

Programa Nacional de Vigilância da Gripe: Resultados da Atividade Gripal em Portugal na Época 2010/2011



National Influenza Surveillance Programme: Results of Influenza Activity in Portugal in the 2010/2011 Season

Pedro PECHIRRA, Paulo GONÇALVES, Patrícia CONDE, Baltazar NUNES, Raquel GUIOMAR
Acta Med Port 2012 Sep-Oct;25(5):277-287

RESUMO

Introdução: A vigilância epidemiológica da gripe, doença associada a uma elevada mortalidade em idosos e indivíduos pertencentes a grupos de risco, é essencial para a caracterização das epidemias de gripe bem como para a monitorização da ocorrência de surtos e do surgimento de estirpes virais resistentes aos antivirais.

Material e Métodos: No presente estudo analisaram-se os dados da vigilância epidemiológica da gripe durante o Inverno de 2010/2011. Os dados clínicos, epidemiológicos e virológicos referentes aos casos de síndrome gripal foram recolhidos através do Programa Nacional de Vigilância da Gripe, coordenado pelo Laboratório Nacional de Referência para o Vírus da Gripe (LNRVG) em colaboração com o Departamento de Epidemiologia (DEP) do Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge (INSA) e com a Direção-Geral da Saúde (DGS).

Resultados: A análise dos dados recolhidos mostra que, durante a época de inverno de 2010/2011, a atividade gripal foi moderada/alta com um período epidémico de 8 semanas, entre as semanas 50/2010 e 5/2011, com um pico de 121,12 casos por 100 000 habitantes na semana 52/2010.

Discussão: Os vírus influenza do tipo B (linhagem Victoria) predominaram no início da época até à semana 1/2011, altura em que passaram a predominar os vírus influenza A(H1N1)pdm09. A maior proporção de casos de gripe foi encontrada no grupo etário das crianças entre os 5 e os 14 anos de idade. Os vírus caracterizados quer antigénica quer geneticamente, foram semelhantes às estirpes incluídas na vacina da gripe sazonal de 2010/2011, apresentando algumas substituições de aminoácidos em locais antígenicamente importantes. A maioria das estirpes do vírus A(H1N1)pdm09 permanecem ainda sensíveis ao oseltamivir e ao zanamivir, tendo sido detetados alguns casos esporádicos de vírus resistentes ao oseltamivir. Até à data, o LNRVG detetou a existência da substituição H275Y no gene da neuraminidase, associada à resistência ao oseltamivir, em 3 vírus A(H1N1)pdm09 analisados. Para um deles, a resistência ao oseltamivir foi confirmada por ensaios fenotípicos.

Conclusão: Apesar do receio associado à emergência de um novo vírus pandémico (rápida dispersão, elevada morbidade e mortalidade), as características clínicas e epidemiológicas da infeção pelo vírus influenza A(H1N1)pdm09, revelaram-se, no decorrer de duas épocas (2009/2010 e 2010/2011), muito semelhantes às da gripe sazonal, sendo no entanto de salientar que na época da pandemia (2009/2010) ao vírus da gripe A(H1N1)pdm09 estiveram ligadas características particulares no que diz respeito à sua distribuição temporal, aos grupos etários mais afetados, aos casos de infeção grave e de óbito e fatores de risco associados.

ABSTRACT

Introduction: Epidemiological surveillance of influenza, a disease associated with high mortality in the elderly and individuals' belonging to risk groups, is essential for the characterization of influenza epidemics as well as for the monitoring of outbreaks and the emergence of viral strains resistant to antivirals.

Material and Methods: In the present study was analyzed the influenza surveillance data from 2010/2011 winter. The clinical, epidemiological and virological data related to cases of flu-like syndrome have been collected through the National Influenza Surveillance Programme, coordinated by the National Influenza Reference Laboratory (LNRVG) in collaboration with the Department of Epidemiology (DEP) of the National Institute of Health Doutor Ricardo Jorge (INSA) and the Directorate-General for Health (DGS).

Results: From the analysis of the data collected during the 2010/2011 winter season, influenza activity was moderate / high with an epidemic period of 8 weeks between week 50/2010 and 5 / 2011, with a peak of 121, 12 cases per 100 000 population in week 52/2010.

Discussion: The influenza B viruses (Victoria lineage) predominated in the early period to week 1 / 2011, when became to predominate influenza A(H1N1)pdm09 viruses. The largest proportion of cases of influenza was found in the age group of children between 5 and 14 years old. The viruses characterized antigenically and genetically were similar to strains included in the seasonal influenza vaccine 2010/2011, presenting some amino acid substitutions in antigenic sites. Most strains of A(H1N1)pdm09 influenza virus still remain sensitive to oseltamivir and zanamivir, although were detected sporadic cases of oseltamivir resistant viruses. To date, the LNRVG detected the presence of the H275Y substitution in the neuraminidase gene, associated with oseltamivir resistance, in three virus A(H1N1)pdm09. For one of them, oseltamivir resistance was confirmed by phenotypic assays.

Conclusion: Despite fears associated with the emergence of a new pandemic virus (rapid spread, high morbidity and mortality), the clinical and epidemiological characteristics of infection with influenza A(H1N1)pdm09, proved in the course of two seasons (2009/2010 and 2010/2011) to be very similar to seasonal flu. It is however noteworthy that during the pandemic season(2009/2010) the influenza virus A (H1N1) pdm09 were linked with particular characteristics with regard to their temporal distribution, age groups most affected, severe infections and death and associated risk factors.

INTRODUÇÃO

A gripe é uma doença respiratória aguda causada pelo vírus influenza. A atividade do vírus influenza em todo o mundo varia de acordo com o clima de cada região, sendo frequentemente detetado no outono e inverno nas regiões

P.P., P.G., P.C., B.N., R.G.: Departamento de Doenças Infecciosas, Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge, Lisboa, Portugal.

Recebido: 31 de Janeiro de 2012 - Aceite: 14 de Setembro de 2012 | Copyright © Ordem dos Médicos 2012

temperadas do hemisfério norte.¹ O período de maior atividade do vírus influenza em Portugal ocorre geralmente entre dezembro e março.

Uma das características da atividade sazonal do vírus influenza é a sua associação a um excesso de mortalidade.² Estudos estimaram que cerca de 90% das mortes associadas à gripe ocorrem em indivíduos com mais de 65 anos, sendo o risco aumentado quando existem doenças crónicas associadas.¹ De acordo com Nunes, et al., 2011³ este resultado foi também observado em Portugal.

Apesar das epidemias de gripe ocorrerem de forma anual, a incidência e a severidade da doença são variáveis de época para época. A severidade das epidemias anuais depende de vários fatores incluindo o tipo, subtipo e estirpes em circulação e o nível de anticorpos protetores na população.¹ Em Portugal verificou-se que as épocas com estimativas de excesso de mortalidade mais elevadas se caracterizavam pela circulação dominante do subtipo do vírus influenza A(H3). As épocas em que o vírus circulante dominante foi do tipo B tiveram, geralmente, um impacto muito baixo, não se verificando um excesso na mortalidade.³ Em indivíduos jovens adultos saudáveis o vírus influenza causa um quadro de gripe debilitante com a duração de 1 a 2 semanas, mas em indivíduos com doença respiratória ou cardiovascular já existente e na população mais idosa pode ser a causa de uma infeção mais grave.²

Em Portugal, a vigilância epidemiológica da gripe é efetuada através Programa Nacional de Vigilância da Gripe (PNVG) coordenado pelo Laboratório Nacional de Referência para o Vírus da Gripe (LNRVG) em colaboração com o Departamento de Epidemiologia (DEP) do Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge (INSA) e com a Direção-Geral da Saúde (DGS), garantindo a caracterização clínica e laboratorial da doença baseada em diferentes fontes de informação. O PNVG tem como objetivos: 1. estimar a morbidade da doença através da determinação semanal das taxas de incidência de Síndrome Gripal e da identificação rápida de surtos na população em observação; 2. identificar e caracterizar as estirpes de vírus influenza circulantes e quantificar a sua presença na população em observação durante o período de atividade gripal; 3. fornecer informação aos serviços de saúde para apoio à intervenção em ações de prevenção e no aconselhamento da terapêutica.

De forma a contribuir para a vigilância da gripe a nível europeu e mundial, a informação colhida a nível nacional pelo PNVG é semanalmente enviada para a rede European Influenza Surveillance Network (EISN) do Centro Europeu de Prevenção e Controlo de Doenças (ECDC) e para a rede Global Influenza Surveillance and Response System (GISRS) da Organização Mundial de Saúde (OMS), que integram informação epidemiológica, clínica e virológica.

A divulgação da informação relativa à atividade gripal é efetuada semanalmente quer a nível nacional (<http://www.insa.pt/sites/INSA/Portugues/Documents/Gripe2.pdf>) quer a nível internacional (Weekly Influenza Surveillance Overview do ECDC e Euroflu-Weekly Electronic Bulletin da

OMS).

O PNVG através da monitorização contínua dos vírus influenza em circulação numa determinada época e da avaliação das suas características antigénicas e genéticas, constitui uma peça fundamental na otimização anual da composição da vacina e na contínua avaliação e otimização dos métodos de diagnóstico molecular. Permite ainda um maior conhecimento da epidemiologia molecular e relação evolutiva dos vírus influenza em circulação.⁴

As redes de vigilância têm também um papel fundamental como mecanismo de alerta global para a deteção de novos vírus influenza em circulação que podem estar na etiologia de uma pandemia, como a que recentemente vivenciámos na época de 2009/2010.

Neste contexto, é objetivo do presente trabalho descrever os resultados obtidos na época de vigilância da gripe de 2010/2011, efetuando uma síntese da atividade gripal em Portugal durante este período.

MATERIAL E MÉTODOS

Fontes de dados do PNVG

Rede Médicos Sentinela: A rede Médicos-Sentinela (MS) é um sistema de informação em saúde constituído por Clínicos Gerais/Médicos de Família, distribuídos pelo território do Continente e pelas Regiões Autónomas. Esta rede mantém-se ativa durante todo o ano e tem como principais objetivos (1) obter estimativas das taxas de incidência de várias doenças ou de situações relacionadas com saúde que ocorram nos utentes inscritos nos Centros de Saúde ou Unidades de Saúde Familiar e (2) efetuar a vigilância epidemiológica de algumas doenças de modo a permitir a identificação precoce de eventuais surtos.

Rede de Serviços de Urgência: A rede de Serviços de Urgência (SU) é operacionalizada nos Serviços de Urgência Hospitalar e Serviços de Atendimento Permanente ou similares dos Centros de Saúde do Serviço Nacional de Saúde. A notificação de casos de Síndrome Gripal pelos Serviços de Urgência (SU) tem vindo a desempenhar, desde que foi estabelecida em 1999, um papel importante na deteção precoce de surtos epidémicos gripais, nomeadamente por ser a rede em que se obtêm mais facilmente produtos biológicos. Esta rede apenas se encontra ativa durante a época de vigilância laboratorial da Gripe, de outubro a maio do ano seguinte,

Projecto I-MOVE/EuroEVA: Desde 2008 o INSA tem participado através do DEP e do Departamento de Doenças Infecciosas (DDI) no projeto europeu multicêntrico I-MOVE – Influenza monitoring vaccine effectiveness during influenza seasons and pandemics in the European Union – coordenado pela EpiConcept SARL e financiado pelo ECDC, que pretende estimar a efetividade da vacina antigripal sazonal e pandémica durante e após a época de gripe. Durante a época de 2010/2011, os participantes no projeto I-MOVE (Portugal, Espanha, França, Itália, Irlanda, Hungria, Roménia e Polónia) desenvolveram um protocolo comum com um delineamento caso-controlo com vista à estimativa da efetividade da vacina sazonal em indivíduos

de todas as idades e com idade superior a 65 anos.

Componentes clínica e laboratorial do PNVG

A vigilância da Gripe em Portugal integra dados clínicos e virológicos. A componente clínica do PNVG, baseada exclusivamente no diagnóstico clínico, é suportada pela rede MS desde 1990 e tem um papel especialmente relevante por possibilitar o cálculo de taxas de incidência do síndrome gripal, o que permite descrever a evolução da epidemia no tempo e medir o impacto das epidemias nos cuidados primários. Permite ainda detetar a ocorrência de um surto de gripe fora da época de inverno por se manter ativa durante todo o ano. A componente laboratorial constitui um indicador precoce do início de circulação do vírus influenza em cada época de vigilância. Esta componente é suportada pelas redes MS e SU e pelo projeto I-MOVE/EuroEVA, que enviam exsudados da nasofaringe ao LNRVG obtidos dos casos notificados, permitindo assim a identificação do(s) tipo(s) e subtipo(s) do vírus influenza em circulação em cada época de vigilância e o estudo das suas características antigénicas e genéticas, bem como a avaliação das resistências aos antivirais específicos para a gripe.

Definição de caso

Um caso de Síndrome Gripal (SG) é definido segundo critérios clínicos estabelecidos pelo Conselho Europeu (Decisão 2008/426/EC e 2002/253/EC), ou por decisão médica baseada nas manifestações clínicas, independentemente do tipo e número de sinais/sintomas. É considerado um caso de Gripe todo o caso de SG no qual tenham sido detetados vírus influenza pela pesquisa de RNA viral por RT-PCR ou por isolamento em culturas celulares.

Notificação de caso de Síndrome Gripal

Em ambas as componentes do PNVG (clínica e laboratorial) os doentes com um quadro clínico compatível com um SG são notificados ao Laboratório Nacional de Referência para o Vírus da Gripe e ao Departamento de Epidemiologia, do INSA, pelos médicos da Rede MS, médicos de clínica geral e familiar do projeto I-MOVE/EuroEva e pelos SU participantes (entre outubro e maio do ano seguinte). Os resultados descritos neste artigo correspondem ao período entre as semanas 39/2010 e 21/2011.

Colheita de produtos biológicos

Foram colhidos exsudados da nasofaringe em zaragatoa com meio de transporte para vírus a doentes com SG nos primeiros 5 dias de evolução da doença, selecionados pelos MS (participantes na componente laboratorial do PNVG), SU e médicos de clínica geral e familiar do projeto I-MOVE/EuroEva.

Deteção de RNA de vírus influenza

Para a deteção de RNA de vírus influenza procedeu-se à extração de ácidos nucleicos com o kit de extração MagNA Pure LC Total Nucleic Acid Isolation Kit [Roche Diagnostics] Procedeu-se à triagem dos produtos biológicos

positivos para vírus influenza tipo A e tipo B através de um *one-step RT-PCR* em tempo real dirigido aos genes da matriz (tipo A) e nucleoproteína (tipo B).⁵ Os produtos biológicos positivos para vírus da gripe foram analisados para identificação do subtipo ou linhagem através dos métodos de RT-PCR em tempo real: 1) RealTime Ready Influenza A/H1N1 Detection Set [Roche Diagnostics] para identificação específica dos vírus do tipo A(H1N1)pdm09; 2) proFLUst Influenza A Subtyping [Prodesse, Inc., USA], para identificação específica dos vírus dos subtipos A(H1) e A(H3) sazonais e 3) Procedimento para identificação da linhagem (*Victoria/Yamagata*) dos vírus influenza B.⁶

Caracterização dos vírus influenza

O isolamento dos vírus influenza em cultura celular é tradicionalmente considerado o método *gold standard* para o diagnóstico da gripe. O isolamento do vírus da gripe foi efetuado nas linhas celulares MDCK e MDCK-Siat1 e o título determinado pela reação de hemaglutinação (HA). A caracterização antigénica das estirpes virais isoladas foi efetuada através da Reação de Inibição da Hemaglutinação (RIH), utilizando um conjunto de antisoros, fornecidos anualmente pelos Centros Mundiais de Referência da OMS. A caracterização genética foi baseada na sequência nucleotídica da subunidade HA1 do gene da hemaglutinina. A análise filogenética foi realizada através do programa MEGA Software 5.05,⁷ as árvores filogenéticas foram obtidas pelo método da Máxima Verosimilhança segundo o modelo Tamura-Nei de distâncias evolutivas com 500 réplicas de *bootstrap*.

A monitorização da resistência aos antivirais específicos para a gripe foi efetuada através da 1) pesquisa de marcadores moleculares de resistência (sequenciação do gene da neuraminidase e/ou deteção da substituição H275Y⁸ nos vírus influenza A(H1)pdm09), e 2) da avaliação da resistência ao oseltamivir e zanamivir pelo método de fluorescência¹ através da determinação dos valores de IC₅₀ (metade da máxima concentração inibitória).

Definição de epidemia de Gripe

Para a análise das epidemias de Gripe foi utilizada uma área de atividade basal do síndrome gripal (definida pela linha de base e pelo respetivo limite superior do intervalo de confiança a 95%), a qual permite (1) comparar as epidemias anuais em função da sua intensidade e duração, (2) definir períodos epidémicos e (3) determinar o impacto dessas epidemias na comunidade. A linha de base foi obtida por suavização da distribuição das médias semanais (semana 40 à 13) das taxas de incidência inferiores a 50 casos por 100 000 habitantes.⁹ Este valor limite foi estabelecido pela relação entre a frequência da distribuição semanal das taxas de incidência do síndrome gripal durante 10 anos e a análise da média dos vírus influenza detetados no mesmo intervalo de tempo. Neste contexto, a epidemia de Gripe ocorre no período em que as taxas de incidência do Síndrome Gripal se encontram acima da área de atividade basal, associadas a uma circulação não esporádica de ví-

rus influenza.

Indicadores de intensidade da atividade Grial

A intensidade da atividade grial foi definida com base em toda a informação de vigilância recolhida através das várias fontes de dados e é avaliada tendo em consideração a informação histórica nacional sobre a Gripe.

Neste contexto, são considerados 3 indicadores de intensidade de atividade grial: Baixa – taxa de incidência abaixo ou na área de atividade basal; Moderada – nível usual de atividade grial associado à presença de vírus influenza e correspondendo a uma taxa de incidência provisória de Síndrome Grial superior à área de atividade basal mas inferior ou igual a 120 casos/ 100 000 habitantes; Alta – nível elevado de atividade grial associado à presença de vírus influenza e correspondendo a uma taxa de incidência provisória de Síndrome Grial superior a 120 casos / 100 000 habitantes.

Correlação entre o quadro clínico de SG e um caso de Gripe

Com o objetivo de estudar qual a correlação entre os sinais e sintomas clínicos identificados nos casos de SG notificados e um caso de Gripe, procedeu-se ao cálculo das *odds ratio* brutas e ajustadas por regressão logística não condicional, da presença de cada um dos sintomas declarados (início súbito, febre, mal-estar, cefaleias, mialgias, tosse, dor de garganta, dificuldade respiratória, calafrios e contacto com doente com gripe) entre os casos positivos para vírus influenza versus os casos negativos.

RESULTADOS

Atividade Grial

Durante o período em estudo foram notificados 1366 casos de Síndrome Grial, com a distribuição semanal que se mostra na Fig. 1.

A maior proporção de casos foi observada entre fim de dezembro e princípio de fevereiro. Com base nos casos notificados através da Rede Médicos Sentinela foram calculadas as taxas de incidência semanais do SG, que se mantiveram acima da área de atividade basal entre as semanas 50/2010 e 5/2011, com um pico de 121,12 casos por 100 000 habitantes na semana 52/2010. Assim considera-se que a atividade grial em 2010-2011 foi moderada/alta com um período epidémico de 8 semanas.

Caraterização dos casos de Síndrome Grial

A maior proporção dos casos estudados, 44.5%, foi notificada através da Rede de Serviços de Urgência (Tabela 1).

A razão entre o género masculino e feminino foi de 1:1,27, e o grupo etário mais representado, com 52.2% dos casos notificados, foi o correspondente à população com idades compreendidas entre os 15 e os 44 anos.

Pesquisa de vírus influenza

Foram obtidos 1017 exsudados para análise laboratorial, correspondendo a 74.5% do total de casos de SG notificados. A pesquisa de vírus influenza revelou-se positiva em 546 (53,7%) dos casos de SG, com uma maior proporção de positivos nos meses de dezembro e janeiro (Fig. 1).

A circulação predominante de vírus do tipo B (linhagem Victoria) no início da época foi gradualmente substituída

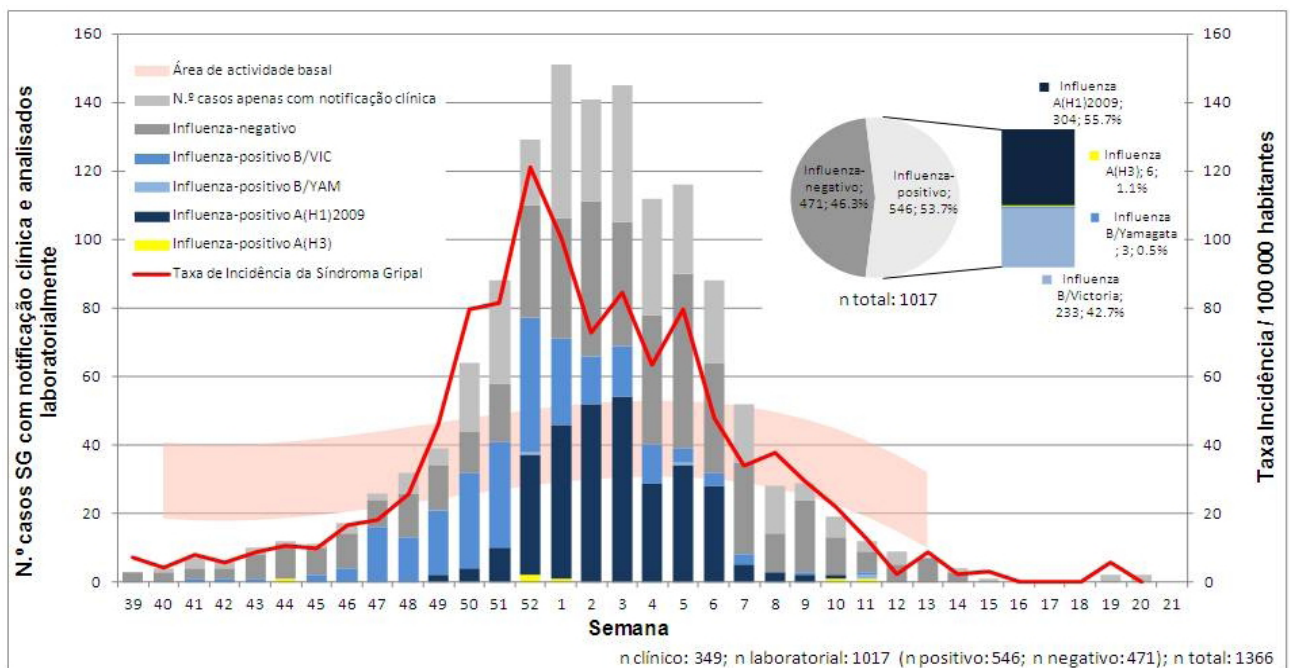


Fig. 1 – Distribuição semanal das taxas de incidência da Síndrome Grial por 100 000 habitantes, com indicação da área de atividade basal, e da notificação de casos através das componentes clínica e laboratorial do PNVG. Distribuição semanal do número de casos negativos e do número de casos de Gripe por (sub)tipo de vírus influenza associado.

pela circulação de vírus do tipo A(H1)pdm09, sendo este dominante desde a semana 1/2011 até ao final da época. Os vírus do tipo A(H3) e B/Yamagata foram detetados esporadicamente. Os vírus do tipo A(H1) sazonais não foram detetados nos casos estudados.

Caracterização dos casos de Gripe

A distribuição por grupo etário dos casos com resultado laboratorial (Tabela 2) mostra que a proporção de casos positivos é mais elevada (70,4%) no grupo etário das crianças em idade escolar (5-14 anos), grupo onde também se verificou o valor mais elevado da taxa de incidência acumulada de SG, 1590,4 casos por 100 000 habitantes. Nos grupos etários das crianças (0-4 anos) e dos idosos (> 65 anos), a

proporção de casos positivos é mais baixa (respetivamente 32,4% e 19,0%).

A infeção por vírus influenza na população jovem/adulta estudada (15-64 anos) esteve maioritariamente associada ao vírus do tipo A, enquanto no grupo etário das crianças em idade escolar (5-14 anos) os casos positivos estiveram maioritariamente associados a vírus do tipo B (Tabela 2).

Relativamente ao quadro clínico apresentado no ato da consulta, as *odds ratio* ajustadas revelam uma correlação estatisticamente significativa entre os sintomas tosse, febre, e mialgias e um caso de SG ser confirmado laboratorialmente como Gripe (Tabela 3).

Nos casos em que foi detetado o vírus influenza A(H1) pdm09 verificou-se a mesma correlação significativa com

Tabela 1 - Caracterização dos casos de Síndrome Gripal notificados segundo a origem da notificação, género e grupo etário.

Variáveis	N.º casos notificados	%	
Origem da notificação	Médicos Sentinela	470	34,4
	Projecto EuroEVA	288	21,1
	Serviços de Urgência	608	44,5
	Total	1366	100,0
Género	Masculino	601	44,0
	Feminino	764	56,0
	Total*	1365	100,0
Grupo etário	0-4	52	3,9
	5-14	168	12,4
	15-44	705	52,2
	45-64	265	19,6
	> 65	160	11,9
	Total**	1350	100,0

* Não está incluído 1 caso para o qual não foi obtida informação sobre o género;

** Não estão incluídos 16 casos para os quais não foi obtida informação sobre a idade.

Tabela 2 - Distribuição, por grupo etário, dos casos analisados laboratorialmente. Resultados da pesquisa de vírus influenza.

Grupo etário	N.º casos SG analisados	% Positivos (n)	% Positivos A (n)	% Positivos B (n)
0-4	34	32,4 (11)	81,8 (9)	18,2 (2)
5-14	115	70,4 (81)	33,3 (27)	66,7 (54)
15-64	736	57,6 (424)	61,3 (260)	38,7 (164)
> 65	116	19,0 (22)	54,5 (12)	45,5 (10)
Total*	1001	53,7 (538)	57,2 (308)	42,8 (230)

*Não estão incluídos 16 casos para os quais não foi obtida informação sobre a idade, 8 (50,0%) dos quais foram positivos para Gripe [2 (25,0%) casos associados a infeção com Influenza A e 6 (75,0%) associados com infeção com Influenza B]

Tabela 3 - Associação entre os sinais/sintomas presentes nos casos notificados e um diagnóstico laboratorial positivo para Gripe, independentemente do (sub)tipo e associada a vírus influenza A(H1N1)pdm09 e B/Victoria. Indicação dos *Odds Ratio* brutos e ajustados com intervalo de confiança a 95%.

Sinal/sintoma	Gripe					Gripe A(H1)pdm09					Gripe B(Vic)					
	OR (bruto)	95% IC	OR (ajustado)	95% IC	OR (bruto)	95% IC	OR (ajustado)	95% IC	OR (bruto)	95% IC	OR (ajustado)	95% IC	OR (bruto)	95% IC	OR (ajustado)	95% IC
Início súbito	1,16	0,81-1,68	0,68	0,39-1,20	1,20	0,78-1,87	0,58	0,29-1,15	1,16	0,73-1,88	0,80	0,40-1,57				
Febre	4,66	2,63-8,65	4,25	1,84-9,83	4,02	2,04-8,62	5,99	1,86-19,26	5,64	2,39-16,21	3,24	1,15-9,09				
Mal-estar	1,11	0,72-1,71	0,78	0,40-1,50	1,01	0,61-1,67	0,64	0,28-1,44	1,29	0,73-2,36	0,94	0,41-2,14				
Cefaleia	1,83	1,33-2,51	1,05	0,65-1,69	1,54	1,06-2,23	0,78	0,44-1,38	2,40	1,54-3,79	1,44	0,79-2,63				
Mialgia	2,06	1,38-3,10	2,47	1,37-4,47	3,57	2,00-6,69	5,89	2,31-15,02	1,31	0,82-2,13	1,32	0,68-2,56				
Tosse	3,93	2,34-6,80	3,81	1,92-7,54	6,14	2,88-15,02	6,73	2,28-19,89	2,57	1,39-5,07	2,46	1,12-5,38				
Dor de garganta	1,03	0,76-1,40	0,87	0,57-1,33	0,84	0,60-1,20	0,62	0,32-1,02	1,39	0,93-2,11	1,25	0,73-2,14				
Dificuldade respiratória	0,57	0,42-0,79	0,84	0,50-1,41	0,58	0,39-0,85	0,83	0,44-1,55	0,52	0,33-0,80	0,78	0,41-1,50				
Arrepios	1,45	1,05-2,01	1,00	0,63-1,60	1,74	1,17-2,62	1,01	0,56-1,81	1,17	0,79-1,76	0,93	0,54-1,62				
Contacto com outro doente com gripe	1,52	1,08-2,14	1,45	0,98-2,14	1,69	1,13-2,53	1,55	0,97-2,46	1,36	0,89-2,06	1,22	0,76-1,95				

os sintomas tosse, febre e mialgias. Quando o vírus influenza detetado foi do tipo B (linhagem Victoria), verificou-se uma correlação significativa com os sintomas, febre e tosse.

Caraterização dos vírus influenza

A análise antigénica e genética dos vírus influenza isolados no LNRVG na época de 2010/2011 revelou que, de uma maneira geral, estes foram semelhantes às estirpes virais que constituíram a vacina antigripal recomendada para a época.

As 70 estirpes virais da linhagem B/Victoria analisadas apresentaram, na RIH, uma alta reatividade com o anti-soro anti-influenza B/Brisbane/60/2008 (estirpe de vírus influenza B que integrou a vacina antigripal trivalente de 2010/2011). A análise genética baseada na subunidade HA1 do gene da hemaglutinina, realizada em 19 vírus influenza B/Victoria (18 estirpes isoladas em culturas celulares e 1 amostra clínica designada por EE98) demonstrou uma elevada semelhança genética com a estirpe vacinal B/Brisbane/60/2008, apresentando as substituições de aminoácidos características deste grupo filogenético. A substituição I146V, observada em quase todas as estirpes isoladas foi a única a ocorrer num local antigénico da hemaglutinina. O vírus influenza B/Yamagata isolado (B/Lisboa/9/2011) foi antigenicamente semelhante a B/Florida/4/2006 (estirpe vacinal na época 2008/2009). A análise genética deste vírus, bem como a de uma estirpe presente numa amostra clínica (EE222), revelaram a sua semelhança com as estirpes de referência B/Bangladesh/3333/2007 e B/Wisconsin/1/2010.

A partir das amostras clínicas positivas para vírus influenza A(H1N1)pdm09 foram obtidos 2 isolados que se revelaram antigenicamente semelhantes à estirpe vacinal A/California/7/2009. A análise genética dos vírus A(H1N1)pdm09 isolados e dos detetados em 12 amostras clínicas positivas demonstrou a distribuição destes vírus por 4 dos grupos genéticos atualmente identificados¹⁰ para este subtipo (Fig. 2).

As substituições de aminoácidos relativas a A/California/7/2009 são apresentadas na Tabela 4.

Todas as estirpes partilham as substituições P83S, S203T e I321V. Os vírus A/Lisboa/6/2010 e o vírus detetado na amostra SU83 acumulam ainda a substituição N125D (grupo A/Christchurch/16/2010); o vírus detetado na amostra EE53 adquiriu as substituições A134T e S183P (grupo A/Toulon/1173/2011); os vírus detetados nas amostras SU364, SU497, SU252, EE235, SU410 e EE194 partilham as mutações D97N, R205K, I216V e V249L (grupo A/As-trakhan/1/2011); os vírus do grupo A/St.Petersburg/27/2011 (A/Lisboa/1/2011, e os vírus detetados nas amostras SU44+, EE221, SU347 e SU421) têm em comum as mutações D97N e S185T. De entre as substituições referidas, as seguintes ocorreram em locais antigenicamente importantes: N125D, S185T, S203T, R205K.

Da pesquisa das mutações associadas à resistência aos antivirais e à determinação dos valores do IC₅₀ para

o oseltamivir e zanamivir pelo método de fluorescência (ensaio fenotípico) verificou-se que, desde o surgimento do vírus pandémico até à presente data, foram detetadas 3 estirpes do vírus da gripe A(H1N1)pdm09 possuidoras da substituição H275Y no gene da neuraminidase, uma das quais confirmada resistente ao oseltamivir através de ensaio fenotípico. As 49 estirpes do vírus influenza B avaliadas pelo método de fluorescência revelaram-se sensíveis ao oseltamivir e zanamivir.

DISCUSSÃO

A época de vigilância da gripe de 2010/2011 caracteriza-se por ser a época posterior à primeira pandemia do século XXI associada à circulação de um novo subtipo de vírus influenza. Este vírus é caracterizado por uma recombinação genética de vírus influenza de origens diferentes, humana, aviária e suína. A sua dispersão ocorreu de forma muito rápida e à escala mundial, temendo-se poder também estar associado a características clínicas mais graves da doença e a taxas de morbidade e mortalidade, associadas à infeção, elevadas. No decorrer das duas últimas épocas de vigilância da gripe, de 2009/2010 e 2010/2011, verificou-se a circulação do vírus da gripe pandémico, A(H1N1)pdm09, sendo no entanto de salientar que na época da pandemia (2009/2010) este se apresentou com características particulares no que diz respeito à sua distribuição temporal, aos grupos etários mais afetados, aos casos de infeção grave e de óbito, e aos fatores de risco associados. Em 2009/2010 foi detetado um número elevado de casos de gripe durante os meses de verão, sendo a proporção destes mais elevada no grupo etário dos 5-14 anos e mais baixa nos indivíduos mais velhos com idade superior a 50 anos.¹¹ Os óbitos ocorreram essencialmente em indivíduos adultos com idade média de 47,6 anos,¹² contrastando com o descrito em épocas anteriores em que o grupo dos mais velhos era o mais afetado. Foi referido nos mais velhos a presença de imunidade adquirida para o vírus da gripe A(H1N1)pdm09, o que justificaria a baixa taxa de ataque neste grupo.¹³ Aos casos de óbito estiveram também associados fatores de risco como a obesidade mórbida (IMC≥40) e a gravidez/ puerpério, até então pouco valorizados.¹¹

Na época pós pandémica, 2010/2011, as características clínicas e epidemiológicas da doença associadas ao vírus pandémico revelaram-se muito semelhantes às de uma gripe sazonal.

A época de 2010/2011 foi uma época clássica, tal como na maioria dos países europeus. À semelhança de épocas anteriores, foi no período de inverno em que a circulação do vírus da gripe se intensificou.¹⁴ A deteção dos primeiros vírus ocorreu no início de outubro e o período epidémico, com 8 semanas de duração, decorreu entre a semana 50/2010 e a semana 5/2011. Durante este período a taxa de incidência atingiu o valor máximo de 121,12 casos por 100 000 habitantes, na semana 52, sendo a atividade gripal considerada alta / moderada.

Da análise virológica, podemos dizer que a época teve uma apresentação bifásica, primeiramente dominada pelo

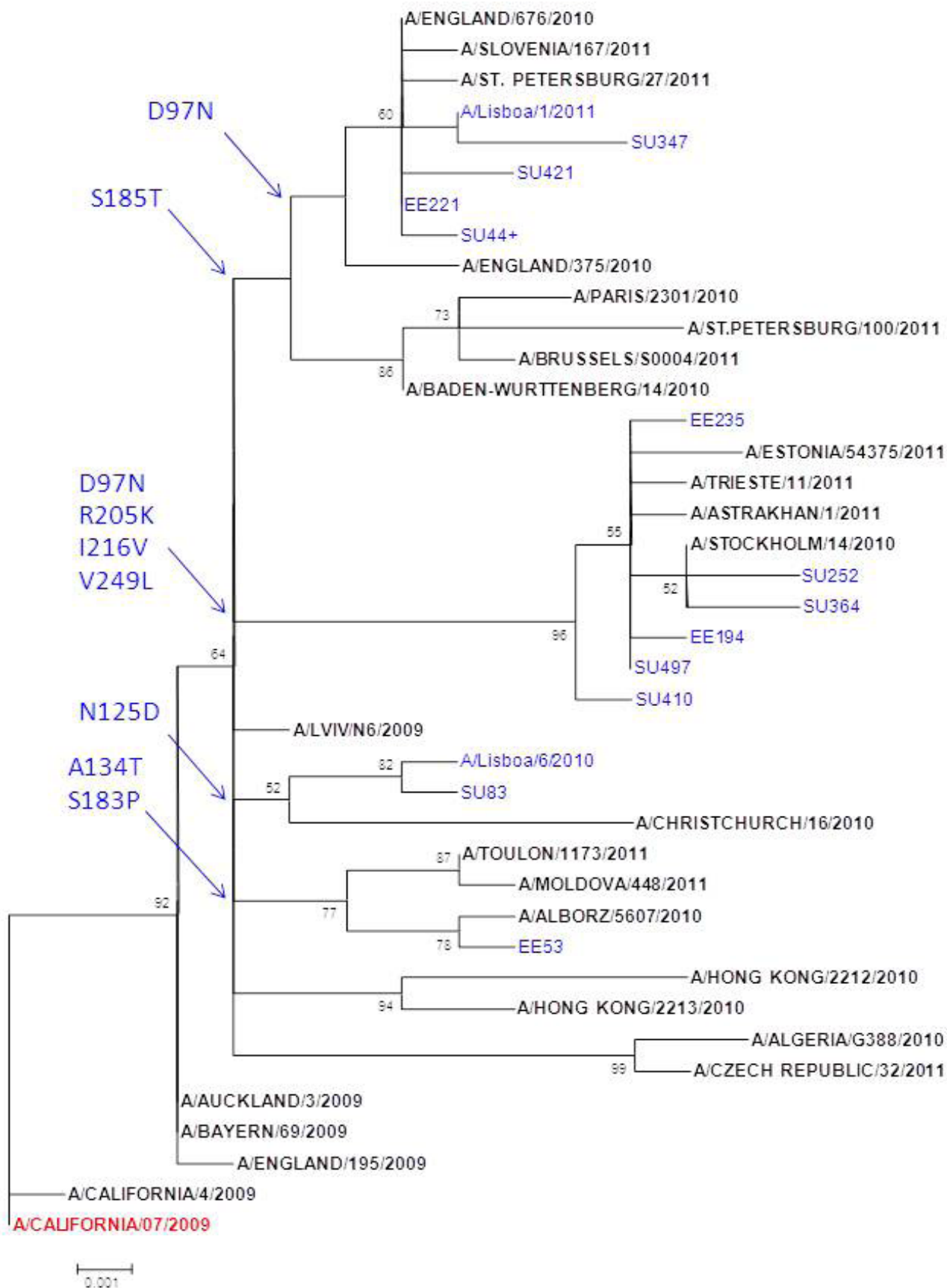


Fig. 2 – Árvore filogenética das estirpes de influenza A(H1)pdm09. As estirpes analisadas estão representadas a azul, a estirpe vacinal a vermelho e as estirpes de referência a negrito. São mostrados os valores de bootstrap superiores a 70.

vírus influenza B (linhagem Victoria) e mais tarde pelo surgimento do vírus influenza A(H1N1)pdm09, sendo este último o detetado num maior número de casos (55,7%). A deteção dos vírus influenza do subtipo A(H3) e B (Yamagata) foi esporádica. O vírus influenza A(H1) sazonal não foi detetado.

As estirpes A(H1N1)pdm09 e B/Victoria isoladas mostraram-se antigenicamente e geneticamente muito semelhantes às estirpes incluídas na composição da vacina disponível para a época.

A maioria das estirpes do vírus da gripe A (H1N1)pdm09 permanecem ainda sensíveis ao oseltamivir e zanamivir, tendo sido detetados apenas alguns casos esporádicos de vírus resistentes ao oseltamivir. Todas as estirpes do vírus da gripe A(H1N1)pdm09 resistentes ao oseltamivir possuem a substituição H275Y no gene da neuramindase e estão geralmente associadas a casos de infeção em doentes imunodeprimidos em fase de tratamento com o antiviral.¹⁵ A transmissão das estirpes resistentes pessoa-a-pessoa foi documentada esporadicamente, como o surto descrito na Austrália¹⁶ e mais recentemente os dois casos de turistas holandeses regressados de férias em Espanha (Catalunha) onde se pensa terem contraído a infeção.¹⁷ Das 3 estirpes do vírus da gripe A(H1)pdm09 resistentes ao oseltamivir detetadas, no LNRVG, apurou-se que dois dos casos estavam associados a doentes imunossuprimidos em tratamento com o antiviral e que um outro caso foi detetado na comunidade sem evidência de tratamento prévio com antivirais. Os vírus influenza A(H1N1)pdm09 mantêm-se sensíveis ao zanamivir o que pode constituir alternativa terapêutica em casos de infeção grave. A monitorização das resistências aos antivirais é de grande importância para a deteção precoce de estirpes que apresentem resistências e que circulem na comunidade de forma a permitir tomada de medidas consideradas necessárias para conter a disseminação na população humana destas estirpes.

Durante a época de 2010/2011 todos os grupos etários foram afetados pelo vírus da gripe, os casos onde o vírus foi detetado em maior número (70,4%) foi no grupo das crianças em idade escolar (5-14 anos) com uma taxa de incidência acumulada na época de 1590,4 casos por 100 000 habitantes. Foi também neste grupo que o vírus da gripe do tipo B foi detetado em maior percentagem (66,7%), o que está de acordo com o descrito em estudos anteriores.¹⁸ O grupo das crianças em idade escolar é aquele onde a transmissão do vírus ocorre de forma muito rápida devido aos seus comportamentos.¹⁹ Os vírus influenza do tipo A foram detetados em número mais elevado na população adulta (15-64 anos). Foi na população idosa com idade igual ou superior a 65 anos que foi detetado o menor número de casos de gripe, o que poderá estar associado ao facto de pertencerem a um dos grupos alvo para a administração da vacina antigripal onde a adesão à vacinação é a mais elevada.^{20,21}

No âmbito do PNVG foram ainda estudados os sintomas/sinais considerados para a definição de caso de SG (Tabela 3), sendo possível verificar que na época em es-

tudo os sintomas/sinais como a febre, tosse e mialgias revelaram estar associados a um risco aumentado para a confirmação laboratorial de um caso de gripe.²²

Para os casos de infeção pelo vírus da gripe do tipo B verificou-se que as mialgias não estavam tão frequentemente associadas a estes casos.

A época de vigilância em análise, 2010/2011, é em tudo muito comparável às épocas, dos últimos 20 anos, onde o vírus influenza do tipo A predominou, exceção feita às épocas de 1998/99, 2001/02 e 2004/05 onde as taxas de incidência máximas atingiram valores superiores a 200 casos por 100 000 habitantes, tendo predominado nestas épocas o vírus do subtipo A(H3).²³

O Sistema de Vigilância, apesar de apresentar algumas limitações que devem ser tomadas em conta na interpretação dos dados (impossibilidade de seleção da população em observação como uma amostra representativa da população portuguesa, e subnotificações ou sobrenotificações de casos de SG), tem como objetivo principal a apresentação de informação rigorosa que permita avaliar a situação da gripe em Portugal e tomar decisões para aplicação de medidas de controlo da infeção.

A integração de diversas fontes de informação no PNVG constitui um contributo importante para o conhecimento clínico e epidemiológico desta infeção respiratória. No caso dos SU e projeto Imove/EuroEva embora a sua inclusão tenha permitido uma melhor caracterização dos casos de Gripe, o facto de se tratar de uma amostra de conveniência, imprescindível para os objetivos do Programa de Vigilância, implica que seja necessário adotar certas precauções na interpretação global dos resultados.

O constante aperfeiçoamento do Sistema de Vigilância, resultante do empenho de todos os seus intervenientes, tem contribuído para uma melhor caracterização das epidemias de Gripe que ocorrem no nosso País.

CONCLUSÃO

A existência de um Programa de Vigilância da Gripe com a integração da componente clínica e laboratorial permite anualmente descrever a atividade dos vírus da gripe em Portugal e efetuar o estudo das suas características antigénicas e genéticas. A monitorização da ocorrência de surtos e do aparecimento de estirpes virais resistentes aos antivirais constitui motivo de grande importância para a realização de uma vigilância contínua da atividade gripal a nível nacional.

AGRADECIMENTOS

A todos os médicos de família da Rede Médicos Sentinela que participaram no Programa de Vigilância da Gripe. A todos aqueles que nos Serviços de Urgência foram o "rosto" de equipas mais vastas, pelo seu empenho na notificação de casos.

A todos os médicos que participaram no Programa de Vigilância no âmbito do Projeto EuroEVA.

Aos membros do Departamento de Doenças Infecciosas envolvidos na componente laboratorial da vigilância:

Ana Pelerito, Carla Roque, Carlos Ribeiro, Catarina Fernandes, Joana Mendonça, João Brandão, Lúcia Reis, Raquel Neves e Tânia Reis.

À Inês Batista pela gestão e operação de dados da componente clínica da Rede Médicos Sentinela.

A Carlos Dias enquanto coordenador da Rede Médicos Sentinela.

REFERÊNCIAS

- World Health Organization. Manual for the laboratory diagnosis and virological surveillance of influenza. WHO Global Influenza Surveillance Network. 2011.
- Zambon M. Epidemiology and Pathogenesis of Influenza. *J Antimicrob Chemother.* 1999;44:3-9.
- Nunes B, Viboud C, Machado A, Ringholz C, Rebelo-de-Andrade H, Nogueira P, et al. Excess Mortality Associated with Influenza Epidemics in Portugal, 1980 to 2004. *PLoS ONE.* 2011;6(6):e20661.
- Pechirra P, Gonçalves P, Arraiolos A, Coelho A, Rebelo-de-Andrade H. Characterization of Influenza A/Fujian/411/2002(H3N2)-Like Viruses Isolated in Portugal Between 2003 and 2005. *J Med Virol.* 2008;80:1624-30.
- Health Protection Agency. Real-Time Quadruplex PCR for the detection of Influenza. National Standard Method VSOP. 2006 25(1).(não publicado)
- Norwegian Institute of Public Health. Protocol for the lineage specific detection of Influenza B virus lineages Yamagata and Victoria by real-time RT-PCR. 2010 (não publicado)
- Tamura K, Peterson D, Peterson N, Stecher G, Nei M, Kumar S. MEGA5: Molecular Evolutionary Genetics Analysis using Maximum Likelihood, Evolutionary Distance, and Maximum Parsimony Methods. *Mol Biol Evol.* 2011;28:2731-9.
- van der Vries E, Jonges M, Herfst S, Maaskant J, van der Linden A, Guldemeester J, et al. Evaluation of a rapid molecular algorithm for detection of pandemic influenza A (H1N1) 2009 virus and screening for a key oseltamivir resistance (H275Y) substitution in neuraminidase. *J Clin Virol.* 2010;47:34-7.
- Médicos-Sentinela. O que se fez em 2008. Lisboa: Instituto Nacional de Saúde Dr. Ricardo Jorge, Departamento de Epidemiologia; 2010.
- European Centre for Disease Prevention and Control. Influenza virus characterisation. Summary Europe, June 2012. CNRL Technical document. Stockholm: ECDC; 2012 Disponível em: <http://ecdc.europa.eu/en/publications/Publications/Influenza-visus-characterisation-June-2012.pdf>. [Acedido em 14/09/2012].
- Direção-Geral da Saúde. Relatório da Pandemia da Gripe em Portugal:2009. Lisboa: DGS; 2010. Disponível em:<http://www.dgs.pt/upload/membro.id/ficheiros/i013574.pdf>. [Acedido em 13/09/2012]
- Froes F, Diniz A, Falcão I, Nunes B, Catarino J. Óbitos por gripe pandémica A (H1N1) 2009 em Portugal. Período de Abril de 2009 a Março de 2010 *Ver Port Med Int* 2010, 17(4) Disponível em: http://www.spci.pt/Revista/Vol_17_4/Revista_SPCI_7_Dez_Artigo_PT.pdf [Acedido em 13/09/2012]
- Miller E, Hoschler K, Hardelid P, Stanford E, Andrews N, Zambon M. Incidence of 2009 pandemic influenza A H1N1 infection in England: a cross-sectional serological study. *Lancet.* 2010;375:1100-8.]
- Instituto Nacional de Saúde Dr. Ricardo Jorge. A gripe em Portugal nas épocas 2008/2009 e 2009/2010. Relatório do Programa Nacional de Vigilância da Gripe. Lisboa: INSA:2010. Disponível em: http://www.insa.pt/sites/INSA/Portugues/Publicacoes/Outros/Documents/DoencasInfecciosas/Relatorio_PNMG_2008-2010.pdf [Acedido em 31/01/2012].
- World Health Organisation. Global Monitoring of antiviral resistance in currently circulating human influenza viruses. *Wkly Epidemiol Rec.* 2011;86:497-508.
- European Centre for Disease Prevention and Control. Oseltamivir-resistant influenza A(H1N1)2009 cluster in Australia. September 2011. CNRL Rapid Risk Assessment. Stockholm: ECDC;2011. Disponível em: http://ecdc.europa.eu/en/publications/Publications/110906_TER_Rapid_Risk_Assessment_Oseltamivir-resistant%20influenza%20A.pdf. [Acedido em 31/01/2012].
- Meijer A, Jonges M, van Beek P, Swaan CM, Osterhaus AD, Daniels RS, et al. Oseltamivir-resistant influenza A(H1N1)pdm09 virus in dutch travellers returning from Spain, August 2012. *Eurosurveillance.* 2012, 17;pii:20266.
- World Health Organisation. Review of the 2010–2011 winter influenza season, northern Hemisphere. *Wkly Epidemiol Rec.* 2011;86:222-7.
- Rebelo de Andrade H, Diniz A, Froes F. Gripe.Lisboa:Sociedade Portuguesa de Pneumologia; 2003.
- Branco MJ, Nunes B. Vacinação antigripal da população portuguesa, em 2010-2011: cobertura e algumas características do acto vacinal. Relatório. Lisboa: Instituto Nacional de Saúde Dr. Ricardo Jorge. Departamento de Epidemiologia, 2011. Disponível em: <http://www.insa.pt/sites/INSA/Portugues/Publicacoes/Outros/Paginas/VacinacaoAntigripal2010-2011.aspx>. [Acedido em 31/01/2012].
- Miller E, Hoschler K, Hardelid P, Stanford E, Andrews N, Zambon M. Incidence of 2009 pandemic influenza A H1N1 infection in England: a cross-sectional serological study. *Lancet.* 2010;375:1100-8.
- Monto AS, Gravenstein S, Elliott M, Colopy M. Clinical signs and symptoms predicting influenza infection. *Arch Intern Med.* 2000;160:3243-7.
- Rebelo de Andrade H, Garcia AC, Maltez F, Mansinho K, Borges F, Peres S, et al. Gripe Sazonal, de Transmissão Zoonótica e Pandémica – Diagnóstico virológico. Lisboa: Instituto Nacional de Saúde Dr. Ricardo Jorge: 2006.

CONFLITO DE INTERESSES

Os autores declaram não existir qualquer conflito de interesses relativamente ao presente artigo.

FONTES DE FINANCIAMENTO

Não existiram fontes externas de financiamento para a realização deste artigo.