

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
DEPARTAMENTO DE MICROBIOLOGIA

INFLUENZA A E SUA IMPORTÂNCIA NO CONTEXTO BRASILEIRO E MUNDIAL

ANA GABRIELLA STOFFELLA DUTRA

Belo Horizonte
2017

ANA GABRIELLA STOFFELLA DUTRA

INFLUENZA A E SUA IMPORTÂNCIA NO CONTEXTO BRASILEIRO E MUNDIAL

Trabalho de Conclusão apresentado ao Curso de Pós-graduação em Microbiologia Aplicada da Universidade Federal de Minas Gerais como requisito à obtenção do título Especialista.

Orientadora: Profa. Dra. Giliane de Souza Trindade
Coorientadora: Poliana de Oliveira Figueiredo

Belo Horizonte
2017

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho aos meus pais por todo amor e apoio. E ao Igor por estar sempre ao meu lado.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus por estar sempre presente em minha vida e por ter me proporcionado saúde e força para concluir mais esta etapa.

À minha querida orientadora Giliane, por ter me aceito como aluna, por todo aprendizado, atenção, paciência e confiança.

À minha coorientadora Poliana, por todo carinho, aprendizado e incentivo.

Aos meus professores do Curso de Especialização em Microbiologia Aplicada, por todo aprendizado e dedicação.

Aos queridos amigos da pós, pela amizade e por fazerem minhas sextas e sábados mais alegres.

Aos meus pais, Angela e Ronaldo, por sempre lutarem e sonharem comigo, por todo amor e por não pouparem esforços para me apoiar em todos os momentos da minha vida.

Ao meu namorado Igor, por todo amor, por sempre me apoiar e estar ao meu lado e por todos os sorrisos.

À minha família por todo apoio e compreensão.

E a todos que de alguma forma puderam contribuir para a realização desse trabalho.

Muito obrigada!

EPÍGRAFE

“A verdadeira medida de um homem não é como ele se comporta em momentos de conforto e conveniência, mas como ele se mantém em tempos de controvérsia e desafio.”

– Martin Luther King

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS	II
LISTA DE TABELAS	III
LISTA DE GRÁFICOS	IV
LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS	V
RESUMO.....	VII
ABSTRACT.....	VIII
I. INTRODUÇÃO	1
II. OBJETIVOS.....	3
III. MATERIAL E MÉTODOS	4
IV. REVISÃO DE LITERATURA	5
4.1 Classificação e nomenclatura	5
4.1.1 <i>Família Orthomyxoviridae</i>	5
4.2 Histórico	7
4.3. Espectro de Hospedeiros	9
4.4 Influenza A	12
4.4.1 <i>Caracterização Geral</i>	12
4.4.2 <i>Glicoproteínas HA e NA</i>	14
4.4.3 <i>Variações antigênicas - Antigenic Drift e Antigenic Shift</i>	16
4.4.4 <i>Ciclo de multiplicação viral e replicação</i>	17
4.5 Transmissão.....	20
4.6 Patogênese e aspectos clínicos.....	21
4.7 Epidemiologia.....	24
4.7.1 <i>Pandemias e panorama atual</i>	24
4.7.2 <i>Epidemiologia no Brasil</i>	29
4.8 Tratamento.....	34
4.9 Vacinação e Prevenção	39
4.10 Diagnóstico Laboratorial	42
V. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	46
REFERÊNCIAS.....	47

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Relação filogenética entre membros da Família <i>Orthomyxoviridae</i>	5
Figura 2: Estrutura do genoma de vírus <i>Influenza A</i>	6
Figura 3: Linha do tempo das pandemias causadas pelo vírus <i>Influenza A</i> do século XX até a primeira do século XXI.....	8
Figura 4: Espectro de hospedeiros do vírus <i>Influenza A</i>	10
Figura 5: Subtipos de hemaglutinina e seus hospedeiros característicos.....	11
Figura 6: Microscopia eletrônica do vírus <i>Influenza A</i>	12
Figura 7: Morfologia e genoma do vírus <i>Influenza A</i>	13
Figura 8: Hemaglutinina como fator de patogenicidade em aves domésticas.....	15
Figura 9: Representação esquemática do processo de antigenic Shift e formação de <i>Influenza A</i> pandêmicos.....	17
Figura 10: Ciclo de multiplicação do IAV.....	19
Figura 11: Principais sintomas e complicações relacionadas a infecção causada pelo vírus <i>Influenza A</i>	23
Figura 12: Linha do tempo demonstrando as pandemias mais importantes da história e os vírus envolvidos.....	25
Figura 13: Representação da origem do vírus <i>Influenza A</i> agente etiológico da pandemia de 2009.	28
Figura 14: Distribuição espacial dos casos e óbitos por Síndrome Respiratória Aguda Grave confirmados para influenza no Brasil durante a 1ª até 48ª Semana Epidemiológica de 2016.....	32
Figura 15: Distribuição dos casos e óbitos por SRAG confirmados para influenza por município de Minas Gerais, 2016 até a Semana Epidemiológica 46.....	34
Figura 16: Estruturas moleculares dos principais compostos antivirais contra o vírus <i>Influenza A</i>	35
Figura 17: Mecanismo de ação dos inibidores de neuraminidase.....	36
Figura 18: Ciclo de multiplicação do vírus <i>Influenza A</i> e os fármacos utilizados para tratamento.....	38
Figura 19: Tipos de vacinas inativadas contra <i>Influenza A</i>	40
Figura 20: Fluxograma das etapas de diagnóstico laboratorial necessárias para a identificação correta do vírus <i>Influenza A</i> e outros vírus respiratórios.....	45

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Óbitos por SRAG causados por Influenza A/H1N1 2009 por regiões brasileiras. Brasil, SE 16/2009 a SE 52/2011.....	31
Tabela 2: Posologia e administração de Tamiflu® e Relenza®.....	35

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1: Circulação global dos vírus <i>Influenza</i> durante o ano de 2016.....	29
Gráfico 2: Número de casos de vírus respiratórios identificados no Brasil da 1ª a 48ª semana epidemiológica de 2016.....	32
Gráfico 3: Número de casos de vírus respiratórios identificados em Minas Gerais, da 1ª a 46ª semana epidemiológica de 2016.....	33

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

CDC – Centro de Controle e Prevenção de Doenças (*Centers for Disease Control and Prevention*)

DHOV - *Dhori virus*

ELISA – Ensaio imunoenzimático (*Enzyme Linked Immuno sorbent Assay*)

FDA - Food and Drug Administration

Fiocruz - Fundação Oswaldo Cruz

HA - Hemaglutinina

HPAI - Vírus da influenza aviária de alta patogenicidade

IAV –*Influenza A virus*

ICB - Instituto de Ciências Biológicas

ICTV – Comitê internacional em Taxonomia de Vírus

IFI - Teste de imunofluorescência indireta

IgA – Imunoglobulina A

IIVs – Vacinas de influenza inativadas

ISAV – Vírus da anemia infecciosa do salmão

JAV- *Johnston Atoll virus*

LACEN - Laboratórios Centrais de Saúde Pública

LAIVs - Vacinas vivas atenuadas de influenza

LLC MK2- células do rim de macaco rhesus

LP AI - Vírus da influenza aviária de baixa patogenicidade

MDCK - Células Madin-Darby de rim de cão

NA - Neuraminidase

NP- Nucleoproteína

OMS – Organização Mundial da Saúde

QIV – Vacinas de influenza quadrivalentes

QRFV - *Quaranfil virus*

RNA – Ácido Ribonucléico

RNP - Complexo ribonucleoproteico

RNP - Ribonucleoproteínas virais

RT- PCR – Reação em cadeia da polimerase por transcriptase reversa

SE – Semana Epidemiológica

SG - Síndrome gripal

SLN - Sinal de localização nuclear

SNC – Sistema Nervoso Central

SNF - Secreções de Nasofaringe

SRAG - Síndrome respiratória aguda grave

ssRNA - RNA fita-simples de sentido negativo

SUS – Sistema Único de Saúde

THOV - *Thogoto virus*

UFMG - Universidade Federal de Minas Gerais

UTI - Unidade de terapia intensiva

vRNA – RNA viral

RESUMO

O vírus *Influenza A* pertence à família *Orthomyxoviridae*, e é o patógeno responsável pela influenza ou gripe, uma infecção altamente contagiosa. O vírus *Influenza A* está presente em todo o planeta e anualmente é responsável por causar epidemias sazonais de gripe. Uma característica marcante do vírus *Influenza A* é a sua capacidade de infectar e se replicar em vários hospedeiros animais, e não só na espécie humana. O vírus é extremamente variável, sofre mutações e rearranjos gênicos com frequência. As glicoproteínas de superfície da partícula viral diferenciam os subtipos virais dos vírus *Influenza A* e desempenham um importante papel na infecção e replicação desses vírus. A transmissão desse patógeno mostra-se bastante simples, principalmente por meio da inalação de aerossóis e por gotículas secretadas por meio de tosse e espirros de indivíduos infectados. Quando ocorre a introdução de um novo vírus na população humana, esse pode ser responsável por desencadear pandemias ao redor do globo, desencadeando impactos na economia mundial e altas taxas de mortalidade e morbidade. Atualmente, vacinas produzidas através de diferentes técnicas estão disponíveis para a prevenção da enfermidade, além do uso dos antivirais. A realização de um diagnóstico rápido e preciso é fundamental para o controle da doença e para evitar casos de síndrome respiratória aguda grave que pode desencadear várias complicações. O presente trabalho teve como objetivo realizar uma revisão de literatura sobre esse vírus de grande importância no contexto mundial.

Palavras-chave: *Influenza A*, Pandemias, Gripe.

ABSTRACT

Influenza A virus belongs to the family *Orthomyxoviridae*, and is the pathogen responsible for influenza or flu, a highly contagious infection. The *Influenza A* virus is present all over the planet and annually is responsible for causing seasonal epidemics. A typical feature of *Influenza A* virus is related to its ability to infect and replicate in several animal hosts, not just the human species. The virus is extremely variable, and it often undergoes gene mutations and rearrangements. The surface glycoproteins of the viral particle differentiate the viral subtypes of *Influenza A* viruses and play an important role in the infection and replication of these viruses. The transmission of this pathogen is quite simple, mainly through inhalation of aerosols and droplets secreted by coughing and sneezing from infected individuals. When the introduction of a new virus occurs in the human population, it can be responsible for triggering pandemics around the globe, causing impacts on the world economy and high rates of mortality and morbidity. Currently, vaccines produced through different techniques are available for the prevention of the disease, in addition to the use of antivirals. Performing a rapid and accurate diagnosis is critical to disease control and to avoid cases of severe acute respiratory syndrome that can induce various complications. The present work had the objective of reviewing the literature about this virus of great importance in the world context.

keywords: *Influenza A*, Pandemics, The Flu.

I. INTRODUÇÃO

O vírus *Influenza A* (IAV) é um importante patógeno humano, responsável por infecções no trato respiratório. O IAV apresenta prevalência mundial e a incidência anual de epidemias causadas por esse vírus na população humana resulta em aproximadamente 3 a 5 milhões de casos de doença grave e um número estimado de 250.000 a 500.000 óbitos (CDC, 2016; WHO, 2016).

A gripe é um problema de saúde pública e caracteriza-se por uma infecção respiratória aguda altamente contagiosa que ocorre periodicamente e afeta indivíduos de qualquer idade, causando impactos sociais e econômicos em todo o mundo. Os vírus *Influenza A* são extremamente variáveis e apresentam uma ampla diversidade genética que pode ser explicada pela natureza de seu genoma de RNA que é associado a altas taxas mutacionais, pela estrutura segmentada de seu genoma, a qual facilita nos processos de rearranjo gênico e também por apresentarem amplo espectro de hospedeiros. A compreensão do IAV como vírus zoonótico mudou a forma de encarar a infecção e atualmente o monitoramento da influenza abrange tanto o controle da infecção em seus hospedeiros animais quanto na espécie humana (JERNIGAN *et al.*, 2013; SHAW e PALESE, 2013; WHO, 2016).

Eventualmente, pode ocorrer a transmissão interespecie e novos IAV são introduzidos na população humana, e se a transmissão eficiente entre humanos for sustentada uma pandemia pode surgir desencadeando altas taxas de infecção e mortalidade. Do mesmo modo, os surtos de *Influenza A* aviária altamente patogênica (HPAI) observados nas criações de aves domésticas e com transmissão esporádica para o homem também são motivo de preocupação e monitoramento global, uma vez que a infecção por estes tem se demonstrado severa e cada vez mais fatal (HORIMOTO e KAWAOKA, 2005; KALTHOFF *et al.*, 2010; KUIKEN *et al.*, 2012).

Diante deste cenário a forma mais efetiva de prevenção contra a infecção por influenza é a vacinação, onde a cada ano a composição da vacina é recomendada pela Organização Mundial da Saúde. Medicamentos antivirais também estão disponíveis para tratamento da infecção por IAV, porém a resistência antiviral é continuamente documentada (VAN DER VRIES *et al.*, 2013; WHO, 2016).

Os IAV são um verdadeiro desafio em termos de controle, seja pela alta taxa de mutação ou pela fácil transmissibilidade. Acrescenta-se ainda a variedade de subtipos virais que podem induzir tanto infecções leves e subclínicas nas vias áreas

superiores, quanto infecções letais do trato respiratório inferior e inúmeras complicações causadas por linhagens mais virulentas. Atualmente, a vigilância global da influenza além de garantir informações precisas sobre os vírus circulantes, também contribui para a compreensão da biologia desse vírus o que é fundamental para o desenvolvimento de medidas rápidas e eficazes para controle da influenza sazonal e pandêmica (KUIKEN *et al.*, 2012; BROOKS *et al.*, 2014; WHO, 2016).

II. OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Realizar uma revisão bibliográfica acerca do vírus *Influenza A*, abordando aspectos relacionados à biologia do vírus, ciclo de multiplicação, epidemiologia, tratamento e diagnóstico.

III. MATERIAL E MÉTODOS

Esta monografia é descritiva, e foi realizada baseando-se em pesquisa exploratória de bibliografia. A revisão da literatura utilizou como metodologia de composição o acesso à literatura corrente nas bases: *Pubmed*, *Scientific Electronic Library Online* (SCIELO), Portal de Periódicos da CAPES, BIREME/BVS, *Web of Science*. Do mesmo modo, foram realizadas buscas em portais de referência mundial para a saúde como a Organização Mundial de Saúde (OMS), o *Centers for Disease Control and Prevention* (CDC), e também o Portal Nacional do Ministério da Saúde.

A revisão foi realizada de forma criteriosa, visando selecionar artigos atuais de revistas conhecidas e artigos mais antigos que são referência para o conhecimento científico acerca do tema influenza.

As principais palavras chaves utilizadas para a busca foram: influenza, *Influenza A*, *influenza review*, *avian influenza*, *seasonal influenza*, *pandemic influenza*, *global influenza surveillance* e influenza no Brasil.

IV. REVISÃO DE LITERATURA

4.1 Classificação e nomenclatura

4.1.1 Família *Orthomyxoviridae*

Os *Influenza virus* pertencem a família *Orthomyxoviridae* (Orthos: original, verdadeiro; myxa:muco) a qual é composta por seis gêneros *Influenzavirus A*, *Influenzavirus B*, *Influenzavirus C*, *Isavirus*, *Quarantavirus* e *Thogotovirus* (Figura 1) (ICTV, 2015).

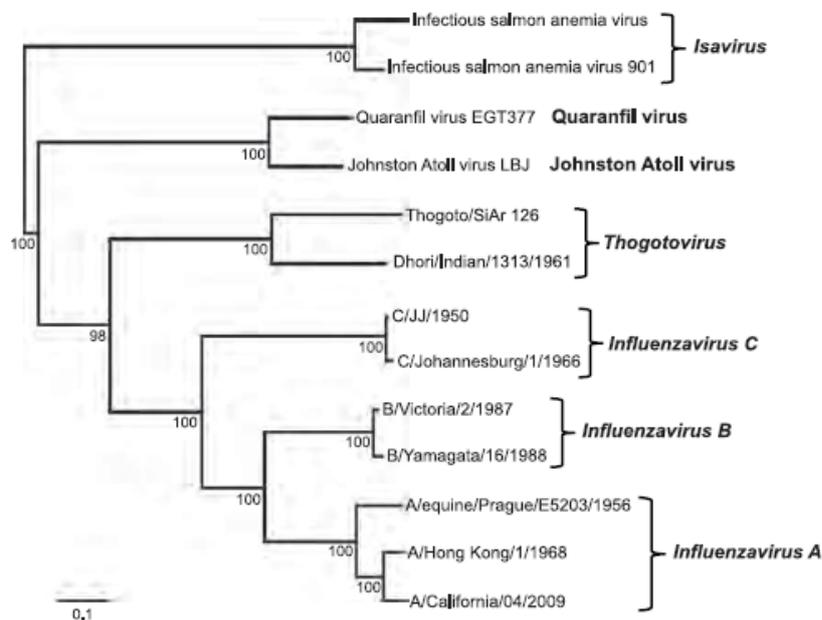


Figura 1: Relação filogenética entre membros da Família *Orthomyxoviridae* (SHAW e PALESE, 2013).

A família *Orthomyxoviridae* é composta por vírus que apresentam genoma de RNA fita-simples, segmentado e de sentido negativo. Os gêneros englobados nesta família demonstram diferenças quanto a gama de hospedeiros e patogenicidade, sugerindo que tenham divergido evolutivamente há milhares de anos (TAUBENBERGER e KASH, 2010; SHAW e PALESE, 2013; SANTOS *et al.*, 2015).

Os gêneros *Influenzavirus* compreendem os vírus *Influenza* (IV) que são importantes patógenos humanos e apresentam sensibilidade ao calor, à solventes lipídicos e ao pH ácido. Os gêneros *Influenzavirus A* e *Influenzavirus B* possuem uma estrutura semelhante e genoma constituído por 8 segmentos de RNA fita simples

(Figura 2), enquanto o *Influenzavirus C* apresenta genoma composto por 7 segmentos de RNA fita simples e é mais divergente. Com base na composição do genoma e devido à presença de diferenças antigênicas na nucleoproteína (NP) e na proteína de matriz (M1) os vírus *Influenza* podem ser classificados em tipos A, B ou C (HORIMOTO e KAWAOKA, 2005; TAUBENBERGER e KASH, 2010; SANTOS *et al.*, 2015).

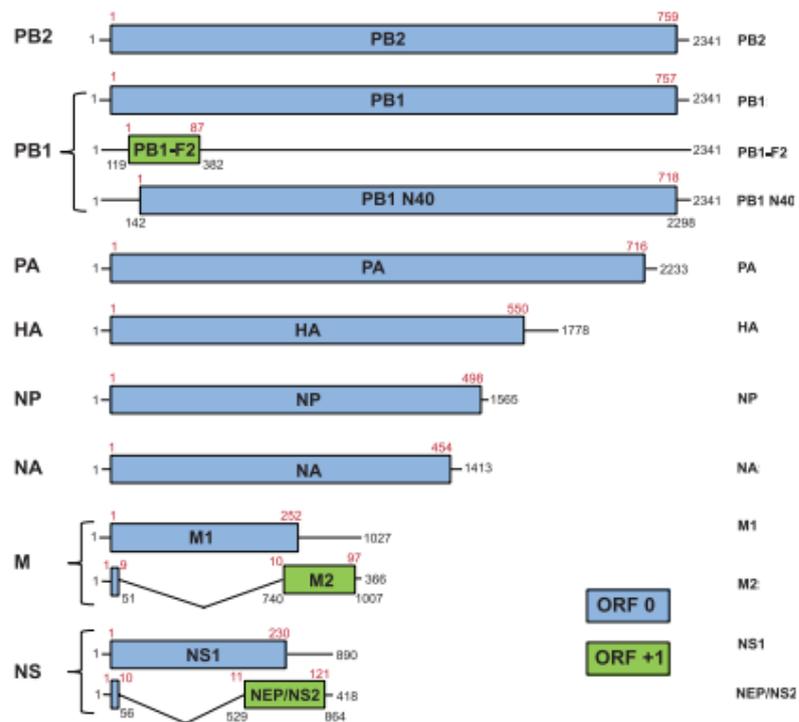


Figura 2: Estrutura do genoma de vírus *Influenza A*. Genoma constituído de 8 segmentos de RNA sentido negativo e as proteínas codificadas por cada segmento. Destaque para as proteínas hemaglutinina (HA) e neuraminidase (NA) que estão presentes na superfície viral e determinam o subtipo dos vírus *Influenza A* (SHAW e PALESE, 2013).

Nos três gêneros *Influenzavirus* é descrita a ocorrência de rearranjo genético, contudo nunca foi relatado o rearranjo entre membros de gêneros distintos. O gênero *Influenzavirus A* apresenta eventos constantes de alterações antigênicas, enquanto no gênero *Influenzavirus B* a frequência é reduzida, e por fim o gênero *Influenzavirus C* aparenta ser antigenicamente estável (SHAW e PALESE, 2013; BROOKS *et al.*, 2014).

Segundo Taubenberger e Kash (2010), somente os vírus *Influenza A* (IAV) constituem um risco significativo para ocasionar infecções zoonóticas, a capacidade de alterar a especificidade de hospedeiros (*host switch*) e ser transmitido entre estes, além de poderem desencadear pandemias.

A nomenclatura utilizada para identificar os vírus *Influenza* isolados deve seguir o seguinte padrão: espécie do vírus (A,B,C), hospedeiro de origem (omitido para humanos), origem geográfica, número da linhagem e ano de isolamento. Caso o isolado seja vírus da *Influenza A*, devem constar entre parênteses os subtipos antigênicos das glicoproteínas hemaglutinina (HA) e neuraminidase (NA). Exemplo: A/ Hong Kong/1/68 (H3N2) (SHAW e PALESE, 2013; BROOKS *et al.*, 2014).

Os vírus pertencentes aos gêneros *Isavirus*, *Quarantivirus* e *Thogotovirus* não são relacionados a infecções respiratórias. As espécies compreendidas no gênero *Thogotovirus* são *Dhori virus* (DHOV) e *Thogoto virus* (THOV), as quais estão relacionadas à meningite e meningoencefalite em humanos, o genoma dos *Thogotovirus* compreende seis segmentos de RNA fita-simples e polaridade negativa, apresentando capacidade de codificação de sete proteínas (SHAW e PALESE, 2013; SANTOS *et al.*, 2015).

O gênero *Isavirus* é composto apenas por uma espécie, o vírus da anemia infecciosa do salmão (ISAV), o qual apresenta genoma de oito segmentos de RNA fita-simples e polaridade negativa. O gênero *Quarantivirus* compreende o vírus *Johnston Atoll* (JAV) e o *Quarantivirus* (*QRFV*) (SHAW e PALESE, 2013; SANTOS *et al.*, 2015).

4.2 Histórico

Os vírus *Influenza* estão entre as causas mais comuns de doenças respiratórias em humanos, ocasionando significativas taxa de morbidade e mortalidade desde épocas antigas. Poucos são os relatos de pandemias de gripe na literatura antiga. Porém, acredita-se que Hipócrates, médico e filósofo grego, tenha registrado o primeiro relato científico da infecção, descrevendo uma doença respiratória aguda que se propagou pelo exército ateniense e logo depois desapareceu (POTTER, 2001; TAUBENBERGER e MORENS, 2009; SANTOS *et al.*, 2015).

O termo *Influenza* tem origem na Itália durante a Idade Média, quando na região de Florença foi utilizado para descrever sinais clínicos de tosse, febre e calafrios que

estariam relacionados à “influência” (em italiano= influenza) dos astros sobre o indivíduo (SANTOS *et al.*, 2015).

De acordo com a literatura, a primeira pandemia oficial de gripe ocorreu no ano de 1580. Essa pandemia teve origem no continente Asiático se estendeu para a África e Europa e posteriormente para a América. Porém, o vírus foi isolado pela primeira vez somente no ano de 1930, sendo classificado como vírus *Influenza A*. No ano de 1940 foi descoberto o vírus *Influenza B* e em 1950 foi isolado o vírus *Influenza C* (PYLE, 1986; POTTER, 2001; SANTOS *et al.*, 2015).

Segundo Taubenberger e Morens (2009), nos últimos 500 anos os vírus *Influenza A* foram responsáveis por causar aproximadamente 14 pandemias, sendo que nos últimos 120 anos ocorreram pandemias nos anos de 1889, 1918, 1957, 1968, 1977 e 2009 (Figura 3). As pandemias decorrem da ocorrência de novos subtipos antigênicos dos vírus *Influenza A*, sendo que as pandemias do século passado foram causadas por apenas três subtipos: H1N1, H2N2 e H3N2 (WEBSTER e GOVORKOVA, 2014).

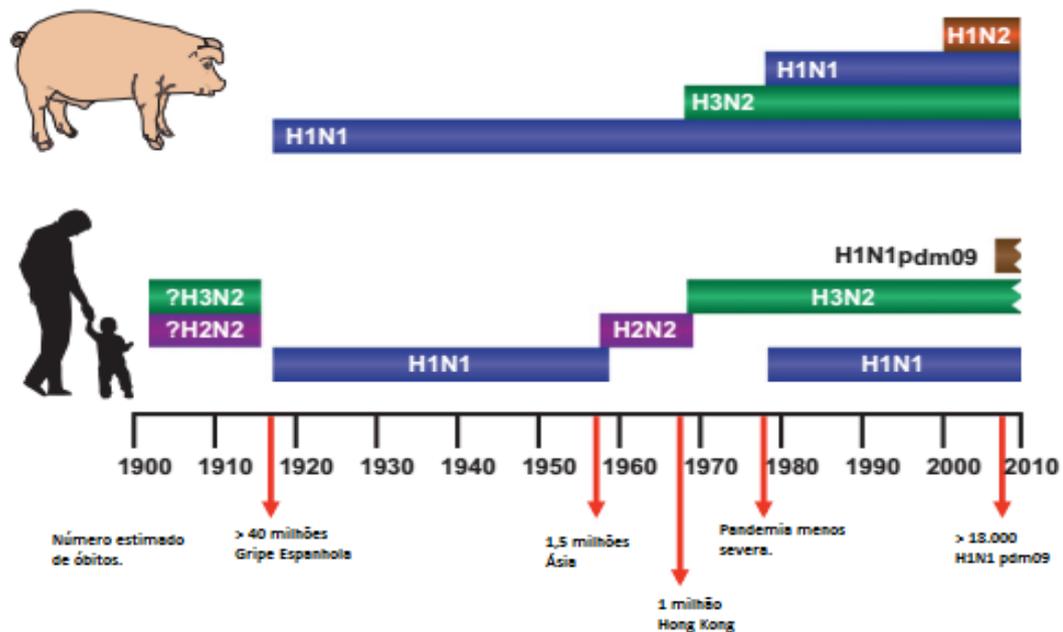


Figura 3: Linha do tempo das pandemias causadas pelo vírus *Influenza A* do século XX até a primeira do século XXI. São demonstrados os agentes etiológicos das principais pandemias do período (Adaptado de WEBSTER e GOVORKOVA, 2014).

A pandemia de 1918-1919 conhecida como “gripe espanhola” foi um dos eventos mais marcantes da história, causando um número estimado de 20-50 milhões

de óbitos em todo o mundo e o vírus causador foi o H1N1 de origem aviária (TAUBENBERGER *et al.*, 2005; WHO, 2014).

Em 1957 ocorreu a gripe asiática, que teve como agente etiológico o H2N2. Em 1968 ocorreu a gripe de Hong Kong, causada pelo vírus H3N2, e no ano de 1977 surgiu a gripe Russa, ocasionada pelo vírus H1N1. Estas pandemias não foram tão graves quanto a de 1918, no entanto ainda ocasionaram milhares de mortes com grande número de indivíduos susceptíveis à infecção (TAUBENBERGER e KASH, 2010; WHO, 2014).

No continente asiático, em 1997 foi registrado o primeiro caso de transmissão de um vírus Influenza aviária de alta patogenicidade (HPAI – *Highly pathogenic avian influenza*) para humanos, o vírus H5N1. Também na região asiática nos anos de 2003 e 2004 foram registrados surtos com casos graves e de elevada letalidade do H5N1 em seres humanos (ZAMBON, 2014).

A primeira pandemia de influenza do século XXI ocorreu em 2009, e foi causada pelo vírus *Influenza A* do subtipo H1N1. A infecção causada por esse vírus foi considerada de gravidade moderada e agora está estabelecida como uma gripe sazonal (WHO, 2014; ZAMBON, 2014).

4.3. Espectro de Hospedeiros

Considerando os três gêneros *Influenzavirus*, o gênero *Influenzavirus A* compreende linhagens humanas e animais, enquanto os gêneros *Influenzavirus B* e *C* apresentam diversidade genética limitada. Sendo assim, os vírus pertencentes ao gênero *Influenzavirus A* sustentam a transmissão em seres humanos, e são descritas transmissões ocasionais de vírus *Influenza B* em focas, e de vírus *Influenza C* em suínos (BROOKS *et al.*, 2014; ZAMBON, 2014).

O vírus *Influenza A* é o mais variável do ponto de vista genético, e apresenta-se como o principal agente zoonótico responsável por epidemias e pandemias de influenza no mundo. Os hospedeiros naturais dos IAVs são as aves aquáticas selvagens e os morcegos, nos quais não há desenvolvimento de doença, esta característica evolutiva demonstra um elevado grau de adaptação entre ambos. Contudo os IAVs apresentam uma ampla variedade de hospedeiros, já foram isolados de diversos animais como: aves, porcos, cavalos, cachorros, mamíferos aquáticos e

seres humanos (Figura 4) (TONG *et al.*, 2012; SHAW e PALESE, 2013; OZAWA e KAWAOKA, 2013; WEBSTER e GOVORKOVA, 2014; ZAMBON, 2014).

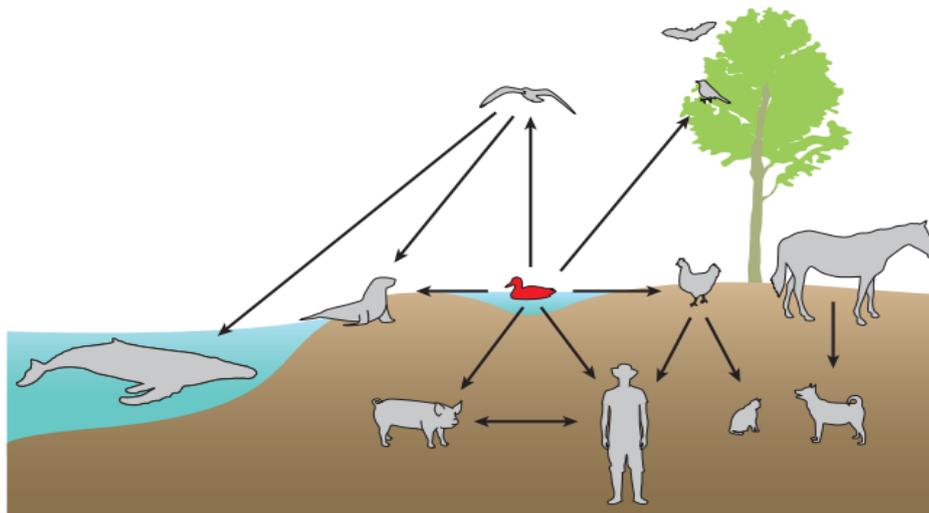


Figura 4: Espectro de hospedeiros do vírus *Influenza A*. As aves aquáticas selvagens (em vermelho) são conhecidas como reservatório natural do vírus *Influenza A*. Além das aves, vírus de determinados subtipos circulam em várias espécies animais. As setas representam as rotas de transmissão conhecidas entre as espécies de hospedeiros (OZAWA e KAWAOKA, 2013).

Somente os vírus *Influenza A* possuem subtipos, que são diferenciados de acordo com as proteínas de superfície hemaglutinina (HA) e neuraminidase (NA). São descritos 18 subtipos de HA e 11 subtipos de NA na natureza (Figura 5), 16 subtipos de HA e nove de NA circulam entre as aves aquáticas, e dois subtipos de HA e NA foram isolados de morcegos. Os IAVs isolados de mamíferos e de seres humanos evoluíram de forma direta ou indireta dos vírus encontrados nas aves aquáticas selvagens (RUSSELL *et al.*, 2008; BROOKS *et al.*, 2014; YOON *et al.*, 2014).

De acordo com Ozawa e Kawaoka, (2013), os vírus *Influenza A* aviários são agrupados em duas categorias os vírus da influenza aviária de alta patogenicidade (HPAI) e os vírus da influenza aviária de baixa patogenicidade (LPAI). Dois subtipos H5 e H7 de HA apresentam-se como não patogênicos nas aves aquáticas selvagens, porém quando transmitidos para as galinhas domésticas esses são capazes de evoluir de LPAI para linhagens de HPAI, causando doença e morte. A taxa de mortalidade por HPAI em galinhas e aves domésticas infectadas chega a 100% e à 60% quando esses vírus são transmitidos aos seres humanos (FORREST e WEBSTER, 2010; YOON *et al.*, 2014).

H1				
H2				
H3				
H4				
H5				
H6				
H7				
H8				
H9				
H10				
H11				
H12				
H13				
H14				
H15				
H16				
H17				
H18				

Figura 5: Subtipos de hemaglutinina e seus hospedeiros característicos. São demonstrados os 18 subtipos de HÁ. Figuras abertas representam os hospedeiros onde linhagens estáveis são estabelecidas, figuras preenchidas indicam hospedeiros onde pode ocorrer transmissão inter-espécies esporádicas, mas não consistentes e figuras coloridas exemplificam subtipos de influenza responsáveis por epidemias ou pandemias (WEBSTER e GOVORKOVA, 2014).

Ainda com relação aos vírus *Influenza A* aviários, é considerável destacar que diferenças ecológicas como localização geográfica, padrões de migração e até distintos comportamentos de alimentação entre as aves são fatores que alteram a transmissão e a ecobiologia complexa desses vírus em aves (TAUBENBERGUER e KASH, 2010).

Os vírus *Influenza A* causam infecção em vários de seus hospedeiros animais, todavia merecem destaque as infecções causadas em suínos, equinos e nas aves, as quais circulam em todo o planeta e demonstram potencial risco para surtos de zoonoses e grande impacto econômico. Quando os vírus *Influenza A* acometem aves domésticas, porcos e seres humanos os subtipos podem causar doenças classificadas como médias ou catastróficas. (FORREST e WEBSTER, 2010; OZAWA e KAWAOKA, 2013).

A maioria dos subtipos de vírus *Influenza* possuem limitada especificidade de hospedeiros, no entanto podem ser encontrados alguns subtipos menos específicos que circulam em mais de uma espécie, como exemplo os vírus H1N1 e H3N2 que são endêmicos em aves, suínos e seres humanos (MEDINA e GARCÍA-SASTRE, 2011).

As altas taxas de mutação e a presença de genoma RNA segmentado são características que permitem aos IAVs transpor a barreira de transmissão entre espécies, se adaptarem a novos hospedeiros e gerarem novas variantes patogênicas. Inúmeros fatores são responsáveis por alterar a gravidade e a disseminação da influenza no globo, podem ser citados o subtipo viral, os hospedeiros naturais e adquiridos e as características do hospedeiro, além de fatores ambientais e antrópicos (OZAWA e KAWAOKA, 2013; SOORYANARAIN e ELANKUMARAN, 2015).

4.4 Influenza A

4.4.1 Caracterização Geral

Os vírus *Influenza A* pertencentes à família *Orthomyxoviridae*, são vírus envelopados que apresentam genoma composto de 8 segmentos de RNA fita-simples de sentido negativo (ssRNA), o tamanho molecular desses segmentos varia de 890 a 2.340 bases (IWASAKI e PILLAI, 2014; MURRAY *et al.*, 2014).

Os vírions IAV são pleomórficos, apresentando aspecto esférico ou tubular, o diâmetro das partículas esféricas fica em torno de 100 nm enquanto as filamentosas podem chegar a 300 nm (Figura 6). O capsídeo proteico apresenta simetria helicoidal e a membrana do envelope é derivada da célula do hospedeiro (SHAW e PALESE, 2013; TAUBENBERGUER e KASH, 2010; SANTOS *et al.*, 2015).

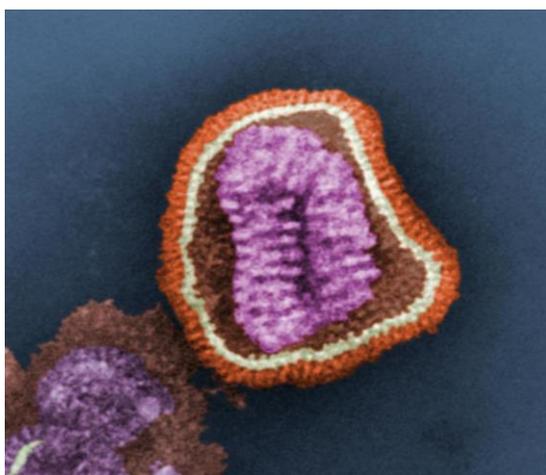


Figura 6: Microscopia eletrônica do vírus *Influenza A* (MURRAY *et al.*, 2014).

O envelope contém as glicoproteínas hemaglutinina (HA) e neuraminidase (NA) e a proteína de membrana M2. Logo abaixo encontra-se a proteína mais abundante

do vírion, a proteína da matriz M1, a qual interage com o citoplasma e o complexo ribonucleoproteico (RNP) (SUBBARAO e JOSEPH, 2007; TAUBENBERGUER e KASH, 2010).

As glicoproteínas HA e NA presentes na superfície da partícula viral apresentam-se em forma de espículas com aproximadamente 10 nm de comprimento, estas são as glicoproteínas mais reconhecidas pelos anticorpos e são responsáveis por determinar os subtipos virais (BROOKS *et al.*, 2014; IWASAKI e PILLAI, 2014).

O genoma composto de 8 segmentos codifica em torno de 10-12 proteínas, são produtos gênicos desses segmentos as proteínas HA, NA, a nucleoproteína (NP), as proteínas não estruturais NS₁ e NS₂, as proteínas M₁ (proteína da matriz) e M₂ (proteína de membrana) e os componentes da RNA polimerase: PB1, PB2 e PA. A maioria das proteínas virais são codificadas em segmentos separados, são exceções as proteínas NS₁ e NS₂ (não estruturais) e as proteínas M₁ e M₂ que são transcritas nos segmentos NS e M respectivamente (FUKUYAMA e KAWAOKA, 2011; MURRAY *et al.*, 2014; MATSUOKA *et al.*, 2013).

Cada segmento de RNA é encapsidado pela nucleoproteína (NP) e está associado aos componentes da RNA polimerase (PB1, PB2 e PA) formando o complexo ribonucleoproteico (RNP), o qual é responsável pela replicação viral (Figura 7) (TAUBENBERGUER e KASH, 2010).

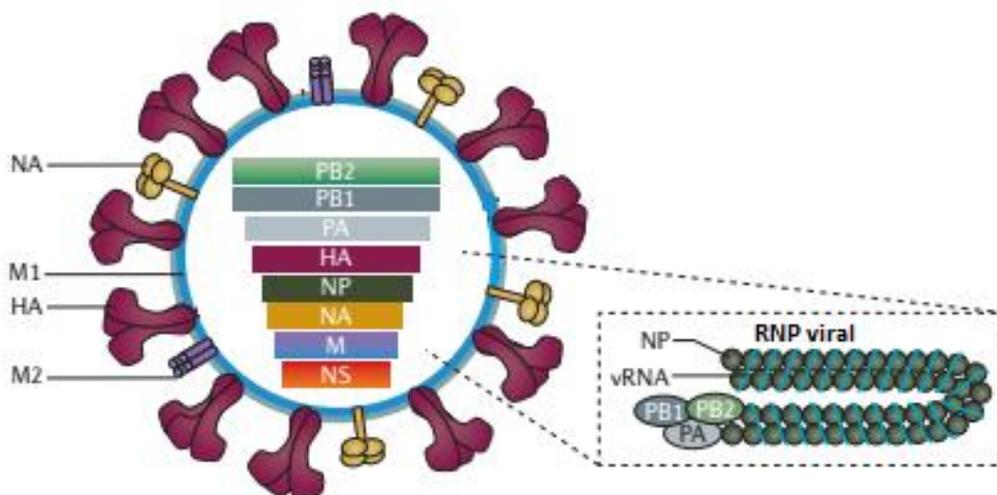


Figura 7: Morfologia e genoma do vírus *Influenza A* (Adaptado de MEDINA e GARCIA-SASTRE, 2011).

4.4.2 Glicoproteínas HA e NA

Situada no envelope viral, a glicoproteína hemaglutinina (HA) é responsável pela ligação do vírion às células do hospedeiro e apresenta essa designação devido à capacidade de aglutinar eritrócitos. É uma proteína trimérica composta por três dímeros HA1 e HA2 entrelaçados e essa conformação proporciona mais estabilidade a molécula (GAYMARD *et al.*, 2016; BROOKS *et al.*, 2014).

A clivagem da HA em subunidades HA1 e HA2 é fator fundamental para que a partícula viral se torne infecciosa, essa clivagem é realizada por proteases celulares as quais são abundantes nas vias respiratórias. A extremidade HA2 é essencial para que ocorra a fusão do vírion com a membrana celular (BROOKS *et al.*, 2014).

A hemaglutinina, através do sítio de ligação da subunidade HA1, reconhece o ácido siálico (sialic acid, SA) presente na membrana das células hospedeiras. O ácido siálico é ligado a um resíduo de galactose (Gal) por ligação α - 2,3 ou α - 2,6, assim os vírus *Influenza A* apresentam especificidade distinta para esses receptores. Os vírus *Influenza A* adaptados às aves demonstram especificidade para o receptor de ácido siálico α - 2,3, enquanto os adaptados aos seres humanos para ácido siálico α - 2,6 (trato respiratório superior) (TAUBENBERGUER e KASH, 2010; SANTOS *et al.*, 2015).

Além de ser fator determinante para caracterizar os subtipos de vírus *Influenza A*, a HA exibe importância na patogenicidade viral. Os vírus *Influenza A* aviários conhecidos como LPAI (*low-pathogenic avian influenza*) que geralmente causam infecções assintomáticas possuem apenas uma única arginina no local de clivagem da HA e a clivagem por proteases ocorre apenas no trato respiratório. Já os vírus classificados como HPAI (*highly pathogenic avian influenza*) que causam infecções sistêmicas letais e podem provocar a morte de frangos em até 24 horas após a infecção apresentam múltiplos resíduos de aminoácidos básicos no local de clivagem da HA e essa pode ser clivada por proteases ubíquas distribuídas em várias células hospedeiras diferentes (Figura 8) (HORIMOTO e KAWAOKA, 2005).

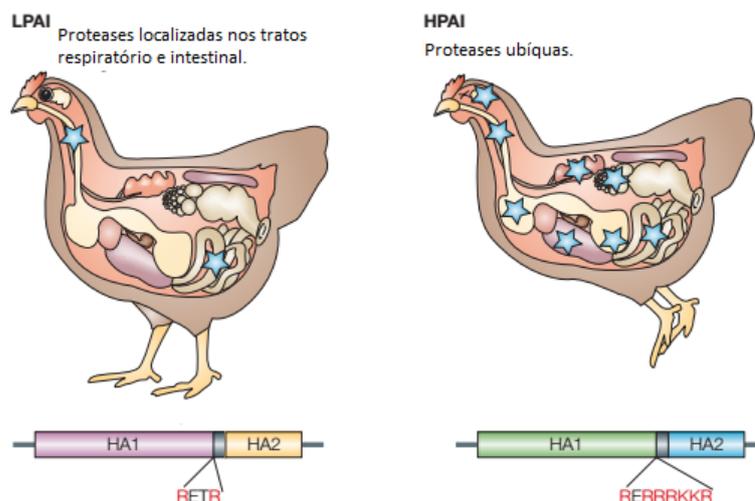


Figura 8: Hemaglutinina como fator de patogenicidade em aves domésticas.

As hemaglutininas de LPAI não possuem uma série de aminoácidos básicos (RETR) no sítio de clivagem da protease, enquanto os HPAI contêm múltiplos aminoácidos (RERRRKKR) no sítio de clivagem (Adaptado de HORIMOTO e KAWAOKA, 2005).

Assim, a clivagem de HA pode ser considerada como fator determinante no tropismo de vírus aviários por determinados tecidos e pode contribuir para o resultado de uma infecção. Todos os vírus HPAI pertencem aos subtipos H5 ou H7, porém o vírus H7N9 apresenta apenas uma arginina no local de clivagem da HA e foi responsável por causar infecções graves e morte em seres humanos, o que indica que essa característica não é a única relacionada a alta patogenicidade e que outros genes virais podem estar envolvidos (HORIMOTO e KAWAOKA, 1994; HORIMOTO e KAWAOKA, 2005; LIU *et al.*, 2013; GAO *et al.*, 2013).

A neuraminidase (NA), também encontrada na superfície da partícula viral é uma glicoproteína que forma um tetrâmero constituído de quatro monômeros idênticos e possui atividade enzimática. Além de ser importante na determinação do subtipo viral como a hemaglutinina, a NA facilita a liberação da progênie viral da célula infectada através da remoção do ácido siálico dos gliconjugados. A neuraminidase também impede a agregação das novas partículas virais à célula hospedeira removendo os resíduos de ácido siálico das glicoproteínas virais e auxilia no acesso dos vírus às células epiteliais pela degradação de mucinas no trato respiratório (NICHOLSON *et al.*, 2003; BROOKS *et al.*, 2014).

Tanto a HA como a NA são os principais alvos da resposta imune humoral contra os vírus *Influenza A*, porém a neuraminidase tem sido um alvo significativo para

a terapia antiviral, como exemplo os fármacos oseltamivir e zanamivir (TAUBENBERGUER e KASH, 2010; GAYMARD *et al.*, 2016).

4.4.3 Variações antigênicas - Antigenic Drift e Antigenic Shift

Os vírus *Influenza A*, são vírus evolutivamente dinâmicos e apresentam variações antigênicas significativas nas glicoproteínas HA e NA. A existência de altas taxas de mutação associadas com a elevada taxa de replicação pode acarretar na produção de novas variantes virais a cada ciclo e esse fator pode gerar vantagens para esses vírus como: o escape do sistema imune, a resistência a drogas e a rápida adaptação às alterações no ambiente (PLESCHKA, 2013; BROOKS *et al.*, 2014).

De acordo com Nicholson e colaboradores (2003), os aspectos epidemiológicos da infecção pelo vírus *Influenza A* nos seres humanos estão relacionados as variações antigênicas, denominadas *antigenic drift* (impulso antigênico) e *antigenic shift* (mudança antigênica).

O processo de *antigenic drift* ocorre de forma contínua devido ao acúmulo de mutações pontuais no genoma viral, as quais ocorrem durante o ciclo de replicação. Já que os vírus *Influenza A* não apresentam um mecanismo de revisão no seu complexo da polimerase as mutações pontuais não são reparadas e estas resultam em alterações dos aminoácidos nas proteínas sendo perceptíveis em todos os produtos de gene do vírus, porém se manifestando de forma mais evidente nos sítios de ligação de anticorpos nas glicoproteínas HA e/ou NA (FORREST e WEBSTER, 2010; BROOKS *et al.*, 2014)

A acumulação das mutações pontuais nas novas variantes virais faz com que essas ainda estejam relacionadas com as linhagens virais circulantes nas epidemias anteriores, e isso permite ao novo vírus a possibilidade de escapar da resposta imune do hospedeiro e assim ocasionar surtos repetidos em anos interpandêmicos (NICHOLSON *et al.*, 2003).

No processo de *antigenic shift* ocorrem grandes modificações no genoma viral e um novo subtipo de HA ou NA é introduzido na população humana a partir de outras espécies de hospedeiros (Figura 9). Esse processo pode ocorrer de duas formas: por rearranjo, quando vírus genotipicamente distintos de IAV infectam uma única célula e devido ao genoma segmentado sofrem rápido reagrupamento de seu material genético resultando em uma progênie contendo segmentos dos dois vírus parentais;

ou por transmissão direta do animal para o homem. O resultado é a geração de um novo vírus antígenicamente distinto dos circulantes anteriormente, com alto potencial pandêmico e altas taxas de infecção nas populações que não possuem anticorpos contra esse. São possíveis 256 (2^8) combinações dos oito segmentos virais de IAV durante uma co-infecção entre dois vírus distintos (MCHARDY e ADAMS, 2009; FORREST e WEBSTER, 2010; TAUBENBERGUER e KASH, 2010; WRIGHT; NEUMANN; KAWAOKA, 2013).

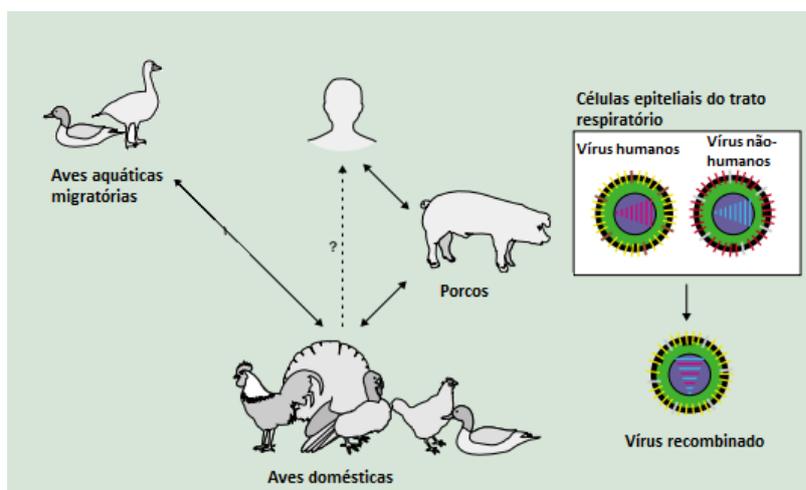


Figura 9: Representação esquemática do processo de *antigenic shift* e formação de *Influenza A* pandêmicos (Adaptado de NICHOLSON *et al.*, 2003).

4.4.4 Ciclo de multiplicação viral e replicação

O ciclo de replicação do vírus *Influenza A* inicia-se a partir da ligação da subunidade HA₁ da glicoproteína HA a receptores de ácido siálico presentes na superfície da célula hospedeira. Após a ligação inicial, ocorre o processo de penetração por endocitose via clatrina, onde a partícula viral é internalizada em endossomas (SHAW e PALESE, 2013; BROOKS *et al.*, 2014).

A próxima etapa é a fusão entre a partícula viral e a membrana do endossoma. Esse estágio requer um pH baixo (pH 5 – 6) que é fator fundamental para induzir a alteração estrutural da proteína HA e expor o peptídeo fusão HA₂. Através desse peptídeo de fusão o envelope viral e a membrana do endossoma entram em contato e ocorre a fusão dessas membranas com consequente formação de um poro e liberação das ribonucleoproteínas virais (RNP's) no citoplasma. O ambiente ácido do

endossoma além de ser fator necessário para a infecciosidade do vírus *Influenza A*, também está relacionado com a abertura do canal iônico M₂. A proteína viral M₂ é responsável por permitir a entrada de íons H⁺ para o endossoma, contribuindo para a fusão e possibilitando a dissociação da proteína da matriz M₁ do genoma viral (SHAW e PALESE, 2013; BROOKS *et al.*, 2014; EISFELD *et al.*, 2014).

A transcrição do vírus *Influenza A* ocorre no núcleo celular, portanto uma vez no citoplasma as RNP's virais são conduzidas para o núcleo por meio de um processo ativo denominado sinal de localização nuclear (SLN). O complexo ribonucleoprotéico é composto pelos segmentos do genoma associados às proteínas virais NP, PA, PB1 e PB2, e todas essas proteínas possuem sinais de localização nuclear que permitem a sua importação para o núcleo celular (SAMJI, 2009; SHAW e PALESE, 2013; SANTOS *et al.*, 2015).

No núcleo o complexo da polimerase viral (PB1, PB2 e PA) replica os segmentos do genoma viral de sentido negativo para RNAs complementares positivos (cRNA) e esses vão servir de modelo para a síntese de novos RNAs virais. A polimerase viral também é responsável pela transcrição dos segmentos gênicos de RNA viral sentido negativo (vRNA) em mRNA. A ação da polimerase viral é orientada a partir das terminações 5' metiladas e revestidas derivadas de transcrições celulares anteriores realizadas pela RNA-polimerase II celular (SHAW e PALESE, 2013; BROOKS *et al.*, 2014; TE VELTHUIS e FODOR, 2016).

Posteriormente, o mRNA é transportado para o citoplasma pela ação de exportinas para a tradução em proteínas pelos ribossomos celulares. As proteínas virais recém traduzidas são transportadas para o núcleo (proteínas PB1, PB2, PA, NP, M1 e NEP) ou para a membrana plasmática (HA, NA e M2). As proteínas HA e NA são sintetizadas no retículo endoplasmático sendo organizadas em trímeros e tetrâmeros, e só depois são transportadas pelo complexo de Golgi e incorporadas a membrana plasmática. Após a entrada das proteínas recém-sintetizadas no núcleo ocorre a replicação do genoma. Acredita-se que essa etapa pode estar associada ao aumento na concentração de NP livre, o que controlaria a mudança de síntese de mRNA para cRNA e posterior síntese dos novos RNAs virais. O complexo ribonucleoprotéico é formado e a nova progênie de RNP's é exportada para o citoplasma pela atuação das proteínas M1 e NEP (SHAW e PALESE, 2013; BROOKS *et al.*, 2014; EISFELD *et al.*, 2014).

Os RNP's virais são conduzidos para a membrana plasmática em endossomas Rab11 e a proteína M1 associada as RNP's também participa no processo de transporte para a membrana celular e posterior montagem e maturação das novas partículas virais. A liberação da progênie viral ocorre por brotamento e os vírus adquirem a membrana lipídica da célula com as glicoproteínas inseridas. Após o envelope viral ser separado da membrana celular é necessária ainda a atuação da glicoproteína NA. A atividade enzimática de NA promove a remoção dos ácidos siálicos na superfície celular evitando a ligação destes a HA e assim permitindo a liberação dos novos vírus da célula hospedeira e consequente propagação da infecção viral à novas células (Figura 10) (SHAW e PALESE, 2013; EISFELD *et al.*, 2014; SANTOS *et al.*, 2015).

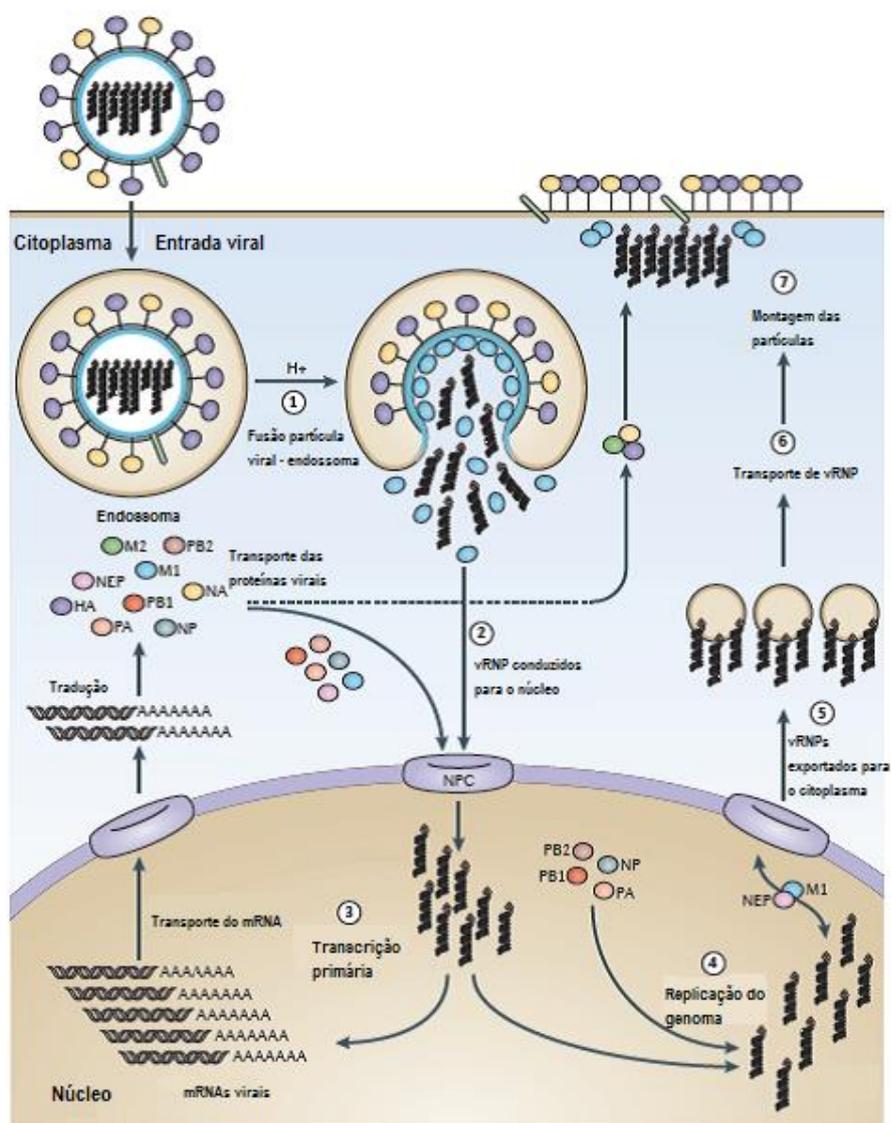


Figura 10: Ciclo de multiplicação do IAV (EISFELD *et al.*, 2014).

4.5 Transmissão

O vírus *Influenza A* causa doença respiratória grave e apresenta fácil transmissão. Normalmente o IAV é transmitido entre humanos através de contato direto com pessoas infectadas, contato com fômites, superfícies contaminadas e inalação de aerossóis com o vírus (COMMITTEE ON INFECTIOUS DISEASES, 2006; SANTOS *et al.*, 2015).

A forma mais eficaz de transmissão ocorre pela inalação de aerossóis, principalmente por meio de gotículas expelidas por meio de tosse, espirros e pela fala. O período de incubação do IAV é de cerca de 3 dias e os adultos infectados podem transmitir o vírus desde o dia anterior ao aparecimento dos sintomas até 5 à 7 dias após (WRIGHT; NEUMANN; KAWAOKA, 2013; CDC, 2014).

Durante os surtos sazonais e epidemias de *Influenza A* merece destaque a transmissão por crianças em idade escolar. Nas escolas as taxas de disseminação são elevadas e as crianças podem transmitir a infecção por mais de 7 dias, além de disseminarem o vírus para familiares (COMMITTEE ON INFECTIOUS DISEASES, 2006; MURRAY *et al.*, 2014).

A presença de epidemias inesperadas sugere que um único indivíduo infectado com o IAV pode ser capaz de transmitir esse patógeno para um número considerável de pessoas. Porém a incidência da infecção está relacionada com fatores como a imunidade prévia desenvolvida por infecção anterior ou imunização recente contra a gripe (COMMITTEE ON INFECTIOUS DISEASES, 2006; WRIGHT; NEUMANN; KAWAOKA, 2013).

A transmissão do vírus *Influenza A* das aves aquáticas selvagens para os mamíferos necessita de várias mudanças, entre elas a substituição do sítio de replicação de intestinal (aves) para respiratório (humanos). A alteração do receptor de ácido siálico α - 2,3 (aves) para ácido siálico α - 2,6 (humanos) e a mudança da temperatura de replicação de 40°C em aves para 37°C em mamíferos. Além disso, a presença de hospedeiros que contém especificidade para os dois receptores de ácido siálico (suínos e aves domésticas) auxiliam na transferência do IAV entre espécies. Os porcos são denominados vasos de mistura (*mixing vessel*) entre os vírus das aves e humanos, sendo assim intermediários com potencial para a formação de *Influenzavirus* pandêmicos (FORREST e WEBSTER, 2010; WEBSTER e GOVORKOVA, 2014).

A transmissão do IAV em aves aquáticas selvagens ocorre principalmente pela via fecal-oral e a transmissão desses vírus para áreas de produção avícola ocorre acidentalmente. Quando comparados aos hospedeiros naturais, as aves domésticas (galinhas, perus, codornas, entre outros) se mostram susceptíveis à infecção por *Influenza* e desenvolvem doença. A única restrição está relacionada aos patos domésticos, que quando infectados com o IAV não apresentam sintomas e assim se tornam potenciais transmissores para outras aves domésticas. (TAUBENBERGUER e KASH, 2010; OZAWA e KAWAOKA, 2013).

4.6 Patogênese e aspectos clínicos

A porta de entrada do vírus *Influenza A* no hospedeiro é o trato respiratório, e após as partículas virais penetrarem no trato respiratório superior através da nasofaringe, essas replicam-se nas células do epitélio ciliado. Para a produção de progênie viral as células infectadas são destruídas e os novos vírions são liberados da superfície e assim disseminam-se para as células adjacentes. Na infecção por *Influenza* não é comum a presença de viremia. A disseminação viral pode alcançar células do trato respiratório inferior e também podem ser infectadas células dendríticas e os macrófagos alveolares, os quais são responsáveis por iniciar a resposta imune inata contra a infecção (BEHRENS e STOLL, 2006; WRIGHT; NEUMANN; KAWAOKA, 2013; SANTOS *et al.*, 2015).

A patogênese da infecção viral causada pelo *Influenza A* é influenciada por alguns fatores relacionados ao hospedeiro e fatores virais. Alguns fatores relacionados aos hospedeiros são: a presença de receptores específicos nas células hospedeiras, a disponibilidade de enzimas no hospedeiro que são fundamentais para a entrada das partículas virais nas células (proteases), o estado imune do hospedeiro, a habilidade do sistema imune de conter a infecção sem desencadear respostas inflamatórias exacerbadas e a produção de altos níveis de citocinas, além da pré-existência de imunidade específica para alguns epítomos virais. Com relação ao vírus, alguns fatores de virulência podem ser capazes de determinar a patogênese como: a glicoproteína HA que determina a ligação do vírus a célula, a antigenicidade de HA e sua susceptibilidade de clivagem (presença ou não de sítio de clivagem polibásico); a proteína PB1-F2 que induz apoptose e também aumenta a patogênese na infecção secundária por pneumonia; a proteína NS1 que atua como antagonista de interferons

e auxilia no escape viral da resposta imunológica inata e a glicoproteína NA que é importante para a replicação viral eficiente (BEHRENS e STOLL, 2006; MCAULEY *et al.*, 2007; MEDINA e GARCIA-SASTRE, 2011; SANTOS *et al.*, 2015).

O período de incubação da infecção é de 1 a 4 dias, podendo variar de acordo com o sistema imunológico do hospedeiro e com a quantidade do inóculo viral. A influenza é uma infecção respiratória contagiosa que pode apresentar-se de forma branda ou grave, com complicações e evolução para óbito. A infecção acomete principalmente áreas como nariz, garganta e brônquios, podendo alcançar os pulmões. A disseminação viral provoca destruição celular e descamação da mucosa superficial das vias respiratórias, causando edemas e presença de infiltrações mononucleares no local de replicação viral. É importante destacar que as altas taxas de replicação ocorrem nas 48 horas após o primeiro contato com o vírus e nos dias restantes da infecção a carga viral tende a diminuir (WRIGHT; NEUMANN; KAWAOKA, 2013; MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2014; BROOKS *et al.*, 2014; WHO, 2016;).

O quadro clínico característico da influenza sazonal manifesta-se de forma abrupta e os sintomas são cefaleia, calafrios, tosse seca, com subsequente febre alta entre 38°C e 40°C, dor de garganta, mialgias, mal-estar, prostração, congestão nasal e anorexia. Este quadro é característico de síndrome gripal (SG) e a febre pode persistir de 3 a 5 dias juntamente com sintomas sistêmicos, todavia a resolução da infecção tende a ocorrer dentro de uma ou duas semanas sem a necessidade de tratamento médico. Tosse e fraqueza são sinais que podem persistir por 2 a 4 semanas após o desaparecimento dos sintomas. Além da SG, também podem ocorrer infecções leves ou assintomáticas (Figura 11) (WRIGHT; NEUMANN; KAWAOKA, 2013; MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2014; BROOKS *et al.*, 2014).

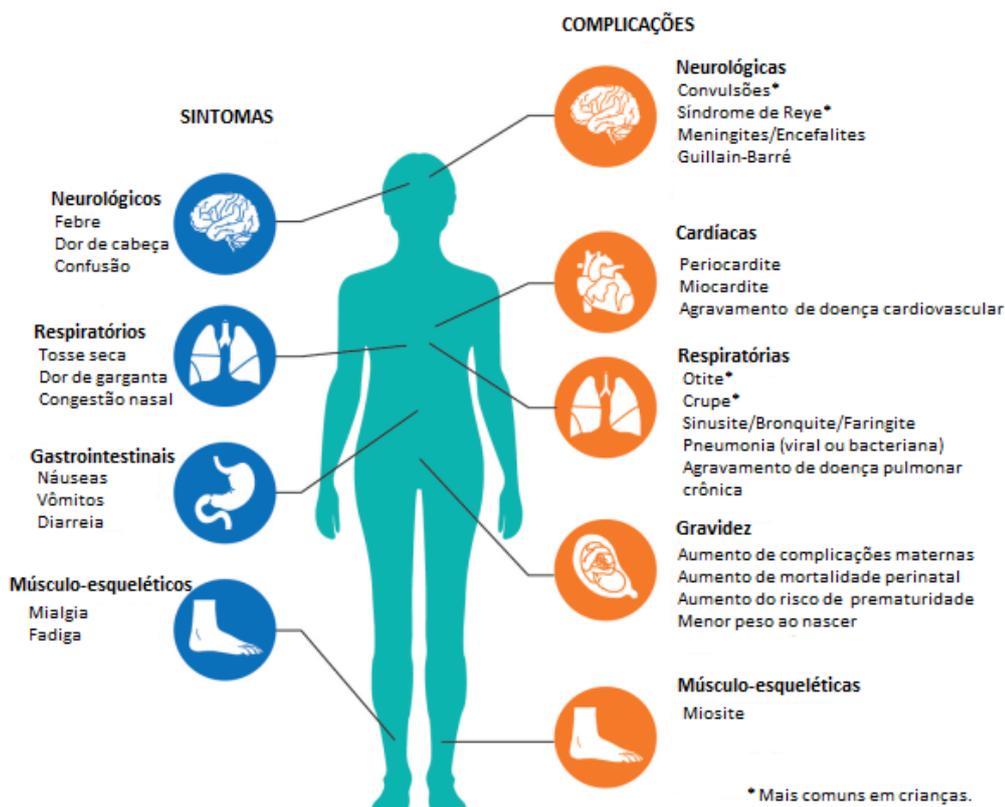


Figura 11: Principais sintomas e complicações relacionadas a infecção causada pelo vírus *Influenza A* (GHEBREHEWET *et al.*, 2016).

Por outro lado, o vírus *Influenza A* também é capaz de desencadear infecções graves com complicações e mortes, principalmente em épocas de pandemias com circulação de nova linhagem viral e em indivíduos pertencentes a grupos de risco. Os grupos de risco onde a SG pode evoluir para síndrome respiratória aguda grave (SRAG) são adultos com mais de 65 anos, indivíduos com problemas de saúde crônicos (diabetes, doenças crônicas de coração, rins, pulmão, fígado e neurológicas), indivíduos com a imunidade comprometida, indivíduos obesos mórbidos, mulheres grávidas e com parto recente, crianças menores de 2 anos e qualquer outro indivíduo que por motivos médicos seja considerado em risco para complicações por influenza. As principais complicações que podem elevar os níveis de hospitalizações e mortalidade são: pneumonia viral ou bacteriana (patógenos mais comuns *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumoniae* e *Haemophilus influenzae*), sinusite, otite, desidratação, agravamento das doenças crônicas e pneumonia primária por influenza que acomete principalmente indivíduos com doenças cardiovasculares e mulheres grávidas (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2014; BROOKS *et al.*, 2014; GHEBREHEWET *et al.*, 2016).

Além das complicações já citadas, também podem ocorrer complicações cardiovasculares como infarto de miocárdio e complicações neurológicas como encefalopatias e convulsões relacionadas a infecções por influenza anteriores. Com relação ao sistema nervoso central (SNC) ainda é possível verificar a presença de irritabilidade, confusão, sonolência e manifestações mais graves como psicose e coma (WARREN-GASH *et al.*, 2009; STUDAHL, 2003; WRIGHT; NEUMANN; KAWAOKA, 2013).

Nas crianças a infecção por *Influenza A* demonstra algumas particularidades como febre mais alta, maior incidência de sintomas gastrintestinais, vômitos, otite média, crupe em crianças menores de um ano, além de convulsões e encefalopatias mais comuns. Crianças menores de 5 anos devem ser acompanhadas por cuidados médicos quando infectadas com influenza e as complicações mais graves são principalmente observadas em crianças menores de 2 anos e com doenças crônicas. Outra complicação que acomete crianças e adolescentes entre 2 e 16 anos é a Síndrome de Reye, uma encefalopatia aguda rara, mas com elevada taxa de mortalidade (10 a 40%). (BROOKS *et al.*, 2014; CDC, 2016).

4.7 Epidemiologia

4.7.1 Pandemias e panorama atual

A influenza é uma doença respiratória aguda altamente contagiosa, de caráter zoonótico, que afeta um amplo espectro de hospedeiros. É uma enfermidade de distribuição global, que ocorre anualmente de forma sazonal causando epidemias. A ocorrência anual de epidemias de influenza provoca grandes impactos ao redor do mundo. A OMS estima que em torno de 1 bilhão de casos de gripe sazonal ocorram anualmente, sendo causados de 3 a 5 milhões de casos graves da doença e 300.000 a 500.000 mortes em todo o mundo. Os custos financeiros são altos, dependendo da gravidade da epidemia os gastos ficam entre 10 e 60 milhões de dólares por milhão de indivíduos em países industrializados. Além disso, a influenza é considerada uma grande ameaça à saúde, devido às altas taxas de mortalidade e morbidade apresentadas e também pela capacidade do vírus *Influenza A* de causar pandemias. As pandemias de IAV afetaram a espécie humana ao longo da história, porém somente a partir do século XX os registros se tornaram mais confiáveis e nesse período ocorreram quatro pandemias importantes, seguidas pela primeira pandemia

do século XXI (Figura 12) (WHO, 2008; MEDINA e GARCIA-SASTRE, 2011; WRIGHT; NEUMANN; KAWAOKA, 2013; MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2014; BROOKS *et al.*, 2014; COSTA e MERCHAN-HAMANN, 2016).

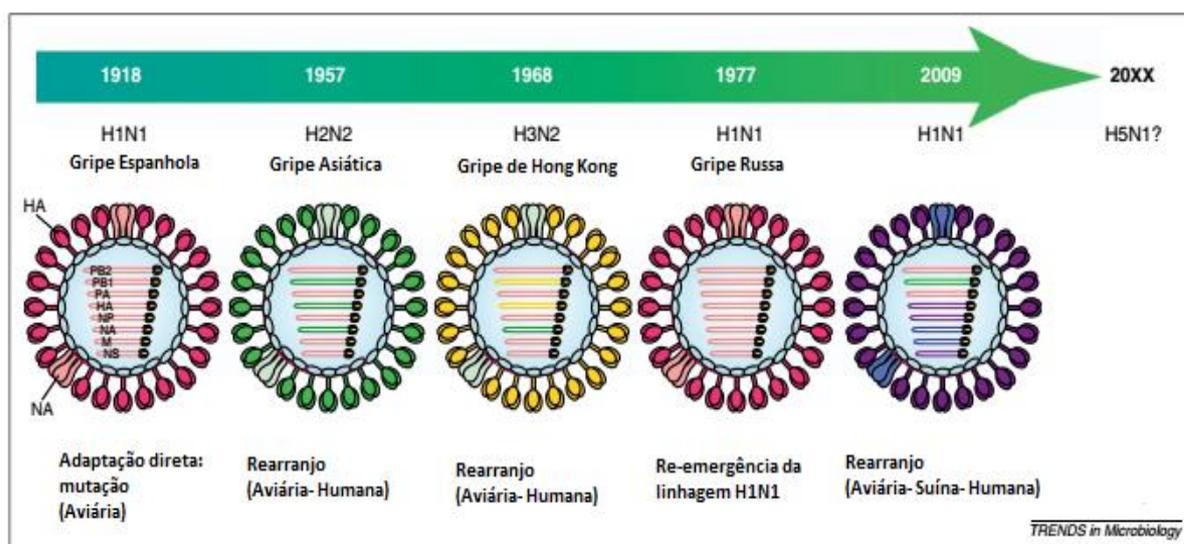


Figura 12: Linha do tempo demonstrando as pandemias mais importantes da história e os vírus envolvidos. São evidenciadas as formas de origem dos vírus, seja por rearranjos genéticos ou mutações (WATANABE *et al.*, 2012).

A pandemia de 1918-1919 conhecida como “Gripe espanhola” foi a pandemia mais grave da história recente e matou mais pessoas do que a primeira guerra mundial. Estima-se que a gripe espanhola tenha causado 50 milhões de mortes em todo o mundo, ao mesmo tempo em que 500 milhões a 1 bilhão de pessoas foram infectadas (aproximadamente 30-50% da população mundial). O vírus se espalhou pela América do Norte, Europa e Ásia em três ondas. A primeira onda começou na primavera de 1918 e foi altamente contagiosa, mas não tão letal, já na segunda onda que teve início em setembro a infecção mostrou-se severa e apresentou alta taxa de mortalidade. A terceira onda iniciou-se em janeiro de 1919, e demonstrou menor magnitude global, terminando na primavera de 1919, porém o impacto dessa onda causou consequências devastadoras na Austrália, com taxas de mortalidade maiores do que as observadas no resto do mundo durante as duas ondas anteriores (WRIGHT; NEUMANN; KAWAOKA, 2013; CDC, 2016; JOHNSON e MUELLER, 2002; LINA, 2008).

A pandemia de 1918-1919 ficou conhecida como Gripe Espanhola, já que foi extensamente relatada nos meios de comunicação do país o qual também foi atingido pela infecção, mas encontrava-se neutro na primeira guerra mundial. A reconstrução

do genoma viral a partir de material de autópsia de tecidos congelados de vítimas da gripe, revelou que o agente causador da gripe foi um vírus *Influenza A* aviário H1N1. A origem da pandemia continua desconhecida, mas são propostas duas hipóteses, a primeira que a pandemia teria se originado na província de Canton na China e a segunda nos Estados Unidos, no entanto não se sabe se o vírus evoluiu diretamente das aves (TAUBENBERGER *et al.*, 1997; REID e TAUBENBERGER, 2003; TAUBENBERGER *et al.*, 2005; LINA, 2008; WRIGHT; NEUMANN; KAWAOKA, 2013).

As taxas de mortalidade foram mais elevadas em indivíduos menores de 5 anos, indivíduos entre 20-40 anos e com mais de 65 anos. A mortalidade proeminente em indivíduos saudáveis, principalmente na faixa entre 20-40 anos foi uma característica dessa pandemia. O vírus H1N1 desta pandemia foi notavelmente virulento, mas a alta letalidade também foi resultado das complicações por pneumonia bacteriana secundária, que na época não eram tratadas de forma eficaz devido à escassez de antibióticos. Além dos esforços de controle mundiais serem limitados (KILBOURNE, 2006; WRIGHT; NEUMANN; KAWAOKA, 2013; CDC, 2016).

A pandemia de 1957-1958 conhecida como pandemia asiática foi causada pelo vírus H2N2, descendente do vírus pandêmico H1N1 de 1918, o qual adquiriu segmentos novos devido a um rearranjo com um vírus aviário desconhecido. A pandemia que se iniciou 40 anos depois da gripe espanhola, teve origem em uma província chinesa em fevereiro de 1957. Em maio o vírus foi identificado no Japão e em outubro a primeira onda já tinha atingido os Estados Unidos e o Reino Unido sendo seguida pela segunda onda em janeiro de 1958. Nesta data, o mundo já estava mais preparado para enfrentar e controlar uma pandemia, a virologia moderna já demonstrava mais conhecimento sobre o vírus *Influenza*, a OMS já havia criado a rede de vigilância para influenza, mais antibióticos estavam disponíveis para combater as complicações da gripe e vacinas sazonais já tinham sido desenvolvidas. O número estimado de mortes decorrentes da pandemia asiática foi de 1 a 2 milhões em todo mundo, mas as taxas de mortalidade apresentaram um padrão semelhante ao observado em vírus *Influenza A* epidêmicos, atingindo principalmente crianças e idosos (BEHRENS, 2006; WHO, 2005; TAUBENBERGER e KASH, 2010; WRIGHT; NEUMANN; KAWAOKA, 2013).

No ano de 1968 surgiu a pandemia de Hong Kong, que foi causada pelo vírus H3N2, resultado de um rearranjo genético entre um vírus H2N2 circulante e um IAV aviário. A gripe surgiu no sul da Ásia e o vírus foi primeiramente isolado em Hong

Kong em julho de 1968, tendo se espalhado para o mundo rapidamente. A presença da glicoproteína neuraminidase conservada (N2) pode explicar o menor índice de mortalidade observado, uma vez que anticorpos contra essa NA poderiam auxiliar na redução da duração e severidade da infecção, além do fato de vacinas terem sido produzidas rapidamente ajudando a imunizar parte da população. Estima-se que o número de óbitos foi de 1 milhão em todo o mundo e por volta de 100.000 nos Estados Unidos, sendo que a maior parte das mortes ocorreu em indivíduos maiores de 65 anos. O vírus H3N2 continua a circular de forma sazonal (WHO, 2005; LINA, 2008; TAUBENBERGER e KASH, 2010; CDC, 2016).

Em 1977 ocorreu a re-emergência do vírus H1N1, a chamada gripe russa, onde o vírus circulante revelou ser estreitamente relacionado com as linhagens do H1N1 de 1918 que circulavam até a década de 1950. As taxas de mortalidade dessa gripe não foram altas como as anteriores, porém o maior número de óbitos foi observado em indivíduos com idade até 25 anos, visto que a população mais velha apresentava imunidade protetora derivada de contato prévio com essa linhagem viral (TAUBENBERGER e KASH, 2010; WRIGHT; NEUMANN; KAWAOKA, 2013).

A primeira pandemia do século XXI ocorreu em 2009, os primeiros relatos de um surto de gripe foram no México e posteriormente o vírus disseminou-se pelo Estados Unidos e por todo o mundo. Em junho de 2009 foi declarado pela OMS o estado de pandemia de fase 6, o alerta mais elevado. O agente etiológico foi o vírus *Influenza A H1N1*, o vírus sofreu rearranjo e apresentava segmentos gênicos de vírus suínos, aviários e humanos. Os genes NA e M foram derivados de vírus suíno de origem aviária da Eurásia e os 6 segmentos restantes foram provenientes de rearranjo triplo de vírus suínos, sendo genes de vírus clássico H1N1 de suínos, vírus norte-americano aviário e vírus H3N2 de humanos (Figura 13). (NEUMANN e KAWAOKA, 2011; SANTOS *et al.*, 2015; CDC, 2016).

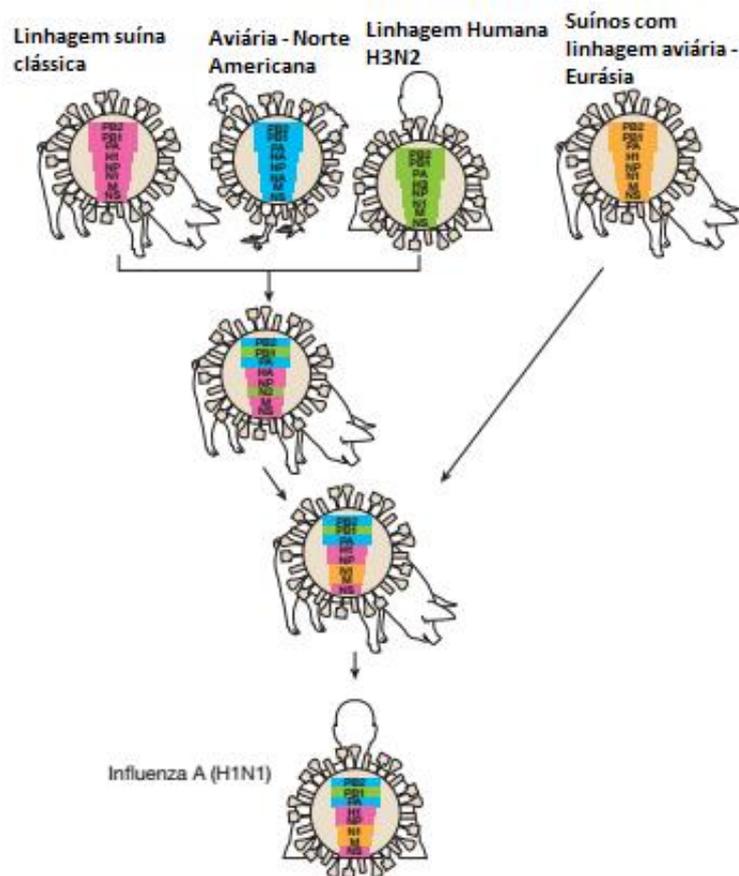
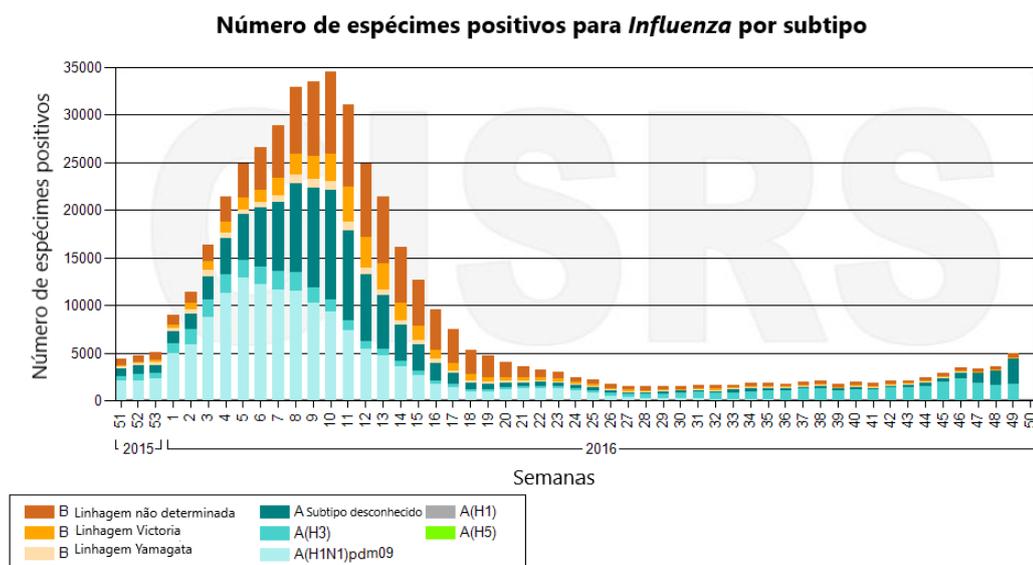


Figura 13: Representação da origem do vírus *Influenza A* (agente etiológico da pandemia de 2009). São explicitadas as linhagens virais que sofreram rearranjo gênico para compor o *Influenza A* (H1N1)pdm09 (NEUMANN *et al.*, 2009).

O vírus H1N1 da pandemia de 2009 demonstrou uma rápida disseminação pelo mundo, atingindo muitos países e afetando principalmente indivíduos jovens e crianças, e aqueles com doenças crônicas cardíacas e pulmonares. Nos indivíduos mais velhos foi observada menor taxa de mortalidade, e esse padrão pode ser explicado pela presença de imunidade nesta população. De acordo com o CDC, o número estimado de óbitos relacionados ao vírus H1N1 foi entre 151.700 e 575.400 em todo o mundo durante o primeiro ano de circulação do vírus. Em agosto de 2010, a OMS declarou o fim da pandemia, no entanto o vírus H1N1 pdm09 continua a circular de forma sazonal por todo o mundo (PEIRIS *et al.*, 2009; NEUMANN e KAWAOKA, 2011; DAWOOD *et al.*, 2012; CDC, 2016).

Atualmente a circulação do IAV é monitorada e de acordo com a OMS os vírus predominantemente circulantes, a nível global, em 2016 foram os IAV H1N1 e H3N2, além dos vírus *Influenza B* das linhagens Victoria e Yamagata (Gráfico 1) (WHO, 2016).

Gráfico 1: Circulação global dos vírus *Influenza* durante o ano de 2016.



(Adaptado de OMS, Sistema Global de Vigilância e Resposta à Influenza (GISRS), gerado em 09/12/2016).

Por outro lado, também é importante destacar os vírus *Influenza A* aviários, os quais demonstram ser uma ameaça à saúde pública por poderem eventualmente ser transmitidos de forma direta para o homem, são conhecidos três subtipos capazes de infectar humanos H5, H7 e H9. São exemplos de IAV aviários que causam preocupação as linhagens H9N2, H7N9, H7N7 e HPAI H5N1 que quando infectam humanos demonstram alta patogenicidade sendo responsáveis por quadros graves e com elevada letalidade. Essas linhagens podem ser consideradas potenciais candidatos para agentes causadores da próxima pandemia de influenza (HORIMOTO e KAWAOKA, 2005; SANTOS *et al.*, 2015; TANNER *et al.*, 2015; CDC, 2016).

4.7.2 Epidemiologia no Brasil

Nas regiões de trópicos o vírus *Influenza* tende a circular no decorrer de todo o ano, no Brasil o padrão de sazonalidade da influenza varia de acordo com as regiões, mas a dispersão viral ocorre com maior frequência nos meses mais frios assim como ocorre em regiões de clima temperado (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2014; SVS, 2012).

No ano 2000, foi implantado no Brasil o Sistema de Vigilância Sentinela de Influenza, que engloba uma rede de unidades sentinelas distribuídas por todas as regiões do país e tem como finalidade identificar os vírus circulantes no país, além de

monitorar o atendimento de indivíduos que apresentam a doença. O Sistema de vigilância da influenza é formado pela vigilância de Síndrome Gripal (SG), vigilância de Síndrome Respiratória Aguda Grave (SRAG) em pacientes internados em unidade de terapia intensiva (UTI) e pela vigilância universal de SRAG. Para a vigilância universal de SRAG, que foi criada como demanda a pandemia de 2009, são acompanhados os casos hospitalizados e os óbitos. Os casos são notificados pelos profissionais de saúde, sendo que casos de SRAG hospitalizados devem ser notificados individualmente em sistema específico. Os surtos de SG devem ser notificados de forma agregada e a vigilância local deve ser informada rapidamente e os casos de surto de SG que evoluírem para SRAG também devem ser notificados individualmente. Em adição, todo caso suspeito de influenza por novo subtipo viral deve ser notificado imediatamente. O sistema de vigilância também tem como objetivos avaliar o impacto da vacinação anual, produzir informações sobre a doença e morbidade, além de ser capaz de responder a situações excepcionais (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2014; SVS, 2012; CANTARINO e MERCHAN-HAMANN, 2016).

No ano de 2009 quando ocorreu a primeira pandemia do século XXI causada pelo vírus *Influenza A H1N1* o Brasil confirmou 44.544 casos da doença, sendo que 2.060 casos de SRAG confirmados evoluíram para óbito. As faixas etárias mais acometidas foram crianças menores de 2 anos e adultos jovens. O maior número de óbitos foi observado na região sudeste, seguida pela região sul. Nos anos seguintes, 2010 e 2011, observou-se uma queda no número de mortes por H1N1 (Tabela 1) (SVS, 2012; COSTA e MERCHAN-HAMANN, 2016).

Nos anos seguintes, de 2012 até 2015, de acordo com dados do Ministério da Saúde e com os informes epidemiológicos gerados a cada semana epidemiológica observou-se uma tendência decrescente nos casos de infecção por influenza, no número de SRAG e óbitos em todas as regiões do país. Nos anos de 2012 e 2013 houve o predomínio da circulação do vírus *Influenza A(H1N1)pdm09*, seguido pelos vírus *Influenza B* e *Influenza A(H3N2)*. Também verificou-se a circulação de um vírus *influenza A* não subtipado e de outros vírus respiratórios (vírus sincicial respiratório, parainfluenza, rinovírus e adenovírus) (SVS, 2013).

Tabela 1: Óbitos por SRAG causados por *Influenza A/H1N1* 2009 por regiões brasileiras. Brasil, SE 16/2009 a SE 52/2011.

Região	2009	2010	2011
Norte	50	48	0
Nordeste	62	23	0
Sudeste	992	17	6
Sul	789	21	14
Centro Oeste	167	4	1
Total	2.060	113	21

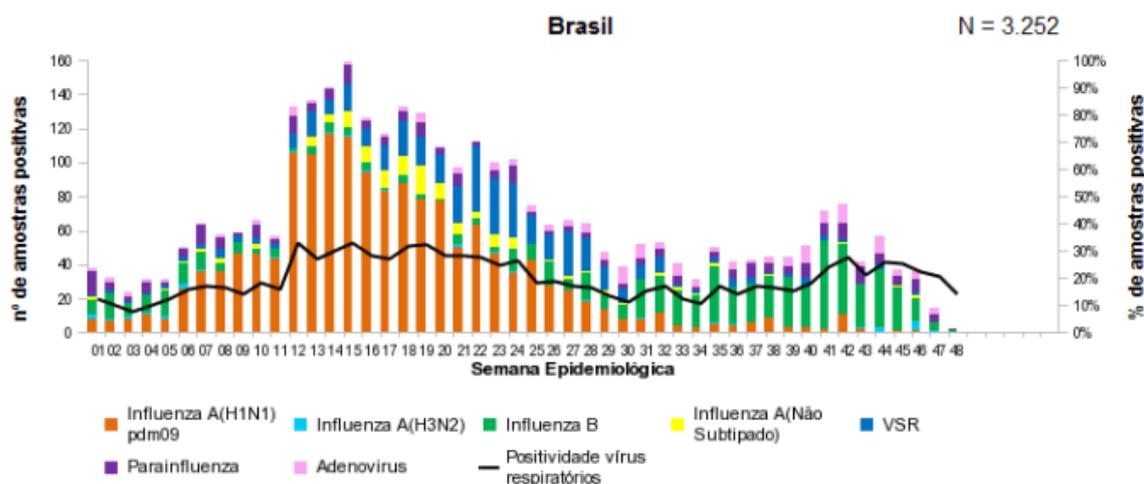
(SINAN Influenza, Secretaria de Vigilância em Saúde, 2012).

No ano de 2014 verificou-se um predomínio na circulação dos vírus *Influenza A* (H3N2) e do *Influenza B*, seguidos pelo *Influenza A*(H1N1)pdm09 e um vírus *Influenza A* não subtipado. Foram confirmados 1.794 casos de SRAG por influenza e o número de óbitos foi de 326, causados principalmente pelo vírus A(H1N1)pdm09. Os estados com maior número de óbitos foram São Paulo e Minas Gerais (SVS, 2014).

Em 2015 foram registrados 1.089 casos de SRAG por influenza e 175 óbitos, dos quais 75 foram causados pelo vírus IAV H3N2, 39 por *Influenza B*, 36 por *Influenza A*(H1N1)pdm09 e 25 por IAV não subtipado, o estado com maior incidência de óbitos foi São Paulo. Quanto ao padrão de vírus circulantes nesse ano, o vírus prevalente foi o *Influenza A* (H3N2) seguido pelo *Influenza B* (SVS, 2015).

Segundo dados do Ministério da Saúde até a Semana Epidemiológica 48 de 2016, este ano apresentou um aumento significativo nos casos de SRAG e mortes por influenza. Com base nas amostras coletadas nas unidades sentinelas espalhadas por todo o país, a circulação dos vírus *Influenza* para esse ano teve o predomínio da linhagem *Influenza A*(H1N1)pdm09, seguido pelos vírus *Influenza B*, *Influenza A* não subtipado e *Influenza A* H3N2, além dos outros vírus respiratórios circulantes. Também é possível observar através do Gráfico 2 que até a semana epidemiológica 28 há um predomínio de circulação do *Influenza A* (H1N1)pdm09 e nas próximas semanas epidemiológicas do *Influenza B* (SVS, 2016).

Gráfico 2: Número de casos de vírus respiratórios identificados no Brasil da 1ª a 48ª semana epidemiológica de 2016.



Fonte: SIVEP - Gripe. Dados atualizados em 6/12/2016, sujeitos a alteração.

Foram notificados até o momento 12.012 casos de SRAG por influenza, sendo a grande maioria causada por *Influenza A* (H1N1)pdm09 e a maior prevalência de casos foi observada na região sudeste. O número de óbitos notificados até a SE 48 foi de 2.198, e São Paulo foi o estado com maior número de mortes no país, 38,4% (Figura 14) (SVS, 2016).

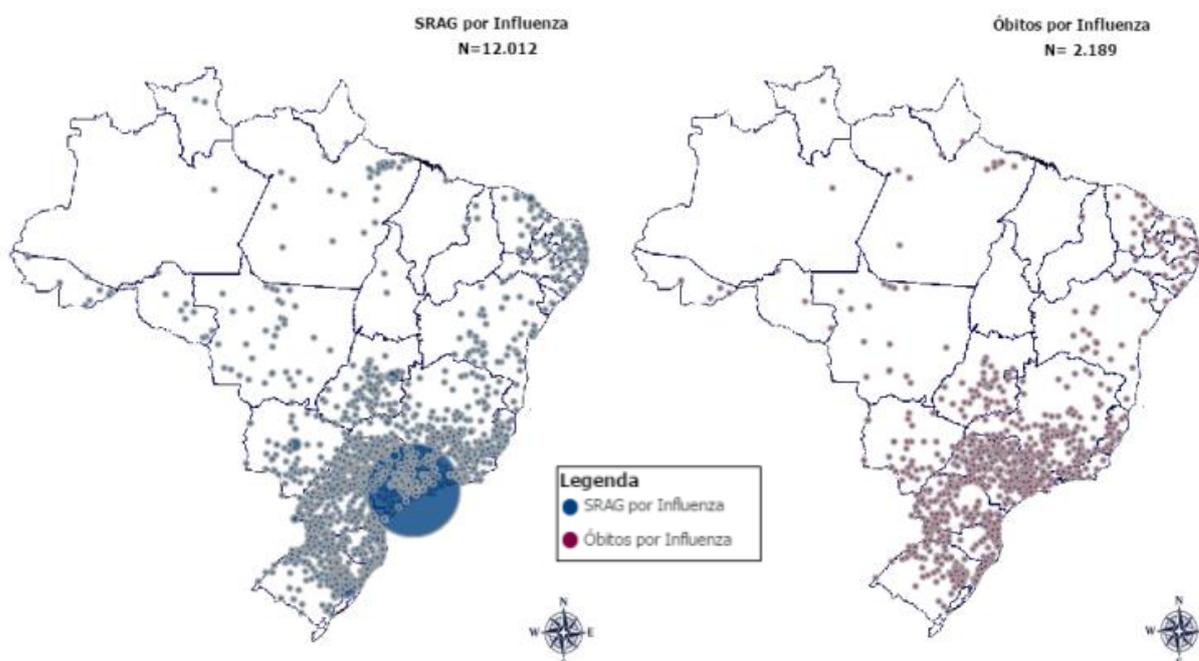


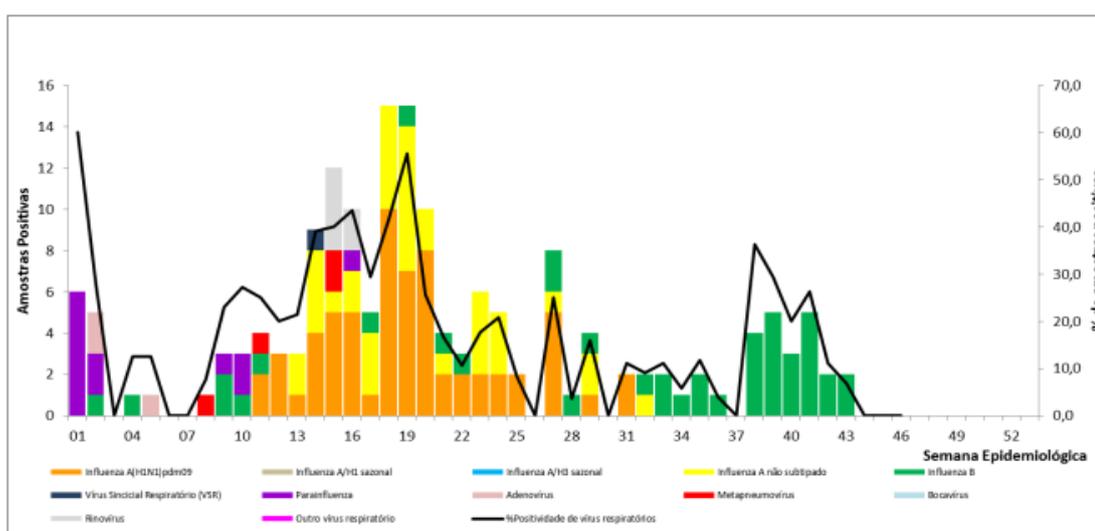
Figura 14: Distribuição espacial dos casos e óbitos por Síndrome Respiratória Aguda Grave confirmados para influenza no Brasil durante a 1ª até 48ª Semana Epidemiológica de 2016. No mapa à esquerda as marcações em azul demonstram os casos confirmados de SRAG por influenza em todas as regiões do Brasil. O mapa à direita representa os óbitos registrados por

influenza nas diversas regiões do país durante esse período. As regiões com maior concentração de casos de SRAG e óbitos foram as regiões Sudeste e Sul (SVS, 2016).

Outro dado relevante refere-se a presença de fatores de risco para complicação em 70% (1.532) dos indivíduos que foram a óbito. Os principais fatores de risco observados foram existência de doenças cardiovasculares, diabetes, pneumopatias e idade superior a 60 anos (SVS, 2016).

No estado de Minas Gerais até a semana epidemiológica 46 de 2016 verificou-se a circulação dos vírus *Influenza A(H1N1)pdm09*, vírus *Influenza A* não subtipado e vírus *Influenza B* (Gráfico 3). Com base em dados da Secretaria de Estado de Saúde de Minas Gerais, foram confirmados no estado 957 casos de SRAG por influenza, desses casos a maioria foi causada pelo IAV, sendo 62,5% relacionados ao *Influenza A(H1N1)pdm09* e os outros 36,8% ao IAV não subtipado e ao *Influenza B*. Os municípios com maior prevalência de SRAG foram Belo Horizonte e Uberlândia. Até a SE 46 de 2016 foram confirmados 746 óbitos por SRAG no estado, e 68,5% desses foram causados pelo *Influenza A(H1N1)pdm09* (Figura 15). Entre os óbitos notificados a faixa etária média foi de 55 anos, 72,6% do total apresentavam fatores de risco como idade superior à 60 anos, doenças cardiovasculares, pneumopatias, obesidade entre outros (SES/MG, 2016).

Gráfico 3: Número de casos de vírus respiratórios identificados em Minas Gerais, da 1ª a 46ª semana epidemiológica de 2016.



Fonte: SIVEP-Gripe/CDAT/DVE/SVEAST/SVPS/SES-MG

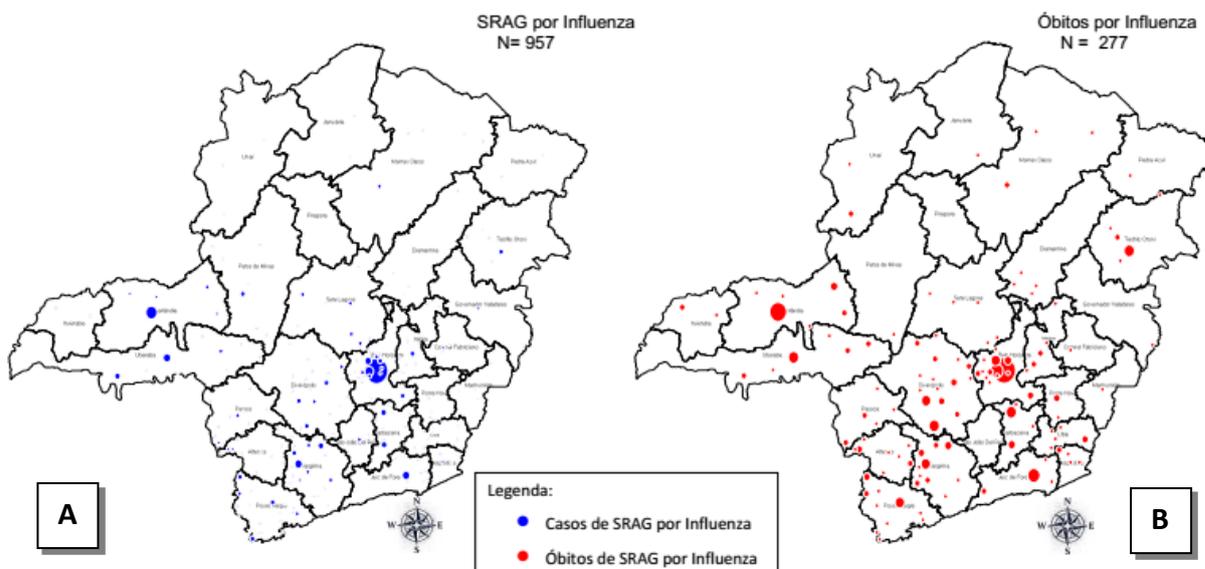


Figura 15: Distribuição dos casos e óbitos por SRAG confirmados para influenza por município de Minas Gerais, 2016 até a Semana Epidemiológica 46. A – Mapa de Minas Gerais demonstrando o número de casos de SRAG por influenza e o município de ocorrência. B – Mapa demonstrando o número de óbitos por influenza em Minas Gerais e o município correspondente (SECRETARIA DE ESTADO DE SAÚDE DE MINAS GERAIS, 2016).

4.8 Tratamento

Mesmo diante da eficácia proporcionada pela vacinação contra o vírus *Influenza A*, a necessidade de intervenções terapêuticas é extremamente relevante para o tratamento, prevenção e controle da gripe. O uso de antivirais é fundamental principalmente quando ocorrem casos severos de influenza ou surtos pandêmicos e em ocasiões onde a vacina não está disponível ou demonstra baixa efetividade (ZAMBON, 2014; WEBSTER e GOVORKOVA, 2014).

Os principais fármacos utilizados no tratamento contra influenza em humanos e aprovados pela *Food and Drug Administration* (FDA) são a amantadina, rimantadina, oseltamivir (Tamiflu®), zanamivir (Relenza®) e peramivir (Rapivab®) (Figura 16). Entretanto, as drogas amantadina e rimantadina não são recomendadas pelo CDC por apresentarem resistência generalizada aos vírus humanos H1N1 e H3N2 e também por não exibirem efetividade contra o vírus *Influenza B* (SHAW e PALESE, 2013; WEBSTER e GOVORKOVA, 2014; CDC, 2016).

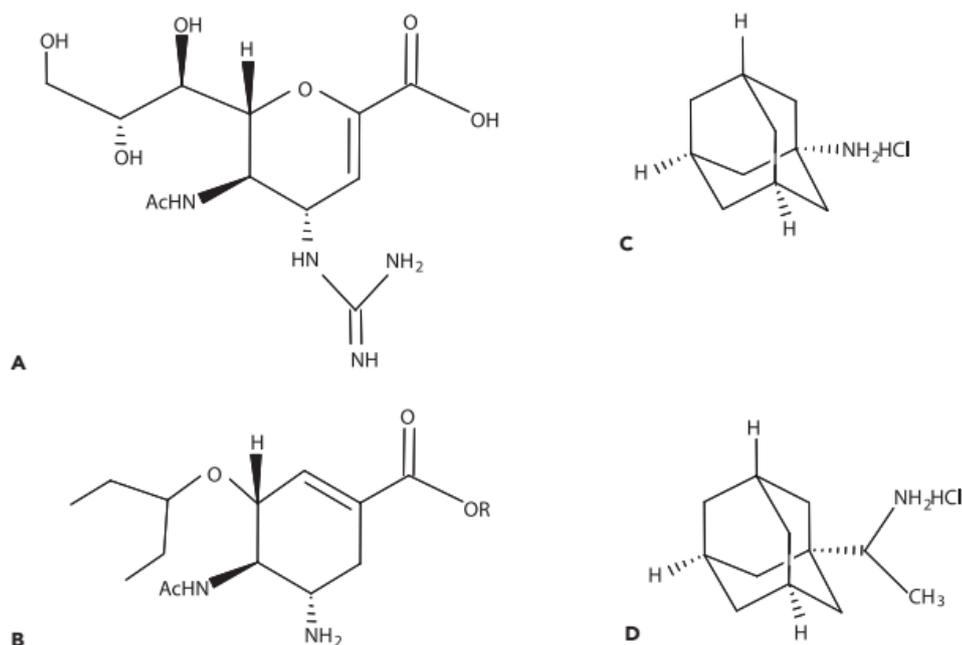


Figura 16: Estruturas moleculares dos principais compostos antivirais contra o vírus *Influenza A*. A- Zanamivir; B- Oseltamivir; C- Amantadina e D- Rimantadina (SHAW e PALESE, 2013).

No Brasil, o Ministério da Saúde aprova o uso dos medicamentos oseltamivir e zanamivir (Tabela 2). Estes fármacos são disponibilizados no Sistema Único de Saúde (SUS), mas o uso de zanamivir como terapia antiviral só é autorizado quando há a impossibilidade de tratamento com oseltamivir. Também é contraindicado o uso de zanamivir em crianças menores de 5 anos e para pacientes com doenças respiratórias crônicas que podem apresentar risco de broncoespasmo severo (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2014).

Tabela 2: Posologia e administração de Tamiflu® e Relenza®.

Droga	Faixa etária	Tratamento	
Fosfato de oseltamivir (Tamiflu®)	Adulto	75mg, 12 em 12 horas por 5 dias	
	Criança maior de 1 ano de idade	≤15kg	30mg, 12 em 12 horas por 5 dias
		>15kg a 23kg	45mg, 12 em 12 horas por 5 dias
		>23kg a 40kg	60mg, 12 em 12 horas por 5 dias
		>40kg	75mg, 12 em 12 horas por 5 dias
	Criança menor de 1 ano de idade	<3 meses	12mg, 12 em 12 horas por 5 dias
		3 a 5 meses	20mg, 12 em 12 horas por 5 dias
6 a 11 meses		25mg, 12 em 12 horas por 5 dias	
Zanamivir (Relenza®)	Adulto	10mg: duas inalações de 5mg, 12 em 12 horas por 5 dias	
	Criança a partir de 7 anos	10mg: duas inalações de 5mg, 12 em 12 horas por 5 dias	

(MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2014).

É indicado o tratamento imediato com oseltamivir para pacientes com SRAG, pacientes com SG com condições para complicações como grávidas, crianças menores de 2 anos e adultos com mais de 60 anos. Também é indicado para populações indígenas, indivíduos hospitalizados e com doenças crônicas, além de indivíduos sem condições de risco, mas que por critério médico seja necessário o uso de oseltamivir (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2014).

De acordo com Zambon (2014), os inibidores da neuraminidase são os antivirais mais utilizados no tratamento contra influenza e demonstram maior efetividade quando administrados na fase inicial da doença. Esses agem bloqueando a saída dos novos vírus das células infectadas, impedindo que a proteína viral NA clive o resíduo de ácido siálico da glicoproteína (Figura 17). Os quatro inibidores de neuraminidase aprovados para uso em humanos são o oseltamivir, zanamivir, peramivir e laninamivir (Inamivir®). Os dois primeiros têm sido utilizados em muitos países, o oseltamivir é administrado via oral em cápsulas, a dose recomendada é de 75mg duas vezes ao dia, enquanto o zanamivir é administrado por inalação, sendo necessárias duas inalações diárias de 5mg para o tratamento de infecções (LIU *et al.*, 2013; SHAW e PALESE, 2013; WEBSTER e GOVORKOVA, 2014).

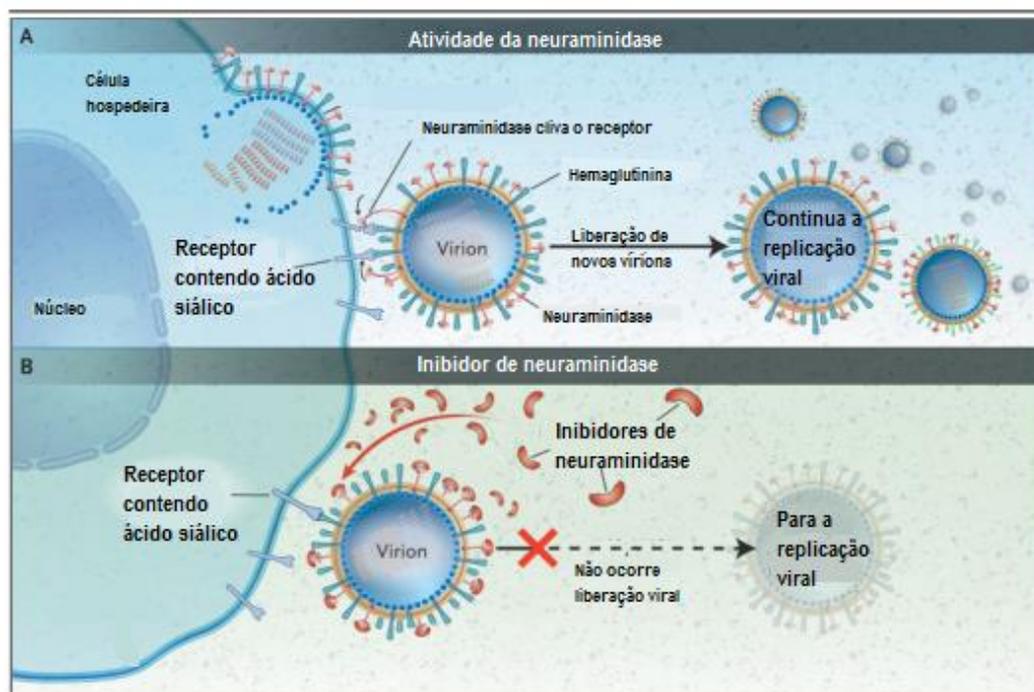


Figura 17: Mecanismo de ação dos inibidores de neuraminidase. A- Atividade da glicoproteína neuraminidase. B- Mecanismo de ação do antiviral inibidor de neuraminidase (MOSCONA, 2005).

O antiviral Peramivir também foi recomendado pelo CDC para o tratamento de influenza, e é administrado por via intravenosa somente em pacientes hospitalizados. Já o laninamivir, administrado por inalação, é licenciado para uso no Japão e apresenta-se eficaz contra os vírus resistentes ao oseltamivir (SHAW e PALESE, 2013; SANTOS *et al.*, 2015; CDC, 2016).

Os antivirais conhecidos como adamantanos (amantadina e rimantadina) são inibidores de M2, e atuam bloqueando a entrada de íons H⁺ para o interior da partícula viral durante a fusão da mesma com o endossoma, um processo necessário para a liberação das RNP's virais no citoplasma celular. Os adamantanos foram utilizados durante muitos anos no tratamento contra o vírus *Influenza A*, entretanto eles não são mais amplamente utilizados devido a três fatores: não possuem atividade contra o vírus *Influenza B*, variantes resistentes a esses fármacos surgem rapidamente e de forma frequente e por fim, devido aos possíveis efeitos colaterais observados no sistema nervoso central principalmente pelo uso da amantadina (DE CLERCQ, 2004; MEDINA e GARCIA-SASTRE, 2011; SANTOS *et al.*, 2015).

A emergência de vírus resistentes é mais frequente na terapia com inibidores de M2 do que com inibidores de NA. Fatores relacionados à droga, ao hospedeiro e fatores virais podem estar associados a ocorrência de resistência, como exemplos o subtipo de NA que pode ser mais susceptível para mutações que inibem a ligação de fármacos e a maior frequência de resistência em crianças do que adultos (ZAMBON, 2014; BROOKS *et al.*, 2014).

Com relação a resistência as drogas inibidoras de M2, as mutações ocorrem principalmente na porção trans-membrana da proteína M2 e estão associadas a mudança de um único nucleotídeo o que tem como consequência a substituição de aminoácidos nas posições 26, 27,30, 31 ou 34. A resistência aos inibidores de NA está relacionada a mutações no sítio catalítico e nos resíduos estruturais de NA, também podem ocorrer mutações na hemaglutinina que desencadeiam resistência, onde através da diminuição da afinidade de HA pelo receptor celular o vírus escapa da célula infectada sem a necessidade da ação de NA. A resistência varia entre os fármacos oseltamivir, zanamivir e peramivir, mas ainda não foi relatada resistência ao laninamivir (NICHOLSON *et al.*, 2003; WEBSTER e GOVORKOVA, 2014; JAGADESH *et al.*, 2016).

Diante de desafios como a seleção de vírus resistentes, a ocorrência de pandemias e de casos graves da doença, além do surgimento de novas variantes

virais é necessário desenvolvimento de novos antivirais contra a gripe. São exemplos de alternativas antivirais em ensaios clínicos: o Fludase® (DAS181), uma proteína recombinante com atividade sialidásica que cliva os receptores de ácido siálico na superfície celular impedindo a ligação do vírus da gripe, o favipiravir (T-705) que inibe a polimerase viral e o nitazoxanide que atua na glicosilação terminal da proteína HA e prejudica seu transporte até a superfície celular (Figura 18). Também são novas perspectivas para tratamento da enfermidade os inibidores de hemaglutinina (anticorpos amplamente neutralizantes ou pequenas moléculas), inibidores de nucleoproteínas, novos inibidores da polimerase viral, uso de RNA de interferência, terapia imunomodulatória e possíveis terapias combinadas (WEBSTER e GOVORKOVA, 2014; SANTOS *et al.*, 2015; NAESENS *et al.*, 2016).

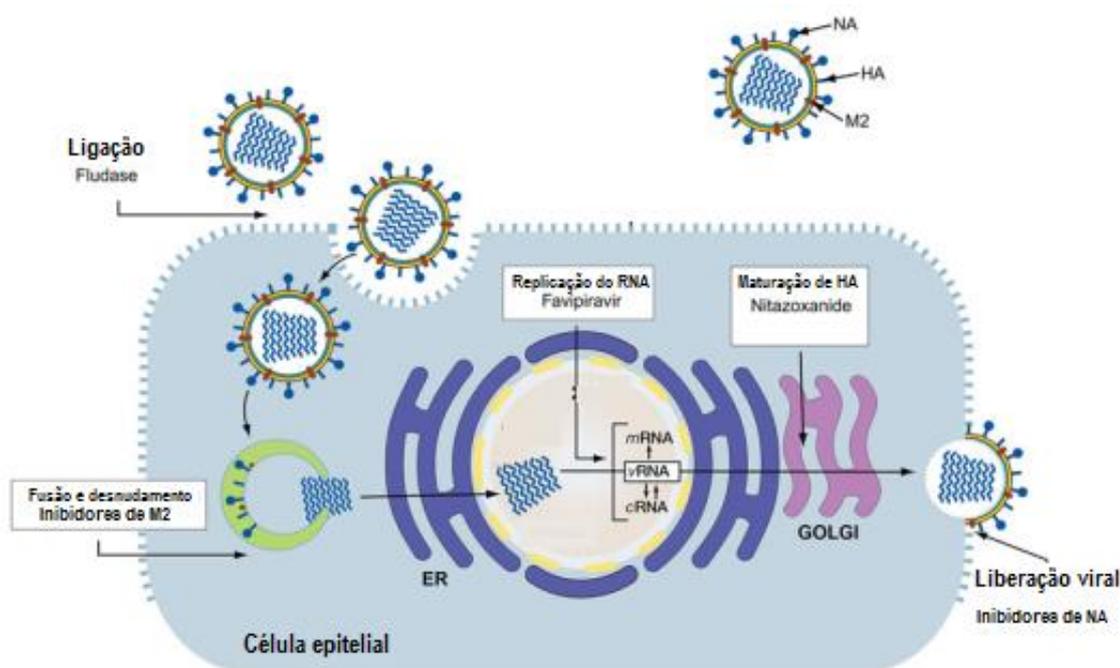


Figura 18: Ciclo de multiplicação do vírus *Influenza A* e os fármacos utilizados para tratamento. São destacadas as fases do ciclo de multiplicação viral do *Influenza A* e os antivirais que atuam em cada etapa impedindo que o ciclo se complete (WEBSTER e GOVORKOVA, 2014).

O tratamento com os antivirais contra influenza pode ocasionar alguns efeitos colaterais como: náuseas, vômitos, tontura, tosse, diarreia, cefaleia e de forma menos frequente efeitos colaterais comportamentais. A administração correta dos medicamentos pode facilitar a resolução dos sintomas e reduzir o tempo da doença

em até 2 dias, além de prevenir complicações graves, como pneumonia e internação hospitalar (CDC, 2016).

4.9 Vacinação e Prevenção

Uma das medidas mais eficazes para a prevenção da infecção por influenza é a vacinação, porém devido à alta taxa de mutação observada no vírus *Influenza A* o controle da doença através da imunização tem suas limitações. As vacinas disponíveis apresentam uma imunidade estreita e específica à linhagem circulante, o processo de produção anual de novas vacinas é complexo e demanda um monitoramento global das amostras sazonais circulantes, além do fato da efetividade das vacinas não ser a mesma em toda população (KRAMMER, 2015; SANTOS *et al.*, 2015).

Normalmente, a vacina sazonal contra a influenza é trivalente, sendo constituída de duas linhagens do vírus *Influenza A* (H1N1 e H3N2) e uma linhagem do vírus *Influenza B*. Anualmente, a OMS recomenda a composição da vacina com base nas informações epidemiológicas fornecidas por seus laboratórios de referência para influenza espalhados em todo o mundo e na previsão de quais serão as linhagens mais propensas a circular na próxima temporada de gripe. Nas Américas, para o hemisfério sul as recomendações são disponibilizadas em setembro, e no hemisfério norte em fevereiro, já que a vacinação deve ser feita antes do início do inverno e demanda cerca de 6 a 8 meses para produção (NOH e KIM, 2013; WHO, 2016; SANTOS *et al.*, 2015).

As vacinas trivalentes disponíveis para uso atualmente são vacinas de influenza inativadas (IIVs) ou vacinas vivas atenuadas de influenza (LAIVs). Também, devido à circulação de duas linhagens do vírus *Influenza B* desde o ano de 1985, já foi recomendada pela OMS o uso de vacinas quadrivalentes (QIV), as quais possuem duas linhagens de *Influenza A* e duas linhagens de *Influenza B* (SOEMA *et al.*, 2015; NOH e KIM, 2013).

As vacinas inativadas podem ser de quatro tipos: vírus integral (*whole virus - WV*), vacinas de subvirions, vacinas de subunidades (glicoproteínas de superfície) e virossomas (FIG.19). Todas essas preparações são eficazes, seguras e são administradas por via parenteral, preferencialmente via intramuscular. Entretanto, a eficácia da vacinação pode variar de acordo com fatores do hospedeiro como idade e presença de outras enfermidades, além do grau de correspondência antigênica

observada entre a vacina e os vírus circulantes (NOH e KIM, 2013; BROOKS *et al.*, 2014; MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2014; SOEMA *et al.*, 2015).

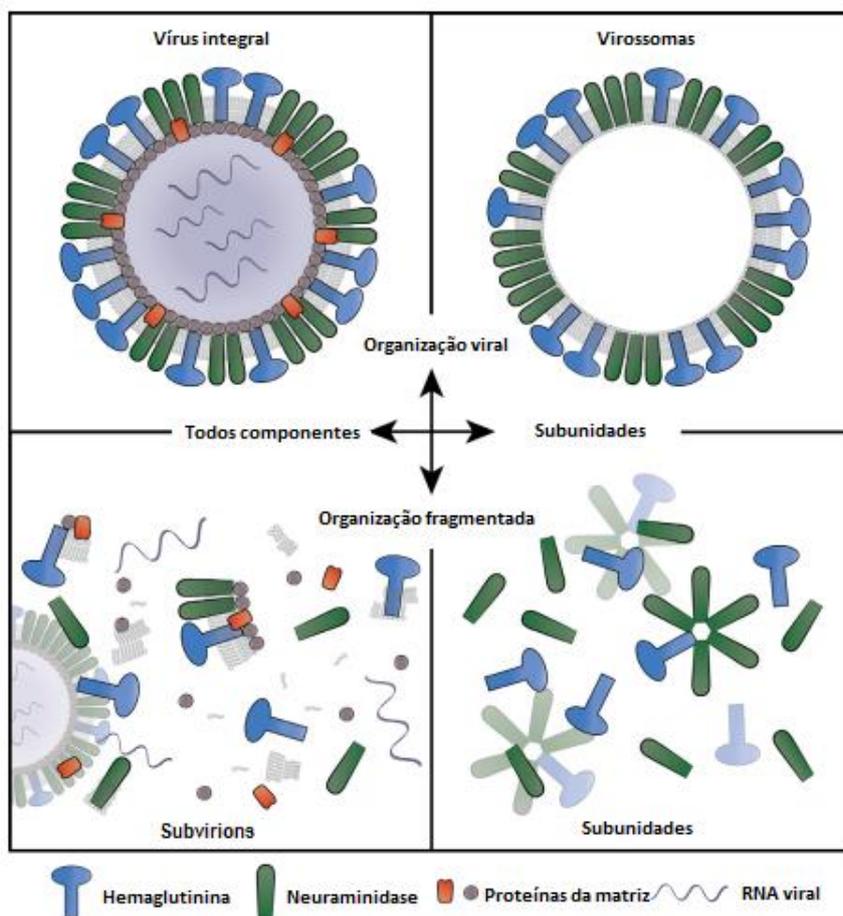


Figura 19: Tipos de vacinas inativadas contra *Influenza A*. A – Vacina constituída pela partícula viral integral. B – Vacinas de virossomas. C - Vacinas de subvirions. D - Vacinas de subunidades (SOEMA *et al.*, 2015).

As vacinas atenuadas são administradas pela via intranasal e assim reproduzem a rota de infecção do vírus. Após a aplicação das LAIVs os vírus atenuados replicam-se nas células epiteliais da nasofaringe e induzem uma resposta imune IgA específica e mais robusta contra a influenza. As LAIVs são bastante sensíveis à temperatura e foram licenciadas para uso pela primeira vez nos Estados Unidos no ano de 2003, sendo atualmente recomendadas para uso em crianças e adultos nas idades entre 2 e 49 anos, mas não para mulheres grávidas e grupos de risco para a doença (AMBROSE *et al.*, 2012; NOH e KIM, 2013; BROOKS *et al.*, 2014; SOEMA *et al.*, 2015).

As vacinas contra influenza atuais induzem anticorpos neutralizantes contra as proteínas de superfície da partícula viral, a hemaglutinina e neuraminidase, e são

produzidas principalmente em técnicas que utilizam ovos embrionados. Uma vez que a produção em ovos embrionados demanda o fornecimento de ovos de qualidade, esse meio de produção pode não ser suficiente para suprir eventos de pandemia e alternativas de produção de vacinas são o uso de culturas celulares, proteínas recombinantes e vacinas sintéticas (BROOKS *et al.*, 2014; SOEMA *et al.*, 2015; KRAMMER, 2015).

No Brasil, o Ministério da Saúde promove a cada ano a Campanha Nacional de Vacinação contra Influenza, na qual a vacina inativada é disponibilizada para grupos prioritários com propensão para complicações como: crianças com idade acima de 6 meses e até 5 anos, gestantes e puérperas, trabalhadores da saúde, indivíduos com mais de 60 anos, portadores de doenças crônicas não transmissíveis e com condições clínicas especiais (transplantados, imunodeprimidos), povos indígenas e indivíduos privados de liberdade. As contraindicações são para menores de 6 meses de idade, indivíduos com história de alergia a proteína de ovo e indivíduos que apresentaram hipersensibilidade imediata após o recebimento de doses anteriores. A recomendação é de uma dose da vacina em primovacinados, sendo uma dose a cada ano subsequente e para crianças de 6 meses e menores de 9 anos vacinadas pela primeira vez devem ser administradas duas doses. Podem ocorrer eventos adversos pós-vacinação como dor e sensibilidade no local da vacina, além de manifestações como febre, mal-estar e mialgia mais comuns em crianças, pelo fato dessas geralmente não apresentarem contato anterior com os antígenos vacinais. Outros efeitos sistêmicos graves são extremamente raros e não comprovados na literatura (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2014; BROOKS *et al.*, 2014; SANTOS *et al.*, 2015).

A composição da vacina recomendada pela OMS para a temporada de 2016-2017 no hemisfério norte é o uso de vacina trivalente com as seguintes linhagens: A/California/7/2009 (H1N1), A/Hong Kong/4801/2014 (H3N2) e B/ Brisbane/60/2008. Para vacinas quadrivalentes recomenda-se a adição do vírus B / Phuket / 3073/2013. Já para a vacina trivalente recomendada para a temporada 2017 de gripe no hemisfério sul a composição é: A/Michigan/ 45/2015 (H1N1); A / Hong Kong / 4801/2014 (H3N2) e B / Brisbane / 60/2008, na vacina quadrivalente acrescenta-se também o B/Phuket/3073/2013 (WHO, 2016).

Diante do elevado potencial pandêmico do vírus *Influenza A* e da presença de linhagens altamente patogênicas é notável a preocupação com o surgimento de novas pandemias na população humana a qualquer momento. Assim é fundamental a

necessidade de medidas de prevenção, e uma das alternativas é a pesquisa de vacinas pandêmicas. Porém, um obstáculo para as vacinas pandêmicas é o tempo extenso entre a identificação da amostra viral e a produção e distribuição da vacina, além do fato de que após a vacinação são necessárias aproximadamente 2 semanas para a consolidação da resposta imune protetora (SOEMA *et al.*, 2015; KRAMMER, 2015).

Embora as vacinas atuais apresentem efeito moderado, boa segurança e tolerabilidade aceitável é necessário o contínuo monitoramento epidemiológico e o avanço tecnológico para melhorar a imunização de toda a população e garantir respostas rápidas às possíveis pandemias evitando os altos índices de morbidade e mortalidade (NOH e KIM, 2013).

Tendo em vista a fácil transmissão por inalação de aerossóis e por gotículas, o Ministério da Saúde (2014) recomenda outras medidas de prevenção contra a infecção por influenza, tais como: a higienização correta e frequente das mãos; o ato de cobrir o nariz e a boca ao espirrar e tossir; a higienização das mãos após a tosse e espirros com água e sabão ou álcool gel; não compartilhar objetos de uso pessoal como copos, garrafas e talheres; evitar contato próximo com pessoas que apresentem sintomas da doença; evitar sair de casa durante o período de transmissão da doença e evitar aglomerações e ambientes pouco ventilados.

4.10 Diagnóstico Laboratorial

O diagnóstico de influenza depende da investigação clínico- epidemiológica e da realização de exames laboratoriais, uma vez que o quadro clínico inicial apresentado pela enfermidade pode ser causado por muitas outras infecções, e é denominado como Síndrome Gripal (SG) (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2014; VAN ZYL, 2006).

As principais amostras respiratórias escolhidas para o isolamento viral e diagnóstico de influenza são as secreções de nasofaringe (SNF), os lavados ou aspirados nasais, swab de garganta e aspirados do sistema respiratório. No entanto, o Ministério da Saúde preconiza as secreções de nasofaringe por apresentarem melhor rendimento quando comparadas aos esfregaços nasais ou de garganta. A coleta de amostras clínicas deve ser realizada na fase aguda da doença, dentro de 3-

4 dias após o aparecimento dos sintomas (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2014; SANTOS *et al.*, 2015; CDC, 2016).

Para o diagnóstico de influenza em humanos os principais testes disponíveis são: testes sorológicos que detectam a presença de anticorpos contra o vírus, são exemplos a inibição da hemaglutinação, ELISA, fixação de complemento e Western blotting; ensaios de imunofluorescência e testes moleculares como a reação em cadeia da polimerase com transcriptase reversa (RT-PCR) que detecta o material genético do vírus, além de testes rápidos específicos para a gripe. Vale ressaltar ainda, a técnica de cultura viral (cultura em ovos embrionados ou linhagens celulares como MDCK (células Madin-Darby de rim de cão), células do rim de macaco rhesus (LLC MK2) ou células renais primárias de macaco) que é amplamente utilizada para o isolamento viral, mas também pode ser empregada para a detecção do vírus (CDC, 2016; VEMULA *et al.*, 2016).

De acordo com o Ministério da Saúde (2014), o teste de escolha para o diagnóstico de influenza deve ser a RT-PCR, mas também é recomendado o teste de imunofluorescência indireta (IFI) em laboratórios deficientes de técnicas de biologia molecular. O teste de IFI baseia-se na detecção de antígenos dos vírus influenza A e B e de outros vírus respiratórios de importância clínica. O teste apresenta sensibilidade moderada e alta especificidade. A RT-PCR é a técnica mais utilizada em todo o mundo para detecção do vírus da gripe. Essa preferência pode ser explicada pela rapidez apresentada (1-8 horas), alta sensibilidade e especificidade, podendo diferenciar os vírus *Influenza A* e B e identificar diferentes subtipos de vírus *Influenza A* (CDC, 2016; VEMULA *et al.*, 2016).

Entretanto, também podem ser utilizados outros testes moleculares e tecnologias de sequenciamento para complementar o diagnóstico para gripe. Além dessas técnicas já apresentadas, os testes rápidos são uma importante ferramenta para facilitar o reconhecimento precoce da doença em situações de surto e para uso em locais remotos sem acesso à laboratórios. Os testes rápidos comerciais para diagnóstico da gripe, baseiam-se na detecção do antígeno viral. Por meio desses testes é possível detectar a presença do vírus *Influenza* em menos de 30 minutos e os resultados são observados principalmente através de mudanças colorimétricas. Os testes rápidos apresentam moderada sensibilidade e alta especificidade, porém não são capazes de identificar os subtipos de vírus *Influenza A*, e devido a menor

sensibilidade apresentada os resultados falsos negativos devem ser confirmados utilizando-se outros testes (WHO, 2011; CDC, 2016; VEMULA *et al.*, 2016).

No Brasil, existe uma rede de laboratórios credenciados pela OMS como centros de referência para vírus respiratórios e influenza e esses atuam como parte da rede global de vigilância da influenza. São três laboratórios credenciados, dois de referência regional: o Instituto Adolfo Lutz, em São Paulo, e o Instituto Evandro Chagas, em Belém e um de referência nacional a Fundação Oswaldo Cruz (Fiocruz), no Rio de Janeiro. Associados a esses centros de referência existem os laboratórios de nível estadual denominados Laboratórios Centrais de Saúde Pública (LACEN), os quais são responsáveis pelos exames iniciais. São competências dos laboratórios credenciados a OMS a realização de exames complementares visando a caracterização antigênica e genética das amostras de vírus isoladas, a identificação de tipos e subtipos de vírus *Influenza*, o monitoramento de resistência a antivirais dos vírus circulantes, a análise para estabelecer a relação entre os vírus circulantes nas diversas regiões do país e os padrões mundiais. Além disso, são responsáveis por identificar de forma antecipada a presença de novos tipos e subtipos virais e em divulgar informações epidemiológicas e filogenéticas acerca dos vírus *Influenza* circulantes no Brasil a cada ano. Caso ainda se mostre necessária a caracterização complementar para influenza, as amostras virais devem ser enviadas pelos laboratórios de referência nacional para laboratório de referência das Américas o *Centers for Disease Control and Prevention* (CDC) (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2014; SANTOS *et al.*, 2015; MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2016).

O diagnóstico diferencial de influenza deve seguir alguns padrões, como apresentado na figura 20, uma vez que a infecção por *Influenza* exibe sintomas sistêmicos mais intensos, mas tem um quadro clínico semelhante a outros vírus respiratórios como rinovírus, parainfluenza, adenovírus, coronavírus e vírus sincicial respiratório, que também podem circular ao mesmo tempo que o *Influenza* (Ministério da Saúde, 2014).

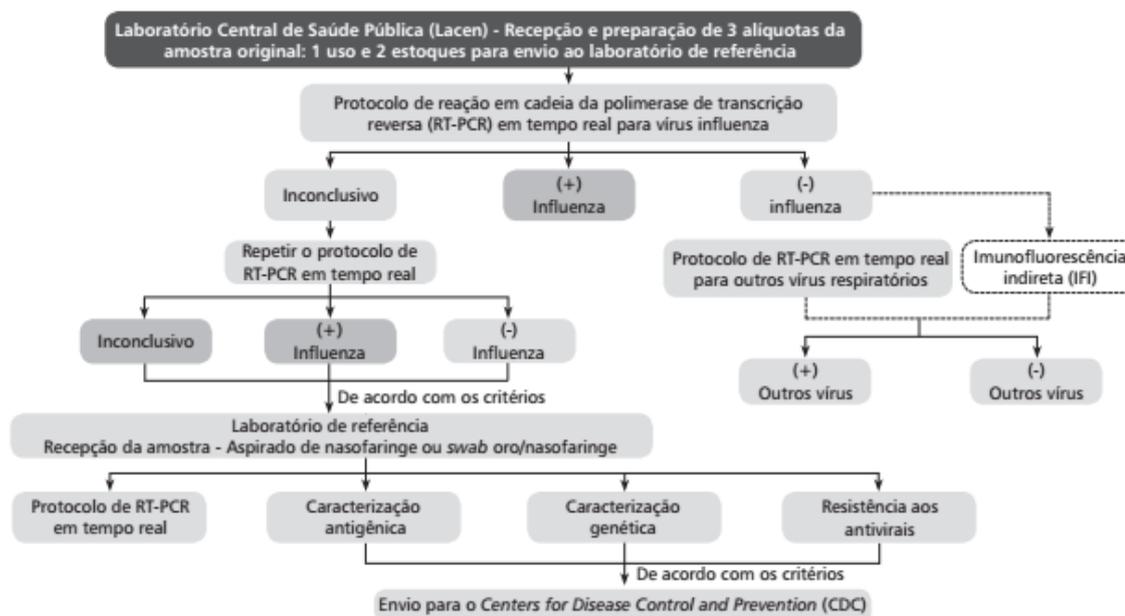


Figura 20: Fluxograma das etapas de diagnóstico laboratorial necessárias para a identificação correta do vírus *Influenza A* e outros vírus respiratórios (Ministério da Saúde, 2014).

Dessa forma, o diagnóstico laboratorial de influenza é de fundamental importância para a saúde pública auxiliando na prevenção, controle, vigilância e na administração adequada da terapia antiviral nos pacientes. As técnicas diagnósticas que apresentam rápida detecção e elevada acurácia são necessárias para identificação de novas variantes virais e contribuem para controlar de forma mais eficiente as infecções sazonais e pandêmicas (MELLO, 2010; VEMULA *et al.*, 2016).

V. CONSIDERAÇÕES FINAIS

De acordo com o que foi exposto nesse trabalho, é possível afirmar que a influenza está entre as infecções que mais causam mortalidade e morbidade no mundo atual e que a cada ano essa infecção afeta indivíduos de todas as faixas etárias em todo o mundo.

Os vírus *Influenza A* são motivo de constante atenção mundial devido a permanente possibilidade do vírus de transpor a barreira de espécies, o que acarretaria na emergência de novas linhagens pandêmicas na espécie humana. Embora muito se conheça sobre esse patógeno, em situações de pandemia os eventos são quase sempre imprevisíveis e as consequências podem ser catastróficas se o monitoramento global não for efetivo.

Atualmente a principal preocupação mundial é com os surtos persistentes de influenza aviária na Ásia. Esses vírus são potenciais candidatos para a próxima pandemia, particularmente as linhagens H5N1 e H7N9. Quando os IAV aviários são transmitidos para o homem, a maioria dos pacientes acometidos apresenta doença severa com graves complicações e óbitos. Assim, a transmissão incomum desses vírus deve ser acompanhada de perto, com o propósito de identificar as mudanças no vírus e o seu comportamento nos seres humanos.

Não podem ser poupados esforços para a vigilância ao IAV, são necessários mais estudos e investimentos para controlar a disseminação do *Influenza* em períodos epidêmicos e pandêmicos. A pesquisa de novos antivirais e o desenvolvimento de novas tecnologias para a produção de vacinas devem ser incentivados em todos os países. Ademais, é essencial o acesso à informação sobre a doença, o aprimoramento constante do monitoramento e o planejamento antecipado à nível nacional, estadual e local, visando ser possível gerar respostas rápidas e medidas adequadas em situações de emergência ao vírus *Influenza A*.

REFERÊNCIAS

- AMBROSE, C.S.; WU, X.; JONES, T.; MALLORY, R.M. **The role of nasal IgA in children vaccinated with live attenuated influenza vaccine.** *Vaccine*, 30:6794-801, 2012.
- BEHRENS, G.; STOLL, M. **Pathogenesis and Immunology**, chapter 4. In: Kamps, B.S.; Hoffmann, C.; Preiser, W. *Influenza Report 2006*. Flying Publisher, Paris, Cagliari, Wuppertal, Sevilla, 2006.
- BROOKS, G.F.; CARROLL, K.C.; BUTEL, J.S.; MORSE, S.A. JAWETZ, E; MELNICK, J. L; ADELBERG, E. A.: **Microbiologia Médica**, 26ª Ed., ARTMED, 2014.
- CANTARINO, L. MERCHAN-HAMANN, E. **Influenza in Brazil: surveillance pathways.** *J Infect Dev Ctries*, 10(1):013-023, 2016.
- CDC, Centers for Disease Control and Prevention. **Children, the Flu, and the Flu Vaccine.** August 5, 2016. Disponível em: <<https://www.cdc.gov/flu/protect/children.htm>>. Acesso em: 9 de novembro de 2016.
- CDC, Centers for Disease Control and Prevention. **Influenza Signs and Symptoms and the Role of Laboratory Diagnostics.** Disponível em: <https://www.cdc.gov/flu/professionals/diagnosis/labrolesprocedures.htm>>. Acesso em: 27 de outubro de 2016.
- CDC, Centers for Disease Control and Prevention. **Pandemic Influenza.** Disponível em: <<https://www.cdc.gov/flu/pandemic-resources/index.htm>>. Acesso em: 14 de novembro de 2016.
- COMMITTEE ON INFECTIOUS DISEASES. American Academy of Pediatrics. **Influenza.** In: Pickering LK, Baker CJ, Long SS, McMillan JA, eds. *Red Book: 2006 Report of the Committee on Infectious Diseases*. 27th ed. Elk Grove Village, IL: 401-11, 2006.
- COSTA, L.M.C.; MERCHAN-HAMANN, E. **Pandemias de influenza e a estrutura sanitária brasileira: breve histórico e caracterização dos cenários.** *Rev Pan-Amaz Saude*, 7(1):11-25, 2016.
- DAWOOD, F.S et al. **Estimated global mortality associated with the first 12 months of 2009 pandemic influenza A H1N1 virus circulation: a modelling study.** *The Lancet*, Volume 12, No. 9, p687–695, September 2012.
- DE CLERCQ, E. **Antiviral drugs in current clinical use.** *J. Clin. Virol.* 30, 115–133, 2004.
- EISFELD, A.J.; NEUMANN, G.; KAWAOKA, Y. **At the centre: influenza A virus ribonucleoproteins.** *Nature Reviews Microbiology*, November, 2014.

FORREST, H.L.; WEBSTER, R.G. **Perspectives on influenza evolution and the role of research.** *Animal Health Research Reviews* 11(1); 3–18, 2010.

FUKUYAMA, S.; KAWAOKA, Y. **The pathogenesis of influenza virus infections: the contributions of virus and host factors.** *Current Opinion in Immunology*, 23:481–486,2011.

GAO, R.; CAO, B.; HU, Y.; FENG, Z.; WANG, D.; HU, W.; et al. **Human infection with a novel avian-origin influenza A (H7N9) virus.** *N Engl J Med*; 368: 1888–97, 2013.

GAYMARD, A.; LE BRIAND, N.; FROBERT, E.; LINA B.; ESCURET, V. **Functional balance between Neuraminidase and Hemagglutinin in influenza viruses.** *Clinical Microbiology and Infection*, 2016.

GHEBREHEWET, S.; MACPHERSON, P.; HO, A. **Influenza.** *Clinical updates, BMJ*, 355, December 2016.

HORIMOTO, T. & KAWAOKA, Y. **Reverse genetics provides direct evidence for a correlation of hemagglutinin cleavability and virulence of an avian influenza A virus.** *J. Virol.* 68, 3120–3128, 1994.

HORIMOTO, T.; KAWAOKA, Y. **Influenza: Lessons from past pandemics, warnings from current incidents.** *Nature reviews, microbiology*, vol.3, august, 2005.

ICTV, **International Committee on Taxonomy of Viruses**, 2015. Disponível em: <http://ictvonline.org/taxonomyHistory.asp?taxnode_id=20153227&taxa_name=Influenza%20A%20virus>. Acesso em: 15 de dezembro de 2016.

IWASAKI, A.; PILLAI, P.S. **Innate immunity to influenza virus infection.** *Nature Reviews*, volume 14, may 2014.

JAGADESH, A.; SALAM, A.A.A.; MUDGAL, P.P.; ARUNKUMAR, G. **Influenza virus neuraminidase (NA): a target for antivirals and vaccines.** *Arch Virology*, Springer, 2016.

JERNIGAN, D.B.; COX, N.J. **“Human influenza: One Health, One World.”** In *Textbook of Influenza*, 2nd ed. R.G. Webster, A.S. Monto, T.J. Braciale & R.A. Lamb, Eds.: 3–19. West Sussex: John Wiley and Sons, 2013.

JOHNSON, N.P.; MUELLER, J. **Updating the accounts: global mortality of the 1918-1920 “Spanish” influenza pandemic.** *Bull. Hist. Med.* 76, 105–115, 2002.

KALTHOFF, D.; GLOBIG, A.; BEER, M. **(Highly pathogenic) avian influenza as a zoonotic agent.** *Veterinary Microbiology*, 140, 237–245, 2010.

KILBOURNE, E.D. **Influenza Pandemics of the 20th Century.** *Emerging Infectious Diseases*, Vol. 12, No. 1, janeiro, 2006.

KRAMMER, F.; PALESE, P. **Advances in the development of influenza virus vaccines.** Nature reviews, Drug discovery, volume 14 , march 2015.

KUIKEN, T; RITEAU, B.; FOUCHIER, R.; RIMMELZWAAN, G.F. **Pathogenesis of influenza virus infections: the good, the bad and the ugly.** Current Opinion in Virology, 2:276–286, 2012.

LINA, B. **History of Influenza Pandemics.** Paleomicrobiology: Past Human Infections, Chapter 12, Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 2008.

LIU, Q.; LIU, DONG-YING.; YANG, ZHAN-QIU. **Characteristics of human infection with avian influenza viruses and development of new antiviral agents.** Acta Pharmacologica Sinica, vol 34: 1257–1269, 2013.

MATSUOKA, Y. et al. **A comprehensive map of the influenza A virus replication cycle.** BioMed Central, Systems Biology, 7:97,2013.

MCAULEY, J.L. et al. **Expression of the 1918 influenza A virus PB1 F2 enhances the pathogenesis of viral and secondary bacterial pneumonia.** Cell Host Microbe 2, 240–249, 2007.

MCHARDY, A.L.; ADAMS, B. **The Role of Genomics in Tracking the Evolution of Influenza A Virus.** PLoS Pathog, vol. 5(10): e1000566, October 2009.

MEDINA, R.A.; García-Sastre, A. **Influenza A viruses: new research developments.** Nature reviews, Microbiology, Vol. 9, august, 2011.

MELLO, W.A. **O papel do diagnóstico laboratorial da influenza.** Revista Pan-Amaz Saúde, 1(1):191-193, 2010.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Guia de Vigilância em Saúde.** Volume único, Brasília, 812 p., Secretaria de Vigilância em Saúde, Brasil, 2014.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Influenza.** Portal da Saúde, 2016. Disponível em: <<http://portalsaude.saude.gov.br/index.php/oministerio/principal/secretarias/svs/influenza>> Acesso em: 22 de novembro de 2016.

MOSCONA, A.M.D.; **Neuraminidase Inhibitors for Influenza.** The new england journal of medicine, September, 2005.

MURRAY, P.R.; ROSENTHAL, K.S.; PFALLER, M.A. **Microbiologia Médica.** Elsevier, 7ª edição, Rio de Janeiro, 2014.

NAESENS, L.; STEVAERT, A.; VANDERLINDEN, E. **Antiviral therapies on the horizon for influenza.** Current Opinion in Pharmacology, 30:106–115, 2016.

NEUMANN, G.; KAWAOKA, Y. **The first influenza pandemic of the new millennium.** Influenza and Other Respiratory Viruses, 5(3), 157–166, 2011.

NEUMANN, G.; NODA, T.; KAWAOKA, Y. **Emergence and pandemic potential of swine-origin H1N1 influenza virus.** Nature, June, 18;459(7249):931-9, 2009.

NICHOLSON, K. G.; WOOD, J. M.; ZAMBON, M. **Influenza.** The Lancet, vol 362: 1733–45, November, 2003.

NOH, J.Y.; KIM, W.J. **Influenza Vaccines: Unmet Needs and Recent Developments.** Infect Chemotherapy, 45(4):375-386, 2013.

OZAWA, M.; KAWAOKA, Y. **Cross Talk Between Animal and Human Influenza Viruses.** The Annual Review of Animal Biosciences, 1:21–42, 2013.

PEIRIS, J.S.; POON, L.L.; GUAN, Y. **Emergence of a novel swine-origin influenza A virus (S-OIV) H1N1 virus in humans.** J Clin Virol, 45:169–73, 2009.

PLESCHKA, S. **Overview of Influenza Viruses.** Swine Influenza. Current Topics in Microbiology and Immunology, Volume 370, pp 1-20, 2013.

POTTER, C.W. **A history of influenza.** The Society for Applied Microbiology, Journal of Applied Microbiology, 91, 572–579, 2001.

PYLE, G.F. **The Diffusion of Influenza: Patterns and Paradigms.** New Jersey: Rowan & Littlefield, 1986.

REID, A.H.; TAUBENBERGER, J.K. **The origin of the 1918 pandemic influenza virus: a continuing enigma.** Journal of General Virology, 84: 2285–2292, 2003.

RUSSELL, C.A et al. **The Global Circulation of Seasonal Influenza A (H3N2) Viruses.** Science vol. 320, 340, 2008.

SAMJI, T. **Influenza A: Understanding the Viral Life Cycle.** Yale Journal of Biology and Medicine, 82, pp.153-159, 2009.

SANTOS, N.S.O.; ROMANOS, M.T.V.; WIGG, M.D. **Virologia Humana**, 3ª Ed., Rio de Janeiro, Guanabara Koogan, 2015.

SES/MG, Secretaria de Estado de Saúde de Minas Gerais. **Informe Epidemiológico, Influenza: Monitoramento até a Semana Epidemiológica 50 de 2016.** Disponível em:

<http://www.saude.mg.gov.br/images/noticias_e_eventos/000_2016/4-nov-dez/Informe%20Epidemiologico_Influenza%20SE%2050.pdf>. Acesso em: 19 de dezembro de 2016.

SHAW, M.L.; PALESE, P. **Orthomyxoviridae.** In: KNIPE, D.M.; HOWLEY P.M.; COHEN, J.I.; GRIFFIN D.E.; LAMB R.A.; MARTIN, M.A.; RACANIELLO, V.R.; ROIZMAN, B. editors. Fields Virology. 6th ed. Volume 1, Lippincott Williams & Wilkins; Philadelphia, USA, 2013.

SOEMA, P.C.; KOMPIER, R.; AMORIJ, J.P.; KERSTEN, G.F.A. **Current and next generation influenza vaccines: Formulation and production strategies.** European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics, 94, 251–263, 2015.

SOORYANARAIN, H.; ELANKUMARAN, S. **Environmental Role in Influenza Virus Outbreaks.** Annual Review of Animal Biosciences, 3:16.1–16.27, 2015.

STUDAHL, M. **Influenza virus and CNS manifestations.** Journal of Clinical Virology, 28:225–32, 2003.

SUBBARAO, K.; JOSEPH, T. **Scientific barriers to developing vaccines against avian influenza viruses.** Nature Reviews, immunology, volume 7, april 2007.

SVS, Secretaria de Vigilância em Saúde. **Influenza: Monitoramento até a Semana Epidemiológica 52 de 2015.** Ministério da Saúde. Disponível em: <http://portalsaude.saude.gov.br/images/pdf/2016/marco/04/Boletim-Epidemiol--gico-Influenza-SE52-2015-completo.pdf>. Acesso em: 13 de dezembro de 2016.

SVS, Secretaria de Vigilância em Saúde. **Influenza: Monitoramento até a Semana Epidemiológica 48 de 2016.** Ministério da Saúde. Disponível em: <http://portalsaude.saude.gov.br/images/pdf/2016/dezembro/09/Informe-Epidemiologico-Influenza-2016-SE-48.pdf>. Acesso em: 13 de dezembro de 2016.

SVS, Secretaria de Vigilância em Saúde. **Influenza: Monitoramento até a Semana Epidemiológica 53 de 2014.** Ministério da Saúde. Disponível em: <http://portalsaude.saude.gov.br/images/pdf/2015/fevereiro/06/BoletimEpidemiol--gico-Influenza-SE53-2014.pdf>. Acesso em: 13 de dezembro de 2016.

SVS, Secretaria de Vigilância em Saúde. **Influenza: Monitoramento até a Semana Epidemiológica 52 de 2013.** Ministério da Saúde. Disponível em: <http://portalsaude.saude.gov.br/images/pdf/2014/maio/22/boletim-influenza-se52de2013-220514.pdf>. Acesso em: 13 de dezembro de 2016.

SVS, Secretaria de Vigilância em Saúde. **Informe técnico de Influenza.** Ministério da Saúde, Edição nº1, janeiro de 2012. Disponível em: <http://portalsaude.saude.gov.br/index.php/situacao-epidemiologica-dados-influenza>. Acesso em: 13 de dezembro de 2016.

TANNER, W.D.; TOTH, D.J.; GUNDLAPALLI, A.V. **The pandemic potential of avian influenza A(H7N9) virus: a review.** Epidemiol. Infect. 143, 3359–3374, Cambridge University, 2015.

TAUBENBERGER, J.K.; KASH, J.C. **Influenza Virus Evolution, Host Adaptation, and Pandemic Formation.** Cell Host & Microbe 7, June 17, 2010.

TAUBENBERGER, J.K.; MORENS, D.M. **Pandemic influenza—including a risk assessment of H5N1.** Rev. Sci. Tech. 28, 187–202, 2009.

TAUBENBERGER, J.K.; REID, A.H.; KRAFFT, A.E, et al. **Initial genetic characterization of the 1918 “Spanish” influenza virus.** Science; 275:1793–1796, 1997.

TAUBENBERGER, J.K.; REID, A.H.; LOURENS, R.M.; WANG, R.; JIN, G.; FANNING, T.G. **Characterization of the 1918 influenza virus polymerase genes.** Nature 437, 889–893, 2005.

TE VELTHUIS, A.J.; FODOR, E. **Influenza virus RNA polymerase: insights into the mechanisms of viral RNA synthesis.** Nat Rev Microbiol, 14:479-493, 2016.

TONG S, LI Y, RIVAILLER P, CONRARDY C, CASTILLO DA, et al. 2012. **A distinct lineage of influenza A virus from bats.** Proc. Natl. Acad. Sci. USA 109:4269–74.

VAN DER VRIES, E.; SCHUTTEN, M.; FRAAIJ, P.; BOUCHER, C.; OSTERHAUS, A. **Influenza virus resistance to antiviral therapy.** Adv. Pharmacol. 67, 217–246, 2013.

VAN ZYL, G. **Laboratory Findings**, chapter 7. In: Kamps, B.S.; Hoffmann, C.; Preiser, W. Influenza Report 2006. Flying Publisher, Paris, Cagliari, Wuppertal, Sevilla, 2006.

VEMULA, S.V.; ZHAO, J.; Liu, J.; Wang, X.; Biswas, S.; Hewlett, I. **Current Approaches for Diagnosis of Influenza Virus Infections in Humans.** Viruses, MDPI, 8, 96, 2016.

WARREN-GASH, C.; SMEETH, L.; HAYWARD, A.C. **Influenza as a trigger for acute myocardial infarction or death from cardiovascular disease: a systematic review.** Lancet Infect Dis 9:601–10, 2009.

WATANABE, Y.; IBRAHIM, M.S.; SUZUKI, Y.; IKUTA, K. **The changing nature of avian influenza A virus (H5N1).** Trends in Microbiology, Vol. 20, No. 1, janeiro, 2012.

WEBSTER, R.G.; GOVORKOVA, E. A. **Continuing challenges in influenza.** Annals of the New York academy of sciences, 1323: 115–139, 2014.

WHO, World Health Organization. **FluNet Summary, Real-time influenza virus circulation (GISRS-FluNet).** Disponível em: <http://www.who.int/influenza/gisrs_laboratory/updates/summaryreport/en/>. Acesso em: 7 de dezembro de 2016.

WHO, World Health Organization. Influenza (Seasonal) Fact sheet. Disponível em: <<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs211/en/>> Acesso em: 20 de novembro de 2016.

WHO, World Health Organization. Programmes and projects. **Immunization, vaccines and biologicals: influenza.** 2008. Disponível em: <<http://www.who.int/immunization/topics/influenza/en/index.html>>. Acesso em: 13 novembro de 2012.

WHO, World Health Organization. **WHO recommendations on the composition of influenza virus vaccines.** Disponível em:

<http://www.who.int/influenza/vaccines/virus/recommendations/en/>> Acesso em: 27 de outubro de 2016.

WHO. **Global Influenza Surveillance Network - Manual for the laboratory diagnosis and virological surveillance of influenza.** World Health Organization, 2011.

WHO. **Influenza virus infections in humans.** World Health Organization, February 2014.

WRIGHT, P.F.; NEUMANN, G.; KAWAOKA, Y. **Orthomyxoviruses.** In: KNIPE, D.M.; HOWLEY P.M.; COHEN, J.I.; GRIFFIN D.E.; LAMB R.A.; MARTIN, M.A.; RACANIELLO, V.R.; ROIZMAN, B. editors. *Fields Virology*. 6th ed. Volume 1, Lippincott Williams & Wilkins; Philadelphia, USA, 2013.

YOON, Sun-Woo.; WEBBY, R.J.; WEBSTER, R.G. **Evolution and Ecology of Influenza A Viruses.** *Current Topics in Microbiology and Immunology*, Springer International Publishing Switzerland, 2014.

ZAMBON, M. **Influenza and other emerging respiratory viruses.** *Medicine*, Jan; 42(1):45-51, 2014.