

INFLUENZA A (H1N1): REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

INFLUENZA A (H1N1): BIBLIOGRAPHIC REVIEW

Ana Paula Tavares Beirigo¹, Isabel da Silva Pereira¹, Patrícia Costa Lima da Silva^{2*}

¹Biomédica. Centro Universitário UNA, Belo Horizonte, Minas Gerais, Brasil.

²Professora Adjunta do Centro Universitário UNA, Belo Horizonte, Minas Gerais, Brasil. Doutora em Genética de Microrganismos, Departamento de Biologia Geral, Universidade Federal de Minas Gerais.

*Endereço para correspondência: Rua do Guajajaras, 175. Centro, CEP: 30180-100, Belo Horizonte, Minas Gerais, Brasil. Email: patricia.c.lima@prof.una.br

RESUMO

A influenza A é uma doença causada pelo vírus H1N1, um vírus RNA fita simples que sofre várias mutações gênicas favorecendo o aparecimento de vários subtipos desse vírus. A transmissão desse vírus é de pessoa para pessoa, por meio da inalação de gotículas respiratórias contendo as partículas virais infectantes. Os principais sintomas apresentados decorrentes da infecção são febre alta, dor muscular, dor de cabeça, tosse e cansaço. O diagnóstico se baseia na cultura a partir do isolamento do vírus em secreções faríngeas e nasais, testes sorológicos, detecção de antígenos virais e reação de cadeia de polimerase (PCR). O principal tratamento se baseia na utilização de antivirais e a principal forma de prevenção são as vacinas, distribuídas nas campanhas de vacinação. O objetivo dessa revisão é abordar a influenza A nos seguintes aspectos: sintomas, agente etiológico, complicações, tratamento, expondo também a situação epidemiológica no Brasil no ano de 2016. As informações contidas neste estudo foram obtidas em bases de dados virtuais, tais como PubMed, MEDLINE, SciELO. De acordo com os dados obtidos, foi possível perceber um aumento no número de casos e de óbitos decorrentes de influenza A durante as 21 primeiras semanas de 2016.

Palavras-Chave: influenza A; vírus H1N1; gripe; pandemia de 2009; oseltamivir.

ABSTRACT

Influenza A is a disease caused by the H1N1 virus, a single-stranded RNA virus that undergoes multiple gene mutations favoring the appearance of several subtypes of this virus. Transmission of this virus is from person to person, by inhalation of respiratory droplets containing the infectious viral particles. The main symptoms presented by the infection are high fever, muscle pain, headache, cough and tiredness. Diagnoses are based on culture from virus isolation in pharyngeal and nasal secretions, serological tests, detection of viral antigens and polymerase chain reaction (PCR). The main treatment is based on the use of antivirals and the main form of prevention is the vaccine, distributed in the vaccination campaigns. The aim of this review is to discourse about influenza A in the following aspects: symptoms, etiologic agent, complications, treatment, and also the epidemiological situation in Brazil in the year 2016. The information contained in this study was obtained from databases such as PubMed, MEDLINE, SciELO. According to the data obtained, it was possible to notice an increase in the number of cases and deaths due to influenza A during the first 21 weeks of 2016.

Key Words: influenza A; H1N1 virus; the flu; pandemic 2009; oseltamivir.

INTRODUÇÃO

A influenza A, é uma infecção viral aguda que acomete o trato respiratório, causada pelo vírus H1N1 de alta

transmissibilidade. Seu modo de transmissão para os seres humanos baseia-se na disseminação de gotículas contendo partículas virais. O vírus causador da doença

apresenta uma fita simples de RNA e é altamente mutagênico, sendo o principal responsável pelos casos de endemias de influenza (1).

A pandemia de influenza A que ocorreu no ano de 2009 foi inicialmente chamada de “gripe suína”, visto que os genes que o constituíam eram semelhantes aos vírus que infectavam os suínos norte-americanos. Essa pandemia teve início no México e em pouco tempo foi observada em várias outras localidades, alertando os países sobre possíveis riscos de disseminação (1).

Nos anos de 2009 a 2010, o Brasil passou por alguns surtos de H1N1 e, atualmente, no ano de 2016, surgiram novos relatos de pessoas infectadas pelo vírus. Os principais sintomas apresentados por pessoas acometidas pela influenza são: febre alta, dor muscular, dor de cabeça, tosse, cansaço e em alguns casos diarreia e vômitos (2).

O controle epidemiológico dos casos de influenza no Brasil é realizado por meio dos sistemas de Vigilância Sentinela da influenza. Cada unidade federativa do país possui sistemas de vigilância sentinela de Síndrome Gripal (SG) e de Síndrome Respiratória Aguda Grave (SRAG) decorrentes de influenza. No ano de 2016, de janeiro a maio, foram contabilizados um total de 764 óbitos por SRAG, causados pelo vírus H1N1 (3).

O objetivo dessa revisão bibliográfica foi abordar a patogenia da influenza A, sinais clínicos, possíveis complicações, terapêutica adequada, situação epidemiológica, esclarecendo também a eficácia dos métodos de prevenção aplicados e o crescente número de novos casos e óbitos registrados no Brasil em 2016.

METODOLOGIA

Este estudo consiste em uma revisão bibliográfica que utilizou como base de dados artigos científicos, livros, monografias, manuais técnicos, dissertações de teses de mestrado e normas técnicas dando ênfase ao tema influenza A (H1N1): sintomas, situação epidemiológica, diagnóstico, tratamento e profilaxia. Os sites de busca utilizados para a seleção dos materiais foram PubMed, MEDLINE, SciELO. O período de busca das informações descritas no presente trabalho teve início no mês de março de

2016 e foi finalizado em dezembro do mesmo ano.

Os critérios de inclusão dos artigos selecionados foram: artigos publicados entre os anos de 1995 e 2016, cujos textos estão *online* e disponíveis na íntegra, e em idioma português, inglês ou espanhol. Artigos cujas datas são anteriores ao ano de 1995 e textos que disponibilizam apenas o resumo não foram utilizados para a confecção deste presente trabalho. A síntese de todo o material obtido está contida nessa revisão bibliográfica.

ORIGEM E HISTÓRIA DO VÍRUS INFLUENZA A

A palavra “*influenza*” foi utilizada pela primeira vez na Itália do século XV, para designar uma pandemia, que segundo os estudiosos da época ocorreu por “*influência das estrelas*”. O primeiro relato descrito de uma pandemia de gripe ocorreu no ano de 1580 e cerca de 4 pandemias ocorreram ao longo do século XIX (4).

No ano de 1918, um surto de gripe que teve início em um acampamento do exército americano no Kansas se alastrou por todo o globo, e estima-se que mais de 20 milhões de pessoas tenham sido dizimadas. Esse evento, chamado de Gripe espanhola ou Gripe de 1918, foi uma das piores pandemias já sofridas pela humanidade (5).

A pandemia de 2009, que teve início no México, foi associada a um vírus de origem suína, o vírus H1N1. Entretanto, a transmissão do vírus H1N1 de seres humanos para suínos tem sido documentada em numerosos países, incluindo aqueles onde o vírus ainda não tinha sido previamente detectado em suínos, tais como a Austrália, Finlândia e Camarões. Já em alguns países da América Latina, tais como Argentina, Brasil e Colômbia, o vírus H1N1 foi identificado em endemias a partir de 2009 em populações de suínos, e tal fato pode ser explicado por causa da transmissão de seres humanos contaminados para as populações de suínos (6).

No Brasil, o vírus influenza A foi encontrado em suínos pela primeira vez em 1974, apesar de uma endemia de influenza A nas populações de suínos acontecer somente após a pandemia de 2009. Atualmente, a população de suínos tem sofrido constantes surtos localizados principalmente nas regiões sul, centro-oeste

e sudeste, proporcionando uma maior possibilidade de transmissão para seres humanos. No ano de 2016 (até o mês de maio), novos surtos de casos de H1N1 surgiram em todos os estados do Brasil, e já foram contabilizados 764 casos de óbitos decorrentes de H1N1 (6, 7).

Com o intuito de melhorar as formas de prevenção e monitorar os casos de influenza no Brasil, o Ministério da Saúde (MS) publicou, no ano de 2011, portarias normatizadoras de repasse de verbas para os 26 estados, Distrito Federal e municípios, nas quais estão descritas normas para adesão e organização do serviço da vigilância da influenza, com especial ênfase para a vigilância sentinela da influenza (7).

A Portaria 2.693 foi publicada em 17 de novembro de 2011 e republicada no ano de 2012 com algumas reformulações e adequações para o serviço. Essa portaria descreve o mecanismo de repasse financeiro do Fundo Nacional de Saúde (FNS) aos Fundos de Saúde do Distrito Federal e de Municípios, por meio do Piso Variável de Vigilância e Promoção da Saúde, para implantar, implementar e fortalecer a Vigilância Epidemiológica da Influenza. O recebimento do incentivo financeiro por parte da Vigilância Epidemiológica da Influenza será por meio de adesão formalizada através de um Termo de Adesão que deverá ser encaminhado à Secretaria de Vigilância em Saúde (SVS) para publicação da autorização de repasse do incentivo (7,8).

Em 30 de janeiro de 2014, houve a publicação da Portaria nº 183, que revoga a Portaria 2.693, mas mantém as orientações técnicas e os repasses financeiros para o serviço sentinela da influenza. A Portaria 183 regulamenta o incentivo financeiro de custeio para implantação e manutenção de ações e serviços públicos estratégicos de vigilância em saúde, tais como: Vigilância Epidemiológica Hospitalar (VEH); Serviço de Verificação de Óbito (SVO); Vigilância Sentinela da Influenza, dentre outros. Entretanto, para habilitar-se ao recebimento de incentivo financeiro de custeio referente às ações e serviços públicos estratégicos de vigilância em saúde, o ente federativo deve seguir uma série de termos e responsabilidades (7,9).

A vigilância nas unidades sentinelas de SG coletam amostras de indivíduos que apresentem os sintomas referentes à

síndrome gripal. São eles: febre acompanhada de tosse ou dor de garganta e início dos sintomas nos últimos 7 dias. É preconizado que sejam coletadas apenas 5 amostras semanais por unidade sentinela. Já a vigilância de SRAG monitora os casos hospitalizados e os casos de óbitos com o objetivo de identificar o comportamento da influenza no país para orientar na tomada de decisão em situações que sejam necessários posicionamentos do Ministério da Saúde e das Secretarias de Saúde Estaduais e Municipais. Os dados são coletados através de formulários padronizados e inseridos nos sistemas de informação *online*: SIVEP-Gripe (Sistema de Informação da Vigilância Epidemiológica da Gripe) e SINAN (Sistema de Informação de Agravos de Notificação) Influenza Web (7).

As unidades de vigilância de SG coletaram 8.245 amostras durante as primeiras 21 semanas de 2016 e 4.564 amostras foram processadas. Desse total, 948 amostras (20,8%) obtiveram resultado positivo para vírus respiratórios. Entre os vírus respiratórios, 746 (78,7%) amostras foram positivas para influenza, sendo que 558 (58,9%) amostras foram decorrentes de influenza A (H1N1). As regiões sul e sudeste foram as que mais apresentaram casos de influenza A (H1N1) coletados pela vigilância sentinela de síndrome gripal (Figura 1) (7).

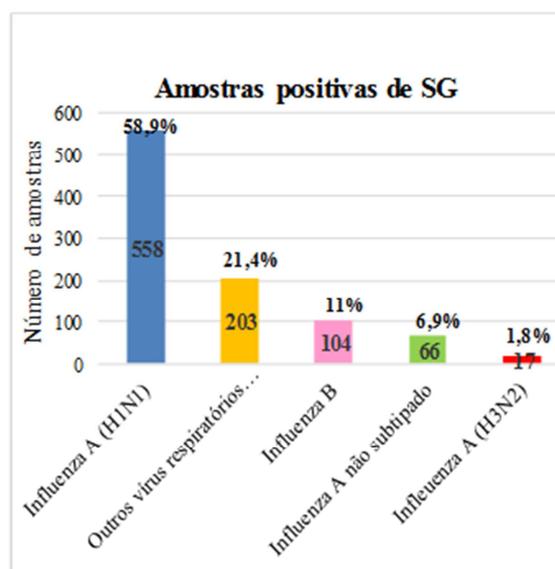


Figura 1. Distribuição das amostras positivas de SG segundo agente etiológico. Brasil, 2016 até a 21ª semana.

As unidades sentinelas de SRAG em UTI realizaram 1.129 coletas, e 558 (49,4%) das amostras coletadas foram processadas.

Desse total, 139 (24,9%) foram positivas para vírus respiratórios, sendo que 86

(61,9%) amostras foram positivas para influenza A (H1N1) (Figura 2) (7).

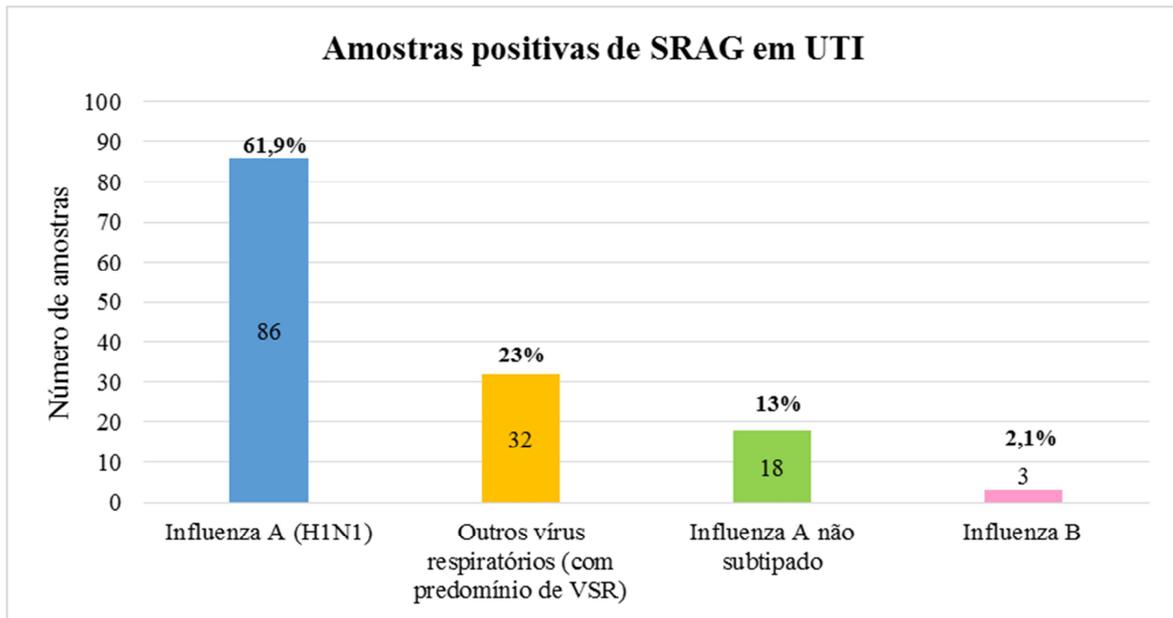


Figura 2. Distribuição das amostras positivas de SRAG em UTI por agente etiológico. Brasil, 2016 até a 21ª semana.

Até a vigésima primeira semana de 2016 (03 de janeiro a 28 de maio de 2016), foram notificados 2.606 óbitos por SRAG. Desse total, cerca de 832 (31,9%) foram causados por influenza, sendo que 764 (91,8%) foram decorrentes de influenza A (H1N1). O estado de São Paulo apresentou o maior número de mortes por influenza,

totalizando 45,7% do país. A mediana de idades foi de 51 anos, apresentando uma variação de 0 a 93 anos. Dos 832 indivíduos que tiveram mortes decorrentes de influenza, 590 (70,9%) apresentaram pelo menos um fator de risco para complicação, tais como cardiopatias, pneumopatias e diabetes (Figura 3) (7).

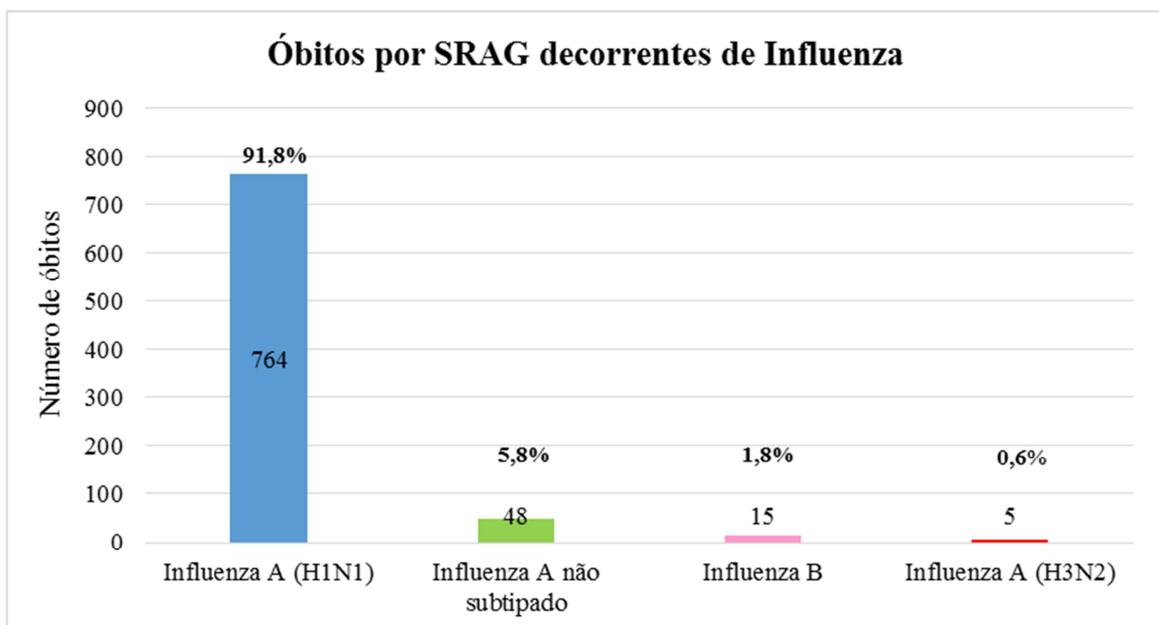


Figura 3. Distribuição do número de óbitos por SRAG decorrentes de Influenza e os vírus Influenza associados. Brasil, 2016 até a 21ª semana.

VÍRUS INFLUENZA A (H1N1)

O vírus influenza A é pertencente à família *Orthomyxoviridae* e é um vírus de RNA

fita simples. Esse vírus sofre várias mutações gênicas favorecendo o aparecimento de vários subtipos desse vírus. Na família dos vírus influenza, o subtipo A é o responsável pelas maiores ocorrências de surtos de gripe (2).

Os vírus influenza A possuem no envoltório proteico duas glicoproteínas: hemaglutinina (HA) e neuraminidase (NA). Essas glicoproteínas são responsáveis por determinar o aspecto do envelope viral, a variação antigênica do vírus e a resposta imune do hospedeiro (2,10).

No envelope viral é possível visualizar as proteínas HA, NA e a proteína M2 (proteína do canal iônico). A M1 (proteína de matriz) encontra-se subjacente ao envelope viral. As proteínas não estruturais do tipo 1 e 2, NS1 e NS2, tem papel importante na inibição das respostas imunes do hospedeiro. As proteínas M e NS possuem associação com o vírus de origem suína. Os segmentos de RNA viral são revestidos com as NP (nucleoproteínas) e estão vinculados ao complexo das polimerases (PB1, PB2 e PA) que são responsáveis pela transcrição e replicação do vírus (11).

A HA é uma proteína situada no envelope do vírus H1N1 e tem sido muito estudada devido sua importância na patogenicidade do vírus e para a resposta imune do paciente. Ela é responsável pela ligação do vírus às células do sistema respiratório através da interação com o ácido siálico, um açúcar presente na membrana celular. A ligação da HA aos receptores celulares induz a entrada do vírus na célula por endocitose. Já foram isolados 15 subtipos de HA e sua variabilidade é o principal fator que gera o aparecimento de novas cepas de influenza (10,11).

A NA (6 subtipos) é responsável pela clivagem do ácido siálico permitindo a disseminação da infecção ao facilitar o acesso da partícula viral às células através da degradação do ácido siálico extracelular e também pela destruição dos receptores da HA na superfície das células, impedindo que as partículas virais permaneçam imobilizadas na superfície das células infectadas. O vírus influenza H1N1 apresenta, em sua superfície viral, a HA do tipo 1 e NA também do tipo 1. A presença das proteínas HA e NA no envelope proteico determinam os subtipos da gripe influenza. Dentre os subtipos de influenza A, os subtipos H1N1 e H3N2 são

os que se encontram em circulação ativa entre humanos (4,10,11).

Após a infecção das células do epitélio respiratório com as partículas virais, tem-se início o ciclo de replicação do vírus influenza. Esse processo começa com a paralisação da síntese de proteínas nas células hospedeiras, favorecendo a tradução dos mRNA virais. A etapa de fixação do vírus ocorre através da ligação do vírus ao ácido siálico presente na superfície celular. As partículas virais serão endocitadas para dentro das células e em seguida o envoltório proteico irá se fundir à membrana celular através do processo de desnudamento (10).

A transcrição viral ocorre no núcleo com a produção de mRNA e proteínas virais necessárias para a replicação. Em seguida, inicia a replicação viral com a produção de novas fitas de RNA do genoma viral. As glicoproteínas HA e NA são produzidas no retículo endoplasmático rugoso e inseridas na membrana plasmática. A NA atua no final do ciclo de replicação viral, removendo os ácidos siálicos das glicoproteínas presentes na membrana celular e no envelope viral, favorecendo a liberação das partículas virais e impedindo, assim, a agregação dos vírions na superfície celular (10).

A natureza fragmentada do material genético do vírus influenza induz altas taxas de mutações durante a replicação. As mutações ocorrem de maneira independente, provocando o aparecimento de novas variantes. Tais variações são consequências de mutações pontuais nos segmentos do genoma viral que resultam em mudanças nos aminoácidos que compõem as glicoproteínas, particularmente, na HA. Variações antigênicas maiores consistem em completa substituição de um ou ambos os segmentos do genoma viral, que controlam a produção de glicoproteínas de superfície, resultante do reagrupamento entre vírus humanos e vírus que infectam animais (12).

Progressão e sintomas da influenza A

A influenza A é transmitida principalmente de pessoa para pessoa através de gotículas respiratórias, contendo partículas virais (mais de 5 micra de diâmetro), que são geradas no ato da tosse ou espirro dos indivíduos infectados. Essas gotículas podem, então, aderir-se às mucosas das vias respiratórias superiores de pessoas suscetíveis que estão próximas de

pessoas infectadas. A transmissão também pode ocorrer através do contato direto ou indireto com secreções respiratórias, como por exemplo, através do contato com superfícies contaminadas pelo vírus. Após o acesso ao sistema respiratório superior, o vírus penetra nas células do epitélio respiratório, na traqueia e brônquios. A replicação viral ocorre, o que resulta na destruição da célula hospedeira. O vírus é eliminado nas secreções respiratórias durante um período de 5 a 10 dias após a infecção (4).

O período de incubação do vírus é normalmente de 2 dias, podendo variar de 1 a 4 dias. A gripe pode variar de infecção assintomática à doença grave. A influenza “clássica” é caracterizada pelo início abrupto de febre, mialgia, dor de garganta, tosse seca e dor de cabeça. A febre, geralmente de 38-39°C, vem acompanhada de prostração. A mialgia pode afetar os músculos dorsais. A tosse pode ser decorrente do processo inflamatório e do excesso de secreção de muco na região orofaríngea. Outros sintomas podem incluir rinorreia, dor de cabeça e sintomas oculares (por exemplo, dor nos olhos e sensibilidade à luz) (4).

Os sintomas sistêmicos e febre geralmente duram de 2 a 3 dias e, em alguns casos raros, mais de 5 dias. Eles podem ser reduzidos por medicamentos como, por exemplo, o ácido acetilsalicílico ou o acetaminofeno (paracetamol). A recuperação é geralmente rápida, mas alguns pacientes podem ter persistente astenia (ausência de força ou energia) durante várias semanas (4).

A complicação mais frequente da gripe é a pneumonia bacteriana secundária, causada, principalmente, pelo *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae*, ou *Staphylococcus aureus*. A pneumonia viral primária da influenza é uma complicação rara, com uma taxa de mortalidade elevada. A síndrome de Reye é uma complicação que ocorre quase exclusivamente em crianças que ingerem altas doses de AAS (ácido acetilsalicílico), principalmente em associação com infecções virais relacionadas aos vírus influenza B, e apresenta-se com vômitos severos e confusão mental que pode evoluir para o coma devido ao inchaço do cérebro. Outras complicações incluem miocardite, agravamento de bronquite

crônica e outras doenças pulmonares crônicas. Os casos de óbitos foram relatados em menos de 1 em cada 1.000 casos. A maioria das mortes ocorre entre pessoas com 65 anos de idade ou mais (10).

Fatores de risco e impactos da gripe

Um aumento na mortalidade normalmente acompanha uma epidemia de gripe. O aumento nos casos de mortalidade não é devido somente à gripe e pneumonia, mas também são decorrentes de complicações cardiopulmonares e outras doenças crônicas que podem ser agravadas pela influenza (4).

O risco de complicações e hospitalizações por gripe são mais elevados entre as pessoas com 65 anos de idade, crianças e pessoas de qualquer idade que apresentem certas condições médicas subjacentes, como asma, diabetes e também episódios de vômito e diarreia. Uma média de mais do que 200.000 hospitalizações por ano estão relacionadas com a gripe, com cerca de 37% ocorrendo em pessoas com menos de 65 anos. O número de hospitalizações aumenta significativamente nos anos em que os surtos de influenza são predominantes. Em lares de idosos, podem ocorrer taxas de mortalidade elevadas (1).

Entre as crianças de 0-4 anos de idade, as taxas de hospitalização têm variado de 100 em 100.000 para crianças saudáveis e de 500 em 100.000 para crianças com condições médicas subjacentes. As taxas de hospitalização para crianças de 2 anos de idade e mais jovens são comparáveis às taxas para pessoas com 65 anos ou mais (4).

As crianças normalmente têm as mais altas taxas de ataque durante surtos comunitários de influenza. Elas também servem como uma fonte principal de transmissão da gripe nas comunidades. A influenza tem um impacto substancial entre as crianças em idade escolar e seus contatos. Esses impactos incluem a ausência escolar, visitas de cuidados médicos e perda de trabalho dos pais (4).

Estudos elaborados recentemente demonstram que muitos dos fatores de risco associados à complicações por influenza sazonal também têm sido encontrados em indivíduos com influenza A (H1N1) admitidos em Unidades de Terapia Intensiva (UTI). Dentre esses fatores destacam-se doenças crônicas, obesidade, condições relacionadas

à imunodepressão, tabagismo e gravidez (13).

Os efeitos da influenza durante a gravidez têm sido notados em pandemias anteriores, observando-se um aumento da mortalidade nesse grupo, comparado ao restante da população. Gestantes têm um risco aumentado para influenza e suas complicações, pois durante a gestação ocorrem alterações no organismo materno, como por exemplo, as mudanças no sistema imune para acomodar o feto em desenvolvimento, diminuindo, portanto, a habilidade desse sistema em combater infecções. Tais alterações são consideradas como possíveis explicações para a susceptibilidade das gestantes a formas graves de influenza A (H1N1) (9). Siston et al. (14) revelaram que a probabilidade para complicações é muito maior entre gestantes portadoras de fatores de predisponentes, obtendo-se um aumento de até 55,3% e 78,3% nos riscos de hospitalização e morte, respectivamente (13, 14).

Indivíduos que apresentem comorbidades (maiores de 60 anos, gravidez, *diabetes mellitus*, doença pulmonar crônica, doença hepática, insuficiência renal crônica, imunossupressão e uso crônico de ácido acetilsalicílico) podem ter agravamento da condição clínica, devido ao fato de o organismo estar sobrecarregado com tais doenças e não conseguir combater de forma eficiente a infecção pelo vírus influenza (15).

Susceptibilidade e imunidade

Em geral, toda a população está susceptível ao vírus influenza, porém, idosos e crianças até dois anos de idade, além de pacientes com comorbidades, podem sofrer maiores complicações. Normalmente a recuperação em adultos saudáveis é rápida. A imunidade é o estado de resistência do organismo associado à presença de anticorpos que apresentam ação específica sobre o microrganismo responsável por determinada doença infecciosa. Ela pode ocorrer após a infecção natural ou através de vacinação (15).

Em relação à pandemia de 2009, por se tratar de uma nova variante do vírus influenza, a população tornou-se altamente susceptível, pois não havia tido contato anterior com a mesma e dessa forma não apresentava imunidade. Essa ausência de imunidade prévia desencadeou rápida

disseminação do vírus entre a população. Contudo, sua disseminação entre idosos, que se esperava que fosse alta, na verdade apresentou-se baixa, pois eles teriam tido contato com um vírus influenza A (H1N1) similar em décadas passadas. Contudo, apesar de serem menos propensos à infecção pelo novo vírus, os que se infectam têm grande risco de desenvolver sintomatologia clínica mais grave e evoluir para o óbito (16).

Diagnóstico diferencial

As características clínicas não são específicas e podem ser similares àquelas causadas por outros vírus respiratórios, que também ocorrem sob a forma de surtos e, eventualmente, circulam ao mesmo tempo, tais como rinovírus, vírus parainfluenza, vírus respiratório sincicial, adenovírus e coronavírus. O quadro clínico semelhante determina a denominação dos sintomas como síndrome gripal, apesar dos sintomas sistêmicos serem mais intensos na infecção pelo vírus influenza. Devido a isso, o diagnóstico diferencial baseado no quadro clínico do paciente pode ser complexo (6).

Os fluxogramas indicando os passos necessários para o diagnóstico da influenza sazonal e pandêmica encontram-se nas Figuras 4 e 5.

Diagnóstico laboratorial

A confirmação laboratorial da influenza é importante para a eficácia do tratamento e medidas de controle. Deve ser feita, preferencialmente, nas primeiras 72 horas da doença, através de amostras de secreção nasofaríngea, visto que o período de incubação do vírus é normalmente de 2 dias. Após esse período, é mais difícil detectar a presença do vírus, podendo constituir-se de um resultado falso-negativo. O diagnóstico pode ser feito por cultura viral a partir do isolamento do vírus em secreções faríngeas e nasais, testes sorológicos, detecção de antígenos virais e reação em cadeia da polimerase (PCR) (17,18).

A Organização Mundial de Saúde (OMS) recomenda a utilização da reação em cadeia da polimerase via transcriptase reversa (RT-PCR) para análise qualitativa do vírus influenza A. A coleta deve ser feita a partir de *swab* combinado de nasofaringe e orofaringe (19).

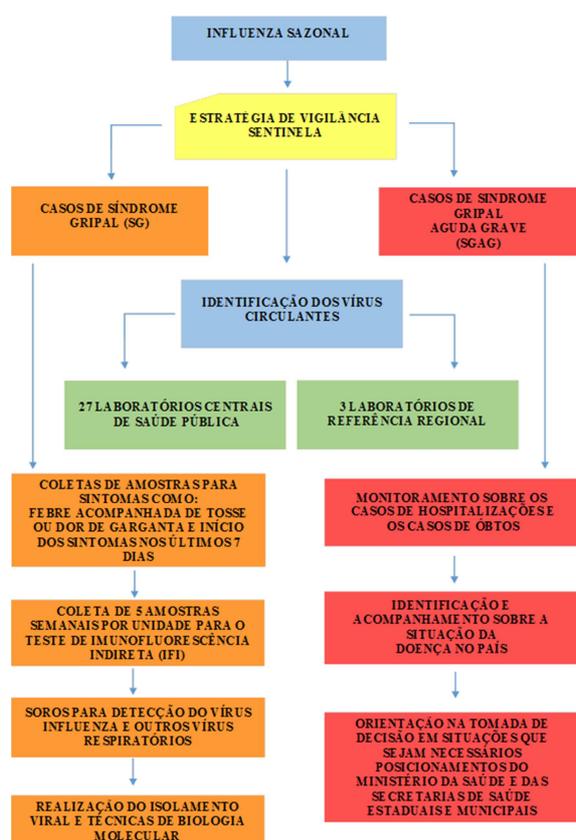


Figura 4. Fluxograma do diagnóstico para influenza sazonal (7).

Isolamento Viral

As amostras coletadas para o isolamento viral devem ser inoculadas em ovos embrionados ou células MDCK (*Madin-Darby Canine Kidney*), Células de rim de Madin-Darby canino. Os materiais clínicos preconizados são *swabs* nasofaríngeos, lavado nasal ou traqueal, ou amostra de tecido pulmonar no caso da morte do animal (17), embora o efeito citopático (ECP) seja de difícil visualização ao microscópio em células MDCK. Sete dias após a inoculação, ou assim que for observado um eventual ECP, deve-se coletar o sobrenadante e realizar o teste de hemaglutinação (20).

O isolamento viral também pode ser realizado em ovos, para propiciar aumento da concentração de vírus disponíveis. São utilizados três ovos por amostra, inoculando-se 0,1 mL do material na cavidade alantoica, na amniótica, ou em ambas. Sete dias após a inoculação, é realizada a coleta do líquido alantoico e/ou amniótico, ambos sendo testados para a detecção da presença do vírus, por meio da prova de hemaglutinação (20).

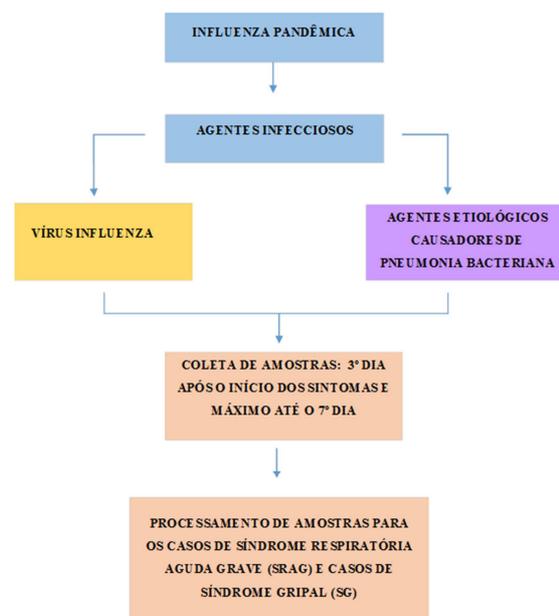


Figura 5. Fluxograma do diagnóstico para influenza pandêmica (7).

Outras possibilidades diagnósticas

O diagnóstico sorológico deve ser empregado, sempre que possível, para complementar o isolamento, adquirindo uma extrema relevância em casos nos quais não tiverem sido coletados materiais clínicos para o isolamento, ou quando o laboratório não dispuser dos equipamentos necessários para tanto (21).

O teste de inibição da hemaglutinação (HI) é utilizado para duas finalidades: a caracterização antigênica das amostras isoladas e a detecção da presença de anticorpos contra o vírus da influenza. O uso do HI para o diagnóstico sorológico é realizado em duas etapas. Primeiramente, o vírus hemaglutinante é misturado ao anticorpo, no qual, caso este seja específico, irá se ligar e inibirá sua capacidade de aglutinação. Posteriormente, adiciona-se o soro do paciente e, se os anticorpos inibirem a reação num determinado momento, o vírus é identificado. A diferença consiste na utilização do soro que se deseja pesquisar sobre a presença de anticorpos, em vez dos soros hiperimunes, e um vírus-padrão, em vez daquele que havia sido isolado (20).

Na hemólise radial simples (SRH), antígenos virais são misturados a hemácias de carneiro fixadas em agarose contendo fatores de complemento de cobaia. Os soros testados são adicionados em poços feitos na agarose, e os anticorpos anti-influenza, atuando em conjunto com o complemento, irão lisar as hemácias, formando um halo

claro ao redor do poço, que pode ser medido em mm² (21).

No teste de hemaglutinação, o vírus previamente inoculado em ovos é retirado e colocado em conjunto com um concentrado de hemácias. Em caso de positividade da reação, haverá a formação de um precipitado, passível de ser observado a olho nu. Ressalta-se que autores não consideram essa técnica um diagnóstico sorológico, já que não há a formação de um complexo antígeno-anticorpo (20).

Técnicas moleculares

Com a evolução da RT-PCR, diversos protocolos foram desenvolvidos, com variações em relação ao método de extração do material genético, à concentração de reagentes e às condições de ciclagem térmica. A região a ser amplificada está diretamente relacionada com os iniciadores utilizados na reação, tornando muito relevante a escolha destes para uma boa sensibilidade e especificidade da reação. Normalmente, são utilizados iniciadores específicos para o gene que codifica a glicoproteína hemaglutinina (20).

Existem outros protocolos de RT-PCR que detectam outros genes, que não a hemaglutinina. Fouchier et al. (22) desenvolveram um trabalho, mostrando a possibilidade de detectar infecções por qualquer subtipo do vírus influenza, em qualquer espécie animal, por meio da identificação do gene M, que é altamente conservado. Entretanto, não é possível determinar o subtipo do vírus (20, 22).

Essas novas técnicas moleculares para a detecção direta do vírus na amostra clínica, facilitaram a rápida identificação e caracterização genética dos vírus (20).

Um diagnóstico dotado de um grau elevado de acurácia é fundamental para o início da terapia antiviral e para o estabelecimento de políticas de saúde pública. Whiley et al. (23) desenvolveram uma possibilidade de diagnóstico usando a metodologia de PCR em Tempo Real baseado no sistema TaqMan®, no qual os alvos para o anelamento dos iniciadores seriam os genes da hemaglutinina e a neuraminidase específicas da linhagem circulante. A diferenciação entre as linhagens circulantes A, B e C e as do subtipo Influenza A H1N1 é fundamental para a rapidez e eficiência do diagnóstico (20,23).

O diagnóstico laboratorial relacionado à pesquisa do vírus da influenza sazonal está inserido em uma rede de vigilância epidemiológica da influenza sazonal, baseada na estratégia de vigilância sentinela. A partir das unidades de saúde que integram essa rede, são coletadas 5 amostras por semana de secreção de nasofaringe de pacientes diferentes, que são submetidas ao teste da imunofluorescência indireta (IFI). A IFI é realizada nos laboratórios estaduais onde a vigilância da influenza está implantada, utilizando-se um painel de soros que detecta, além da influenza, outros vírus respiratórios de interesse (vírus respiratório sincicial, parainfluenza e adenovírus) (6).

Os testes de imunofluorescência (IF) têm sido utilizados para a identificação direta do vírus influenza em espécimes respiratórios que contenham células esfoliadas. As células em aspirados nasofaríngeos ou em *swab* nasal são lavadas em solução tampão gelada, ressuspensas e colocadas em lâminas microscópicas. Após a fixação em acetona, o preparo das células reage com anticorpos específicos disponíveis comercialmente. Estes anticorpos são diretamente conjugados ao fluorocromo (IF direta ou IFD) ou reagem com um segundo anticorpo espécie-específico e conjugado a um fluorocromo (IF indireta ou IFI) (24).

As amostras de soro policlonal utilizadas como anticorpos para detecção apresentam níveis excessivamente altos de corante para os restos celulares e bactérias, e normalmente anticorpos monoclonais são utilizados para fornecer a sensibilidade e especificidade requeridas para este teste (24).

A IFI é geralmente mais sensível que a IFD, porém esta última é mais popular por causa do menor tempo de realização. Quando comparados à cultura de vírus influenza, ambos os métodos são considerados menos sensíveis atualmente. Espécimes coletados ou transportados inadequadamente (com ausência de material celular ou não colocados em meios de transporte, ou refrigerados durante o transporte, por exemplo) também contribuem para a redução da sensibilidade (24).

São realizados o isolamento viral e as técnicas de biologia molecular, que também procedem à caracterização antigênica e genômica dos vírus da influenza isolados.

Uma caracterização complementar para o vírus influenza de amostras enviadas pelos laboratórios de referência nacional é realizada no CDC (*Centers of Disease Control and Prevention*), Centro Colaborador da OMS para as Américas (6).

Os testes de diagnóstico rápido para o antígeno da gripe estão disponíveis, e funcionam com a detecção da nucleoproteína viral, informando resultados em até 30 minutos. Porém, estes possuem baixa sensibilidade e podem gerar resultados falsos negativos ou não diferenciar entre as linhagens de influenza A H1N1 (20). Diante disso, o CDC recomenda o tratamento antiviral com oseltamivir ou zanamivir o mais cedo possível para pacientes com influenza confirmada ou suspeita que tem doença grave, complicada ou progressiva; que necessitam de hospitalização; ou que estão em maior risco de graves complicações relacionadas com a gripe (4).

Influenza com potencial pandêmico

Os agentes infecciosos prioritários para investigação etiológica são os vírus influenza e os agentes etiológicos responsáveis por quadros de pneumonia bacteriana. As amostras de secreções respiratórias devem ser coletadas preferencialmente no 3º dia após o início dos sintomas e, no máximo, até o 7º dia (6).

Considerando as normas de biossegurança vigentes no país e as recomendações da OMS, o Ministério da Saúde reitera que a coleta de amostras de material humano seja realizada rigorosamente dentro das normas de biossegurança preconizadas para essa situação. Os Laboratórios Centrais de Saúde Pública poderão processar amostras de sangue ou outras amostras clínicas que não sejam do trato respiratório para subsidiar o diagnóstico diferencial, conforme as hipóteses diagnósticas elencadas no hospital de referência e desde que façam parte da lista de exames próprios dessa rede de laboratórios, adotando-se as medidas de biossegurança preconizadas para cada situação (6). O exame laboratorial para diagnóstico específico da nova influenza A (H1N1) 2009 pandêmica somente está indicado para processamento de amostras de casos de doença respiratória aguda grave e em casos de surtos de síndrome gripal em

comunidades fechadas, segundo orientação da vigilância epidemiológica (6).

Até o final de 2009, constatou-se que mais de 90% dos resultados laboratoriais de casos de SG no mundo são de vírus influenza pandêmico, podendo chegar até a 99% em alguns países. Os vírus isolados foram testados e concluiu-se que alguns tinham sofrido mutação e eram resistentes ao antiviral preconizado para o tratamento, o oseltamivir, mas ainda eram sensíveis a outro antiviral, o zanamivir. A mutação do vírus foi observada em mais de 10 países, mas as alterações não provocaram mudança no perfil epidemiológico da doença (15).

Tratamento

Os antivirais fosfato de oseltamivir (Tamiflu) e zanamivir são medicamentos inibidores de neuraminidase, classe de drogas planejadas contra o vírus influenza, reconhecidas pela enzima viral, agindo no vírus influenza A e também no B. São pouco reconhecidas por enzimas humanas, diminuindo, portanto, as chances de efeitos colaterais (25).

O antiviral oseltamivir, após ser metabolizado pelo fígado e trato gastrointestinal, é biotransformado em carboxilato de oseltamivir, tornando-se seletivo contra as enzimas neuraminidases do vírus influenza dos tipos A e B, inibindo a atividade das mesmas cuja função é importante tanto para a entrada do vírus em células não infectadas quanto para a liberação de partículas virais recentemente formadas de células infectadas e posterior disseminação do vírus infeccioso no organismo. O carboxilato de oseltamivir inibe a infecção e replicação in vitro do vírus da gripe e a replicação e patogenicidade in vivo do mesmo, reduzindo também, a proliferação de ambos os vírus (influenza A e B) pela inibição da liberação de vírus infecciosos de células infectadas (26).

O antiviral oseltamivir indicado deve ser utilizado em, no máximo, até 48 horas a partir da data de início dos sintomas, observando-se as recomendações descritas na bula do medicamento. O oseltamivir deve ser usado durante a gravidez somente se o benefício justificar o risco potencial para o feto (6). Também pode ser utilizado em indivíduos com síndrome gripal que apresentem algum fator de risco para complicações como as comorbidades já

relatadas, pois tais pacientes apresentam maior predisposição para ter a sua condição de saúde agravada (15).

O medicamento zanamivir é administrado por inalação através de um dispositivo distribuído junto à medicação e é preconizado que o tratamento deve ser realizado dentro de 48 horas após o início dos sintomas. O zanamivir é um pó seco, e não deve ser administrado usando nebulizadores, ventiladores ou outros dispositivos tipicamente usados para administrar medicamentos em soluções aerossolizadas. Esse medicamento também atua inibindo a ação da neuraminidase, sendo eficaz no tratamento de influenza A e influenza B (27).

No Brasil, o zanamivir só pode ser indicado caso o paciente tenha alguma intolerância gastrointestinal devido ao uso de oseltamivir. De acordo com o MS (Ministério da Saúde), este antiviral é contraindicado para menores de 5 anos e para pacientes que apresentem alguma doença respiratória complicada, tais como asma ou doença pulmonar obstrutiva crônica que aumentam o risco de broncospasmo (3).

Estudos feitos com voluntários, demonstraram que a administração endovenosa de 1.200 mg/dia de zanamivir é segura, bem tolerada e sem efeitos adversos durante um período de 5 dias. Outros estudos comprovam que zanamivir endovenoso é recomendado para terapia antiviral de pacientes gravemente doentes com influenza suspeita ou confirmada, resistente ao oseltamivir e que não podem usar o medicamento em sua forma inalatória (27).

Vacina

A vacina é a melhor estratégia disponível para a prevenção da influenza e suas consequências, proporcionando impacto na diminuição do absenteísmo no trabalho e dos gastos com medicamentos para tratamento de infecções secundárias, das internações hospitalares e da mortalidade evitável. A vacina utilizada no Brasil é constituída por três tipos de cepas do vírus influenza, sendo dois tipos de vírus de influenza A e um vírus de influenza B. Para conferir proteção adequada, a vacina deve ser administrada a cada ano, já que sua composição também varia anualmente, em função das cepas circulantes. Essa vacina é

indicada para indivíduos com 60 anos de idade ou mais, crianças na faixa etária de seis meses a 8 anos de idade, grávidas, puérperas, lactantes, povos indígenas, profissionais da área da saúde, e pessoas portadoras de doenças crônicas não transmissíveis e outras condições clínicas especiais, e é oferecida por meio de campanhas anuais, cujo período deve ser anterior ao período de maior circulação do vírus na população do país (6).

A vacina monovalente cepa H1N1 pandêmica 2009 é constituída de vírus inativados e apresenta uma efetividade média maior que 95%, e entre os 14^º e 21^º dias após a vacinação, é observada uma resposta máxima da produção de anticorpos. A mesma oferece vantagens na redução da morbimortalidade, manutenção da infraestrutura de saúde, evitando superlotações em centros de saúde e transmissibilidade (28).

A vacinação contra a influenza A (H1N1) deve ser realizada no período que antecede a maior circulação viral, para que coincida com o pico máximo da resposta imunológica, que ocorre 4 a 6 semanas após a vacinação, e o pico máximo da circulação do vírus. A vacinação não previne com 100% de eficiência a infecção pelo vírus, entretanto, reduz o risco de complicações advindas dele, como também os casos de óbito (28).

A principal medida imunizadora que reduz a morbimortalidade à influenza A é a vacina anual. Trata-se de uma vacina trivalente de vírus vivos atenuados adaptados ao frio, contendo cepas de vírus da influenza A (H3N2), influenza A (H1N1) e influenza B, que anualmente são alteradas, de acordo com recomendações da OMS (Organização Mundial da Saúde). As aplicações da vacina ocorrem nos meses de outono, antes do período epidêmico, que ocorre, normalmente, no inverno (28).

A vacinação contra influenza é indicada, como medida auxiliar para o controle de surtos institucionais ou hospitalares de influenza sazonal, para os que pertencem aos grupos de risco já definidos para a vacinação anual, caso ainda não tenham sido vacinados no ano em curso, independentemente de estarem ou não sintomáticos e para as crianças a partir de seis meses de idade, sendo que, até os oito anos, a primeira imunização é feita em duas

doses, com intervalos de no mínimo, um mês (6, 28).

A vacina contra a influenza é administrada por via subcutânea ou intramuscular. O esquema vacinal preconizado pelo Ministério da Saúde varia conforme a faixa etária do indivíduo a ser vacinado (6).

A imunidade obtida com a vacinação pode variar:

- em idosos, uma vez que a formação de anticorpos é modulada pela experiência cumulativa através dos anos de estimulação repetitiva do sistema imunológico com o vírus influenza;

- em pacientes com câncer, pois a produção de anticorpos é menor do que em controles saudáveis. A soroconversão é de 24% a 71%, sendo a terapia antineoplásica o fator determinante da resposta mais baixa nesse grupo.

- em transplantados, a imunização deve ser feita previamente à realização do procedimento. No transplante de rim, a soroconversão ocorre em cerca de 50% dos casos, 1 mês após a vacinação;

- em portadores do HIV/AIDS, a vacina contra a influenza produz títulos protetores de anticorpos em pessoas infectadas por HIV, pouco sintomáticas e com contagens adequadas de linfócitos CD4. No entanto, nos pacientes com a doença avançada e/ou contagem baixa de CD4, a vacina pode não induzir anticorpos protetores e uma segunda dose não melhora a resposta imunológica à mesma (6).

A contraindicação para esta vacina é a presença de reação de hipersensibilidade, do tipo anafilática, às proteínas do ovo de galinha e indivíduos com história pregressa de síndrome de Guillain-Barré. Os eventos adversos mais frequentemente associados temporalmente à vacina são locais e resolvidos geralmente em 48 horas: dor no local da aplicação e eritema, ocorrendo em 10 a 64% dos vacinados. Outras reações sistêmicas também podem estar presentes, como febre, astenia, mialgia e cefaleia, que, geralmente, se apresentam entre 6 a 12 horas após a aplicação (6).

Como a vacina é composta por vírus inativados, não tem o poder de provocar doença. “Casos de gripe” eventualmente diagnosticados em pessoas recentemente vacinadas podem ser devidos à infecção por outras cepas não presentes na vacina, a

falhas de conversão sorológica ou à infecção por outros vírus respiratórios (6).

Campanha de vacinação e imunização

As estratégias de vacinação adotadas no Brasil, a determinação dos grupos populacionais e a inclusão de novas vacinas no Programa Nacional de Imunizações são baseadas em critérios científicos, epidemiológicos, eficácia e segurança das vacinas aplicadas. Durante os anos de 1999 a 2010, a aplicação das vacinas era liberada apenas para idosos e alguns grupos de risco. Em 2011, novos grupos populacionais foram incluídos nas campanhas de vacinação, aumentando a quantidade de doses administradas (3).

As campanhas de vacinação contra a Influenza preconizam que a imunização contra a gripe sazonal deve ser realizada anualmente nos grupos prioritários já citados anteriormente (29).

As vacinas disponibilizadas para a temporada de vacinação do ano de 2016 foram produzidas pelo Instituto Butantan e Instituto Butantan/Sanofi Pasteur-França e eram constituídas por hemaglutininas de cepas do vírus *Myxovirus influenzae* inativados, fragmentados e purificados. As HA (hemaglutininas) utilizadas são pertencentes aos vírus do tipo A (H1N1) pdm 09, A (H3N2) e B. As cepas do vírus são propagadas em ovos embrionados de galinha, purificadas, inativadas e ajustadas à concentração internacionalmente determinada em normas de produção (30).

A vacinação de gestantes confere imunização também para o lactente e em crianças soronegativas para o vírus influenza, é recomendada a aplicação de duas doses da vacina (30).

A vacina está disponível nos Centros de Referência para Imunobiológicos Especiais (CRIE) durante todo o ano, para pessoas consideradas de maior risco para a doença e suas complicações, como os portadores de cardiopatias, nefropatias, diabetes mellitus insulino dependente, cirrose hepática, hemoglobinopatias, doença pulmonar obstrutiva crônica (DPOC), imunocomprometidos (transplantados, pacientes em tratamento de câncer, asmáticos, portadores de HIV e miopatias) e familiares que estejam em contato com os referidos pacientes. É recomendável, ainda, a vacinação de profissionais de saúde que

atuam na assistência individual de casos de infecção respiratória e de trabalhadores de asilos e creches, de indígenas a partir de 6 meses de idade e da população carcerária, como forma de reduzir o potencial de transmissão da doença em comunidades fechadas e grupos mais vulneráveis à infecção (6).

Os objetivos da vacinação pelo Sistema Único de Saúde (SUS) são: manter o funcionamento dos serviços de saúde envolvidos na resposta à pandemia, diminuir o risco de a população adoecer, para que haja um número pequeno de pessoas infectadas, e redução no número de mortes associados à influenza pandêmica nos grupos mais afetados (28).

Sabendo da circulação do vírus no ambiente, suas taxas de mutabilidade, além do fato de que a imunidade induzida pelo vírus influenza não é muito longa, a periodicidade da vacinação é de grande importância, pois os anticorpos diminuem após certo tempo (28).

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A gripe influenza A (H1N1) é uma doença de fácil transmissão que obteve atenção mundial na pandemia de 2009, que foi dada como finalizada ainda no ano de 2010. Entretanto, nos anos seguintes, novos casos de influenza A foram relatados. Estima-se que até o mês de maio de 2016, cerca de 764 pessoas foram a óbito decorrentes da infecção pelo vírus H1N1 no Brasil.

Os vírus influenza são únicos na habilidade de causar epidemias anuais recorrentes e menos frequentemente pandemias, atingindo quase todas as faixas

etárias num curto espaço de tempo, o que é possível devido à sua alta variabilidade e capacidade de adaptação. A natureza fragmentada do material genético do vírus influenza induz altas taxas de mutação durante a fase de replicação. Tais mutações ocorrem de forma independente e provocam o aparecimento de novas variantes para as quais a população ainda não apresenta imunidade, já que a infecção prévia por determinada cepa confere pouca ou nenhuma proteção contra os vírus de surgimento mais recente. Soma-se a isto a facilidade de transmissão do vírus influenza.

Nas últimas décadas, a imunização anual com vacinas inativadas contra influenza tem sido a principal medida para a profilaxia da gripe e redução da morbimortalidade relacionada à doença. Juntamente com a imunização vacinal, que é a ferramenta de primeira escolha para a prevenção da influenza, os antivirais específicos são medicamentos de grande relevância na prevenção e controle da influenza. O contínuo impacto causado pelo vírus influenza, tanto em indivíduos de risco – idosos e portadores de patologias crônicas – como na população em geral vem motivando o desenvolvimento de novas abordagens para sua prevenção e controle.

Diante da gravidade e alta transmissibilidade da influenza A (H1N1), e através dos novos casos relatados, destacam-se, dessa forma, como medida fundamental no controle e prevenção, a conscientização da população aos possíveis riscos de infecção pela doença e a importância das campanhas de vacinação.

REFERÊNCIAS

- (1) CARNEIRO, M. *et al.* Influenza H1N1 2009: revisão da primeira pandemia do século XXI. **Revista da AMRIGS**, Porto Alegre, v. 54, n. 2, p. 206-213, abr./jun. 2010.
- (2) MINISTÉRIO DA SAÚDE - Secretaria de Vigilância em Saúde. **Guia de Vigilância Epidemiológica, 2009**. Disponível em: <http://portalsaude.saude.gov.br/images/pdf/2014/janeiro/23/gve-7ed-web-atual.pdf>. Acesso em: 14 de junho de 2016.
- (3) MINISTÉRIO DA SAÚDE – Campanha Nacional de Vacinação contra a Influenza. **Informe Técnico, 2016**. Disponível em: <http://www.ibilce.unesp.br/Home/Eventos/472/informe-tecnico-campanha-vacinacao-influenza-2016.pdf>. Acesso em: 30 de setembro de 2016.
- (4) EPIDEMIOLOGY AND PREVENTION OF VACCINE-PREVENTABLE DISEASES. **Centers for Disease Control and Prevention, 2015**.

- (5) HOLTENIUS, J.; GILLMAN, A. The Spanish flu in Uppsala, clinical and epidemiological impact of the influenza pandemic 1918-1919 on a Swedish county. **Infection Ecology & Epidemiology**, v. 4, n. 21528, p. 1-8. 2014.
- (6) NELSON, M.I. *et al.* Influenza A Viruses of Human Origin in Swine, Brazil; **Emerging Infectious Diseases**; www.cdc.gov/eid; v. 21, n. 8, august. 2015.
- (7) MINISTÉRIO DA SAÚDE – Secretaria de Vigilância em Saúde. **Informe Epidemiológico**, 2016. Disponível em: <http://portalsaude.saude.gov.br/images/pdf/2016/junho/16/Boletim-Epidemiologico-Influenza-SE21.pdf>. Acesso em: 11 de junho de 2016.
- (8) MINISTÉRIO DA SAÚDE - Biblioteca Virtual em Saúde do Ministério da Saúde. Portaria Nº 2.693, 2011. Disponível em: http://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/gm/2011/prt2693_17_11_2011.html Acesso em: 13 de junho de 2016.
- (9) MINISTÉRIO DA SAÚDE - Biblioteca Virtual em Saúde do Ministério da Saúde. Portaria Nº 183, 2014. Disponível em: http://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/gm/2014/prt0183_30_01_2014.html. Acesso em: 14 de junho de 2016.
- (10) BROOKS, F.G. *et al.* **Microbiologia médica de Jawetz, Melnick e Anelberg**. 25 ed. Porto Alegre: Lange, 2012.
- (11) COMONE, P. **Diversidade genética da Hemoaglutinina (HA) de vírus Influenza A, entre 1995 e 2006**. 2016. 134f. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) – Universidade de São Paulo, São Paulo. 2016.
- (12) FORLEO, E.N. *et al.* Influenza. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 36, n. 2, p. 267-274, mar/abr., 2003.
- (13) MARTINS, M.G. *et al.* Infecção pelo vírus Influenza A H1N1 em gestantes. **Revista de Pesquisa em Saúde**, v. 13, n. 1, p. 40-44, jan/abr., 2012.
- (14) SISTON, A.M. *et al.* Pandemic 2009 Influenza A (H1N1) virus illness among pregnant women in the United States. **JAMA**, v. 303, n. 15, p. 1517-25. 2010.
- (15) SOUSA, A.C.L. **O papel do Centro de Informações Estratégicas em Vigilância em Saúde (CIEVS) no enfrentamento da pandemia de influenza A (H1N1) 2009**. 2010. 54f. Monografia (Graduação em Medicina Veterinária) – Universidade de Brasília/Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Brasília. 2010.
- (16) NOKLEBY, H.; NICOLL, A. Risk groups and other target groups – preliminary ECDC guidance for developing influenza vaccination recommendations for the season 2010-11. In **Eurosurveillance**, v. 15, issue 12, 25.03.2010. Disponível em <<http://www.eurosurveillance.org/images/dynamic/EE/V15N12/art19525.pdf>>. Acesso em: 02 de novembro de 2016.
- (17) ALMEIDA, F. *et al.* Consenso para o tratamento e profilaxia da influenza (Gripe) no Brasil. In: **Sociedade Brasileira de Pediatria**. Disponível em: <http://www.sbp.com.br/PDFs/consenso_influenza.pdf>. Acesso em: 02 de novembro de 2016.
- (18) BURTON, G.R.W.; ENGELKIRK, P.G. **Microbiologia para as ciências da saúde**; traduzido por Eiler Fritsch Toros. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2005.
- (19) VERONESI: **Tratado de Infectologia**. Editor científico: Roberto Focaccia. Editores adjuntos: Décio Diamant, Marcelo Simão Ferreira, Rinaldo Focaccia Siciliano. 4ª Ed. São Paulo: Atheneu, p. 2249-2256, 2009.
- (20) DIAS, R.F. Ensaio molecular para vigilância epidemiológica de gripe com ênfase no diagnóstico de influenza A (H1N1). **Fundação Oswaldo Cruz**. Instituto de Tecnologia em Imunobiológicos. Mestrado de Tecnologia em Imunobiológicos. Rio de Janeiro, 2011.
- (21) WORLD HEALTH ORGANIZATION. **WHO manual of influenza diagnostics**, 2002.
- (22) FOUCHIER, R.A.M. *et al.* Detection of Influenza A Viruses from different species by PCR amplification of conserved sequences in the matrix gene. **Journal of clinical microbiology**, v. 38, n. 11, p. 4096-101. 2000.
- (23) WHILEY, M.D. *et al.* Detection of novel influenza A (H1N1) virus by real-time RT-PCR. **Journal of clinical virology**, v. 45, n. 3, p. 203-209. 2009..

- (24) MELLO, W.A. O papel do diagnóstico laboratorial da influenza. **Revista Pan-Amazônica de Saúde**, v. 1, n. 1, p. 191-193, ago/out., 2009.
- (25) MINISTÉRIO DA SAÚDE – **Protocolo de Tratamento de Influenza**, 2013. Disponível em: http://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/protocolo_tratamento_influenza_2013.pdf. Acesso em: 17 de junho de 2016.
- (26) FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ – **Formas Farmacêuticas e Apresentações do Oseltamivir**, 2009. Disponível em: http://www.far.fiocruz.br/farmanguinhos/images/stories/phocadownload/oseltamivir_dmg%20bula%20021-001.pdf. Acesso em: 21 de junho de 2016.
- (27) AOKI, F.Y. *et al.* The use of antiviral drugs for influenza: A foundation document for practitioners. **The Canadian Journal of Infectious Diseases & Medical Microbiology**, v. 24. 2013.
- (28) OLIVEIRA, E. *et al.* H1N1: Revisão literária a respeito do histórico da existência do vírus e seu impacto na atualidade. **Ensaio e Ciência: ciências biológicas, agrárias e da saúde**, v. 17, n. 1, p. 97-108, fev. 2013.
- (29) SECRETARIA DE ESTADO DE SAÚDE DE MINAS GERAIS (SES-MG) – **Diretrizes para Organização dos Serviços de Assistência à Saúde e Vigilância aos casos de Síndrome Gripal (SG) e Síndrome Respiratória Aguda Grave (SRAG) com Ênfase na Influenza no Estado de Minas Gerais**, 2016. Disponível em: http://hc.ufu.br/sites/default/files/tmp//diretrizes_e_organizacao_da_influenza_-_site.pdf. Acesso em: 30 de setembro de 2016.
- (30) PORTAL SAÚDE. **Campanha Nacional de Vacinação Contra Influenza**. Disponível em: <http://portalsaude.saude.gov.br/images/pdf/2016/marco/11/informe-tecnico-campanha-vacinacao-influenza-2016.pdf>. Acesso em: 20 de agosto de 2016.

Enviado: 01/03/2017
 Revisado: 11/09/2017
 Aceito: 05/10/2017