA, uma vez que antígenos e RNA viral foram principalmente detectados nesta localização. **[Monath. Lancet]** O grau de lesão hepática é desproporcional às alterações inflamatórias, as quais são mínimas, com infiltrado predominantemente composto por linfócitos LTCD4+ e LTCD8+, células NK, macrófagos e células apresentadoras de antígenos, nas áreas mediozonal e periportal. A desproporção entre a intensidade da inflamação e o grau de lesão hepática deve-se provavelmente ao intenso componente apoptótico, que classicamente não induz resposta inflamatória. **[Juarez A.S. Quaresma, Maria I.S. Duarte, Pedro F.C. Vasconcelos. Midzonal lesions in yellow fever: A specific pattern of liver injury caused by direct virus action and in situ inflammatory response. Medical Hypotheses (2006) 67, 618–621]** **[Duarte-Neto AN, Cunha MDP, Marcilio I et al. Yellow fever**

and orthotopic liver transplantation: new insights from the autopsy room for an old but reemerging disease. Histopathology 2019; https://doi.org/10.1111/his.13] [Quaresma JA et al. Hepatocyte lesions and cellular immune response in yellow fever infection. Trans R Soc Trop Med Hyg. 2007 Feb;101(2):161-8] Acredita-se que a morte do hepatócito por apoptose seja causada por dois mecanismos: (i) efeito citopático direto de antígenos virais, induzindo a ativação da cascata de apoptose. (ii) mecanismo citotóxico de citocinas, especialmente o *TFG-ß*, expressas por células inflamatórias, sugerindo padrões de resposta imune Th1 e Th3 na febre amarela.

[Quaresma JA et al. Revisiting the liver in human yellow fever: virus-induced apoptosis in hepatocytes associated with TGF-beta, TNF-alpha and NK cells activity. Virology. 2006 Feb 5;345(1):22-30]

Os rins podem se apresentar com volume aumentado, tensos e com o córtex amarelo-pálido, de aspecto gorduroso. A disfunção da membrana basal glomerular é associada à alteração da permeabilidade a proteínas, especialmente a albumina. As lesões glomerulares são relativamente insignificantes comparadas à necrose tubular aguda e à degeneração tubular gordurosa. O vírus infecta células tubulares e o comprometimento tubular afeta principalmente os túbulos proximais **[T. De Brito, S. A. C. Siqueira, R. T. M. Santos, E. S. Nassar, T. L. M. Coimbra and V. A. F. Alves. Human Fatal Yellow Fever Immunohistochemical Detection of Viral Antigens in the Liver, Kidney and Heart. Path. Res. Pract. 188, 177-181 (1992)]**, o que contribui para acidose metabólica importante em doentes graves. **[Ho YL et al. Severe yellow fever in Brazil: clinical characteristics and management. J Travel Med. 2019 Jun 11;26(5). doi: 10.1093/jtm/taz040**

A infecção é seguida de uma rápida resposta do sistema imunológico, sendo a humoral a resposta mais bem estudada. Anticorpos IgM aparecem dentro da primeira semana de sintomas, atingindo seu pico na segunda semana. A queda em sua titulação ocorre em meses. Anticorpos neutralizantes surgem rapidamente e permanecem por anos, conferindo proteção contra a doença. Pode haver certa proteção cruzada por anticorpos específicos contra outros *flavivírus*, em especial dengue. **[Monath. Lancet]**

O *TNF-α* e outras citocinas produzidas pelas células de Küpffer infectadas e por macrófagos esplênicos em resposta à injúria direta pelo vírus, e células T citotóxicas envolvidas no *cleareance* viral tem sua participação no dano celular e endotelial e formação de radicais livres. Assim como na sepse bacteriana, a hipotensão e choque em estágios avançados da doença são provavelmente mediados por desregulação do sistema imune. **[Monath. Lancet]**

Apesar de intenso estudo, muito se tem a descobrir sobre a fisiopatogenia da febre amarela. A falta de dados provavelmente se dá devido ao fato de que a maioria dos casos acontecem em áreas remotas, sem acesso à tecnologia moderna e estrutura hospitalar de alta complexidade. **[Monath Lancet]** Durante a última epidemia, foi possível realizar mais estudos, uma vez que a mesma ocorreu em uma região mais desenvolvida socioeconomicamente, tendo assim recurso financeiro e estrutural para pesquisa. **[Ho]**

1.4 Manifestações clínicas

O período de incubação varia entre 3 a 6 dias, podendo-se estender até 2 semanas. Até metade dos casos podem ser assintomáticos. **[Ministério da Saúde (BR). Febre amarela: guia para prossionais de saúde. Brasília (DF); 2018 [cited 2018 Feb 03]. Disponível em: http://portalarquivos2.saude.gov.br/images/pdf/2018/janeiro/18/Guia-febre-amarela-2018.pdf]** O início dos sintomas é abrupto, e inclui febre alta (média de 39ºC), calafrios, mal estar, cefaleia, lombalgia, mialgia generalizada, náuseas e tontura. Ao exame físico destaca-se a presença de bradicardia relativa em vigência de febre alta (sinal de Faget). Laboratorialmente as alterações iniciais são leucopenia, neutropenia relativa, aumento de transaminases, com AST>ALT possivelmente por ação direta do vírus na musculatura estriada. Valores aumentados de transaminases são preditores de gravidade. **[Monath TP. Yellow fever: an update. Lancet Infect Dis. 2001; 1(1):11-20]**

Clinicamente, a doença é descrita com uma evolução bifásica: **[World Health Organization. Yellow fever [cited 2018 Jan 31]. Disponível em: http://www.who.int/csr/disease/yellowfev/en/]**

- Fase virêmica: se inicia em 24 a 48h antes do início dos sintomas. Geralmente, os sintomas duram de dois a quatro dias, caracterizando quadro leve ou moderado, que ocorre em aproximadamente 20 a 30% dos pacientes. **[Litvoc] [Ministério da Saúde BR]**
- Fase toxêmica: ocorre após uma melhora inicial breve com duração média de 24h, como uma recrudescência com piora dos sintomas, caracterizada por disfunção de órgãos e sistemas, cursando com hepatite, nefropatia, coagulopatia, alterações neurológicas e vasculopatia hemorrágica.

[Centers for Disease Control and Prevention. Clinical and Laboratory Evaluation. Yellow Fever [cited 2018 Jan 31]. Disponível em: https://www.cdc.gov/yellowfever/healthcareproviders/healthcareproviders-clinlabeval.html]

World Health Organization. Yellow fever [cited 2018 Jan 31]. Disponível em: http://www.who.int/csr/disease/yellowfev/en/]

[Litvoc] [Ministério da Saúde BR]

Em contrapartida, uma coorte retrospectiva realizada em um centro de referência em São Paulo durante o maior surto de febre amarela na região, com pacientes em cuidados intensivos, não observou tal padrão de evolução devido ausência de período de remissão e viremia detectável além da fase inicial. **[artigo Ho]**. Casadio LVB et al. relatou presença de RNA viral em doentes críticos até 28 dias após o início dos sintomas, além de detecção na urina até 47 dias após início dos sintomas, demonstrando persistência do vírus no trato genitourinário por mais tempo do que acreditava-se. **[Artigo Lu]**

A icterícia normalmente não está presente no início do quadro, e neste momento não deve ser usada como critério diagnóstico. **[Artigo Ho].**

Aproximadamente 10 a 15% dos infectados apresentam forma grave necessitando de cuidados intensivos. Os casos graves evoluem com disfunção renal, acidose metabólica importante, bicarbonato sérico extremamente baixo com necessidade de terapia de substituição renal, quadro de encefalopatia e convulsões, sem correlação com níveis de amônia e diâmetro do nervo óptico, cuja fisiopatogenia ainda permanece obscura. Desenvolvem principalmente sangramentos em trato gastrointestinal e locais de punção venosa, que ocorrem independente de valores de INR ou plaquetas **[Ho]**, porém dosagens de fator V e fibrinogênio costumam apresentar-se muito baixas, o que indica que a fisiopatogenia da coagulopatia é complexa, multifatorial **[Monath Lancet] [Ho]** e difere de outras hepatites virais. **[Ho]** Embora sugerida por estudos antigos, coagulação intravascular disseminada não foi encontrada em necropsia de casos fatais durante as últimas epidemias na região sudeste. **[Amaro]** Pancreatite parece ser um achado comum, e alguns doentes morrem em decorrência de pancreatite necro-hemorrágica. Fator V baixo e lipase aumentada são indícios de mau prognóstico na febre amarela. **[artigo Lu]** O pulmão aparenta ser um órgão poupado da ação citopática do vírus e embora outros fenômenos hemorrágicos possam estar presentes desde o início do quadro, a hemorragia alveolar foi descrita uma como um evento terminal no curso da doença. O paciente deteriora rapidamente e a mortalidade intra-hospitalar é de 67%. **[Ho YL et al. Severe yellow fever in Brazil: clinical characteristics and management. J Travel Med. 2019 Jun 11;26(5). doi: 10.1093/jtm/taz040]**

Esplenite e hemofagocitose são achados recentemente descritos em casos fatais. **[Amaro]**

Quanto às alterações cardíacas, na fase inicial da doença é comum o sinal de Faget, entretanto após poucos dias de evolução o doente grave pode desenvolver taquiarritmias entre outras anormalidades eletrocardiográficas, miocardite, disfunção ventricular esquerda com

fração de ejeção reduzida. **[Ho YL et al. Severe yellow fever in Brazil: clinical characteristics and management. J Travel Med. 2019 Jun 11;26(5). doi: 10.1093/jtm/taz040]**

1.5 Tratamento

Até o momento nenhum tratamento especifico foi validado clinicamente. Contudo, novas estratégias de tratamento estão sendo estudadas **[SOFFA]**. A susceptibilidade, tanto *in vitro* como *in vivo*, de *Flavivirus* – dentre eles dengue, zika e febre amarela – ao sofosbuvir, um fármaco antiviral utilizado para tratamento da hepatite C, já foi demonstrada em diversos estudos. **[Sacramento CQ, de Melo GR, de Freitas CS, et al. The clinically approved antiviral drug sofosbuvir inhibits Zika virus replication. Sci Rep 2017;7:1–11]** ; **[Bullard-Feibelman KM, Govero J, Zhu Z, et al. The FDA-approved drug sofosbuvir inhibits Zika virus infection. Antiviral Res 2017;137:134–40]** ; **[de Freitas CS, Higa LM, Sacramento CQ, et al. Yellow fever virus is susceptible to sofosbuvir both in vitro and in vivo. PLoS Negl Trop Dis 2019;13:e0007072]** ; **[HT X, Colby-Germinario SP, Hassounah SA, et al. Evaluation of Sofosbuvir (β-D-2'-deoxy-2'-α- uoro-2'-β-C-methyluridine) as an inhibitor of Dengue virus replication. Sci Rep 2017;7:1–11]** ; **[Mendes ÉA, Pilger DRB, Santos Nastri ACS, et al. Sofosbuvir inhibits yellow fever virus in vitro and in patients with acute liver failure. Ann Hepatol 2019;18:816–24]** Baseando-se nisso, um ensaio clínico randomizado (estudo SOFFA) está sendo conduzido em dois centros de referência em São Paulo, avalia a eficácia do sofosbuvir como tratamento para febre amarela considerando desfecho clínico e tempo de cleareance viral. **[Figueiredo-Mello C et al. Efficacy of sofosbuvir as treatment for yellow fever: protocol for a randomised controlled trial in Brazil (SOFFA study). BMJ Open. 2019 Nov 25;9(11):e027207. doi: 10.1136/bmjopen-2018-027207]**

Em relação ao tratamento de suporte em unidade de terapia intensiva, estudos recentes propõe realização de hemodiálise precoce com indicação baseada na acidose metabólica e não em parâmetros tradicionais, doses terapêuticas de inibidores de bomba de prótons devido frequente sangramento de trato gastrointestinal, anticonvulsivante profilático e troca plasmática. A troca plasmática possibilita a remoção de endotoxinas, metabólitos tóxicos, o próprio VFA, além da reposição de fatores de coagulação. **[Ho YL et al. Severe yellow fever in Brazil: clinical characteristics and management. J Travel Med. 2019 Jun 11;26(5). doi: 10.1093/jtm/taz040]**

Transplante hepático foi realizado em sete pacientes com hepatite fulminante em São Paulo durante epidemia de 2017-2018. Destes sete, três pacientes se recuperaram e quatro

morreram. **[Song ATW et al. Liver Transplantation for Fulminant Hepatitis Attributed to Yellow Fever. Hepatology. 2019 Mar;69(3):1349-1352. doi: 10.1002/hep.30273]** Todos os que morreram apresentavam sinais de hepatite por febre amarela na necropsia, bem como sinais de doença sistêmica com indícios da presença do vírus em diversos órgãos do corpo, por pesquisa do RNA ou antígeno viral. **[Amaro – Histopathology]** Estes resultados colocam o transplante como uma alternativa com eficácia limítrofe para o tratamento de casos malignos. **[Sekhawat V, Lucas SB. Re-emergent yellow fever: new faces of an old killer. Histopathology. 2019 Nov;75(5):636-637. doi: 10.1111/his.13939]**

Este estudo retrospectivo visa descrever dois casos de apresentação atípica com recrudescência da hepatite, seus achados clínicos, laboratoriais e principalmente histopatológicos, cujas particularidades jamais foram relatadas.

2) Metodologia

No ano de 2018, no Instituto de Infectologia Emílio Ribas, dois casos de recrudescência da hepatite por febre amarela foram internados devido alteração de provas de função hepática (INR e bilirrubinas). A recrudescência foi definida como transaminases acima de dez vezes o limite superior da normalidade. Foram revisados dados de prontuários de ambos os pacientes desde a admissão até março de 2019.

3) Relato de casos

3.1 Caso 1

Homem, 35 anos, previamente hígido, com história de internação durante 8 dias em outro hospital, por febre amarela confirmada por sorologia e teste molecular. Recebeu alta com melhora clínica e laboratorial. Após 3 semanas de seguimento ambulatorial é internado novamente, assintomático, devido alteração de coagulação com INR 2,18. Não apresentava alterações no exame físico. Apresentou piora laboratorial durante a internação, com valores máximos: AST 1408; ALT 1450; BT 23; BD 17; GGT 1259; FA 275. O paciente negou ter usado quaisquer drogas hepatotóxicas. Foram descartadas outras hepatites virais (VHA, VHB, VHC), e verificada ausência de viremia por VFA com PCR sérico. Exames de imagem, incluindo tomografia computadorizada e ressonância magnética de abdômen mostraram apenas discreta hepatoesplenomegalia. Durante investigação complementar para avaliação de outras causas de hepatite, foi realizado eletroforese de proteínas que não apresentou alterações, fator anti-núcleo (FAN), anticorpo anti-mitocôndria (AMA), anti-microssoma de fígado e rim (anti-LKM-1), todos negativos, entretanto, anticorpo anti-músculo liso (anti-SMA) resultou reagente, com titulação 1/80, de padrão vascular e glomerular. Diante da presença de autoanticorpos relacionados à hepatite autoimune, foi iniciada terapia com prednisona 60mg ao dia, além de programação de biópsia hepática, cujo resultado foi compatível com hepatite crônica associada à hepatite aguda colestática e IHQ positiva para VFA (Figura 1A, 1B). Devido melhora clínica, redução da icterícia e melhora laboratorial, recebeu alta assintomático, mantendo corticoterapia. Durante seguimento ambulatorial, após redução da prednisona, o paciente voltou a apresentar elevação de transaminases quando foi associado azatioprina ao esquema terapêutico. O paciente, por motivos pessoais, interrompeu o segmento no serviço.

3.2 Caso 2

Homem, 42 anos, previamente hígido, com história de internação por 8 dias com febre amarela confirmada por teste molecular, recebeu alta com melhora clínica e laboratorial. Após 2 meses procurou novamente o serviço de saúde com quadro de icterícia, prurido e astenia havia 8 dias, sendo transferido ao presente hospital. Ao exame físico, apresentava hepatomegalia limítrofe, com fígado palpável a 3cm do rebordo costal direito. Durante hospitalização, houve piora laboratorial até valores máximos: AST 1257, ALT 2267, BT 14, BD 11, GGT 1001, FA 131. Foram descartadas outras hepatites virais (VHA, VHB, VHC), e também verificada a ausência de viremia através de PCR sérico para VFA. Colangioressonância magnética de abdômen confirmou a hepatoesplenomegalia leve e não mostrou alterações de vias biliares. Os autoanticorpos dosados resultaram negativos (FAN, AMA, ANCA), porém a eletroforese de proteínas mostrou traçado sugestivo de gamopatia policlonal. Foi submetido à biópsia hepática e prontamente iniciado tratamento com prednisona 60 mg ao dia. O laudo histopatológico foi compatível com hepatite secundária à febre amarela com IHQ positiva para este vírus (Figura 1C, 1D). A microscopia eletrônica da amostra emblocada em parafina demonstrou raros corpos apoptóticos no parênquima hepático. O paciente evoluiu com redução da icterícia e melhora laboratorial, recebendo alta assintomático, mantendo corticoterapia devido marcada importante clínico-laboratorial com a instituição do tratamento. Por opção do paciente que morava em outra cidade, iniciou seguimento em outro serviço.

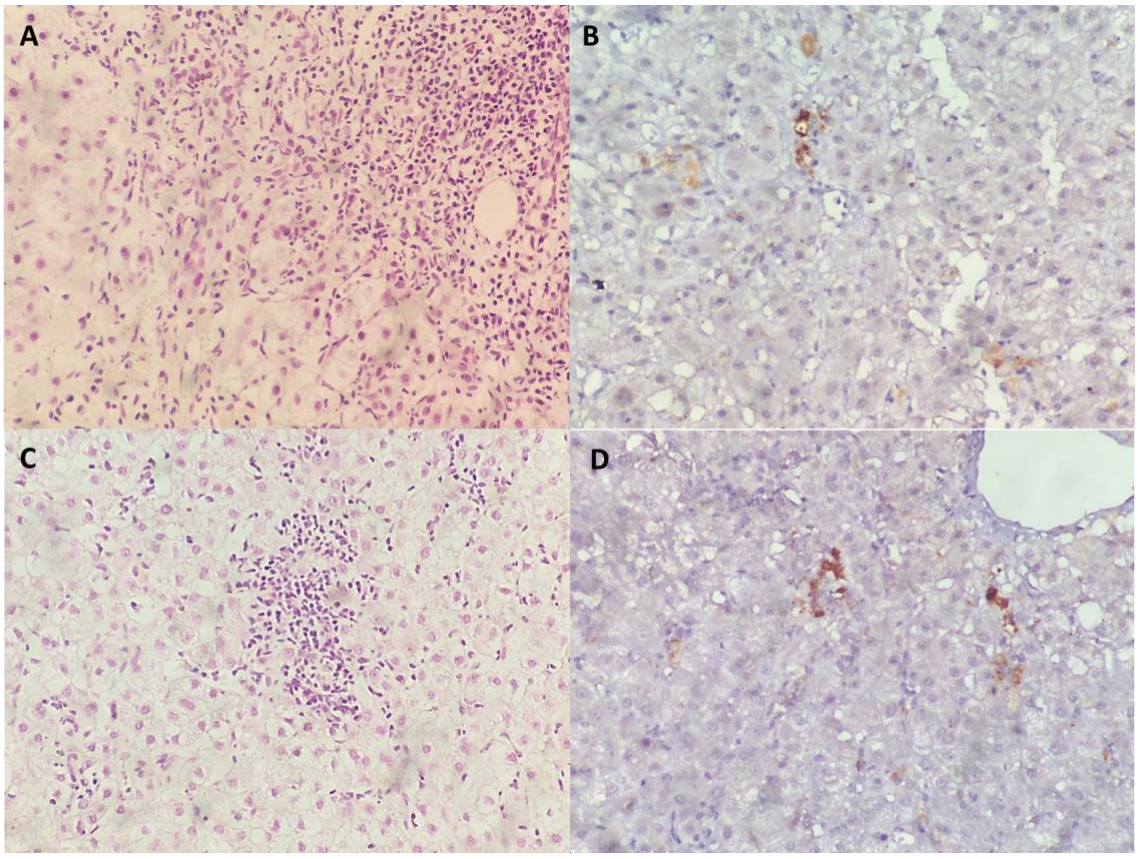


Figure 1 - Hepatite rebote da febre amarela, em dois pacientes na convalescência da doença (IIER, São Paulo, SP, Brasil): (A, B) Caso 1, com infiltrado inflamatório crônico exuberante no lóbulo hepático, com aspecto granulomatoso (A, H&E) e com pesquisa de antígeno (foto da autora)

4) Discussão

O instituto de Infectologia Emílio Ribas (IIER) foi fundado no século 19, é de caráter público, especializado em epidemias e doenças infecto contagiosas. Durante a epidemia de febre amarela desse século a unidade foi uma das referências na região metropolitana de São Paulo.

A hepatite rebote foi descrita previamente em dois turistas franceses, após viagem ao Brasil em 2018, onde contraíram febre amarela. Assim como nos casos aqui relatados, a apresentação clínica inicial, de ambos pacientes, foi aguda e leve, apesar da icterícia clínica e alterações laboratoriais importantes (lesão hepática com AST>1200 e ALT>1500), caracterizando doença moderada com boa evolução seguida de melhora dos sintomas. Entretanto, após a retorno à França, os pacientes procuraram serviço médico por astenia, febre e icterícia, apresentando laboratorialmente trombocitopenia moderada e elevação significativa de transaminases (ALT>5000 e AST> 3400). Também foram excluídas outras causas de hepatites, tais como virais e autoimune. Igualmente ao observado em nosso serviço, não foi detectado presença de RNA viral no sangue destes pacientes. A infecção prévia por febre amarela foi confirmada por soroconversão (ELISA). Diferente dos casos aqui relatados, os pacientes evoluíram assintomáticos e não foi realizado biópsia hepática, tampouco instituído qualquer tratamento específico. **[BD et al. Hepatitis Rebound after Infection with Yellow Fever Virus. Emerg Infect Dis. 2019 Jun; 25(6): 1248–1249]**

A fisiopatogenia da recrudescência da hepatite ainda não foi elucidada, entretanto a agressão ao parênquima hepático parece estar relacionada à ação direta do vírus, como demonstrada em nossos casos, pela detecção de antígeno viral no tecido biopsiado, através de imunohistoquímica.

São antigas as publicações que mostram a persistência do vírus em outros tecidos do corpo, além do fígado. Em 1943, Penna e Bittencourt já observaram a persistência do VFA viável em tecido cerebral de macacos rhezus, após 2 a 5 meses de inoculação intracerebral, durante um estudo de controle de vacina **[Penna HA, Bittencourt A. Persistence of yellow fever in brains of monkeys immunized by cerebral inoculation. Science. 1943;97:448-49]** e Duarte-Neto et al. sugere, através de seus achados em autópsias de casos fatais após transplante de fígado por hepatite fulminante por febre amarela, que o trato geniturinário funcione como um reservatório para o VFA, podendo liberar vírus para outros tecidos do corpo no período de convalescença, **[Duarte-Neto AN, Cunha MDP, Marcilio I et al. Yellow fever and orthotopic liver transplantation: new insights from the autopsy room for an old but**

reemerging disease. Histopathology 2019; https://doi.org/10.1111/his.13]causando inclusive hepatite rebote. Nos casos aqui relatados, entretanto, o trato genitourinário não foi investigado uma vez que tais observações não eram de amplo conhecimento.

Em seus experimentos com macacos rhezus, Penna e Bittencourt relataram também, que dentre os animais inoculados, três animais morreram, no dia 63, 93 e 159 após inoculação, por tuberculose disseminada. **[Penna HA, Bittencourt A. Persistence of yellow fever in brains of monkeys immunized by cerebral inoculation. Science. 1943;97:448-49]** Sabe-se que tuberculose disseminada mantém uma íntima relação com imunossupressão, portanto estes antigos relatos podem ser os primeiros indícios do grande impacto negativo que a infecção pelo VFA causa no sistema imunológico, o que também é corroborado por estudos experimentais prévios, conduzidos em animais. **[Monath TP, Barrett AD. Pathogenesis and pathophysiology of yellow fever. Adv. Virus Res. 2003; 60; 343–395.] [Sbrana E, Xiao SY, Popov VL, Newman PC, Tesh RB. Experi- mental yellow fever virus infection in the golden hamster (Mesocricetus auratus) III. Clinical laboratory values. Am. J. Trop. Med. Hyg. 2006; 74; 1084–1089.]** Duarte-Neto, também retrata a hipótese de imunossupressão, mediante seus achados em necropsia, como síndrome de resposta inflamatória sistêmica com linfopenia periférica, presença de infecções secundárias, inclusive oportunista, retardo na maturação de precursores mielóides na medula óssea, hipoplasia linfoide no baço e linfonodos e hemofagocitose, embora nestes casos não seja possível inferir o grau de responsabilidade da febre amarela na disfunção imunológica, uma vez que os pacientes haviam sido transplantados e também estavam em uso de imunossupressores. **[artigo Amaro]** A despeito disso, nossos casos não apresentaram sinais evidentes de imunossupressão, e a medula não foi analisada, não sendo possível comparar tais dados.

Portanto, permanece a dúvida se, o sistema imune que foi capaz de controlar parcialmente a infecção no início do quadro, uma vez debilitado pelo próprio vírus, foi totalmente ineficiente em conter sua disseminação num segundo momento, a partir de um reservatório. Mais estudos precisam ser conduzidos para avaliar o papel do sistema imune na recrudescência da hepatite, bem como sua fisiopatogenia.

5) Conclusão

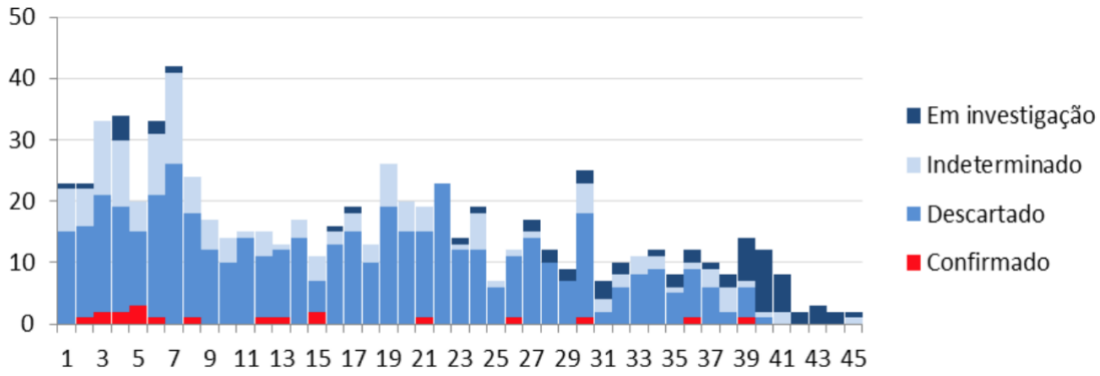
O recente surto de febre amarela no Brasil ressuscitou o interesse mundial pela doença, tanto pelo risco de urbanização e globalização da mesma, quanto pela possibilidade de avanço em conhecimento de uma doença que embora antiga tem sua patogenia ainda pouco elucidada, e permanece sem terapêutica específica validada. Com o aumento no número de casos, manifestações clínicas incomuns foram descritas. Nosso estudo nos permite concluir que trata-se de recrudescimento do quadro pelo próprio vírus, demonstrando uma infecção prolongada e mais estudos são necessários para entender plenamente sua fisiopatogenia, fatores predisponentes e manejo terapêutico adequado.

Lista de gráficos:

Gráfico 1:

Distribuição do número de PNH notificados segundo classificação. Estado de São Paulo, janeiro a novembro de 2019*.

Gráfico 1 - Distribuição do número de PNH notificados segundo classificação. Estado de São Paulo, janeiro a novembro de 2019*



Fonte: SINANNET; Divisão de Doenças Transmitidas por Vetores e Zoonoses/CVE/CCD/SES-SP.

Dados atualizados em 22/10/2019*.

6) Referências

1) Litvoc MN, Novaes CTG , Lopes MIBF. Yellow fever. Rev Assoc Med Bras. 2018; 64 (2): 106-113.

2)

OBS:: {REVER BIBLIOGRAFIAS ABAIXO}

[Ishak R, de Oliveira Guimarães Ishak M, Vallinoto ACR, De Paula Pinheiro F. Yellow fever virus: historical and current issues regarding recent epidemics and vaccination in Brazil. Hum Vaccin Immunother. 2019 Nov 14:1-4]

Discutir outros casos de apresentações incomuns:

- Trigger de miopatia inflamatória: J Clin Rheumatol. 2019 Oct 22.

doi: 10.1097/RHU.0000000000001147

Yellow Fever Vaccine as a Possible Trigger of Inflammatory Myopathy: A Case Report.