

artigos breves\_ n. 8

## Vigilância da Gripe em Portugal no inverno 2012/2013

Raquel Guíomar<sup>1</sup>, Paula Cristóvão<sup>1</sup>, Patrícia Conde<sup>1</sup>,  
Carla Roque<sup>1</sup>, Ausenda Machado<sup>2</sup>, Baltazar Nunes<sup>2</sup>,  
Pedro Pechirra<sup>1</sup>

raquel.guioamar@insa.min-saude.pt

(1) Laboratório Nacional de Referência para o Vírus da Gripe.  
Departamento de Doenças Infecciosas, INSA.

(2) Departamento de Epidemiologia, INSA.

O Programa Nacional de Vigilância da Gripe contribui para o conhecimento da epidemiologia da gripe em Portugal através da integração das componentes da vigilância clínica e laboratorial. Desta forma, possibilita a determinação semanal das taxas de incidência da síndrome gripal e a identificação e caracterização das estirpes do vírus influenza circulantes na população, a deteção de surtos e de vírus da gripe emergentes com potencial pandémico e que constituam um risco para a saúde pública. Pretende, em última instância, contribuir para a diminuição da morbilidade e mortalidade associada à infeção e suas complicações, servindo de suporte à orientação de medidas de prevenção e controlo da doença. Os dados nacionais integram semanalmente os boletins das Redes Europeias de vigilância da gripe coordenadas pelo Centro Europeu para a Prevenção e Controlo de Doenças (ECDC) e Organização Mundial da Saúde (OMS).

### Vigilância Clínica

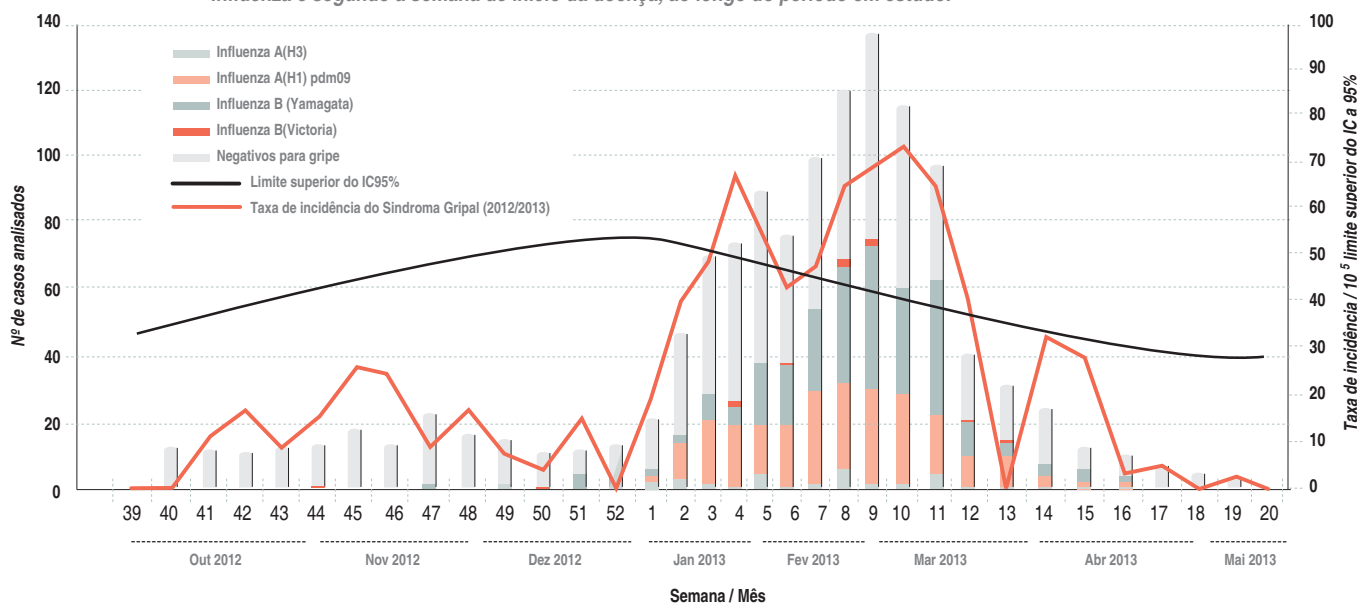
Na época 2012/2013 foram notificados um total de 1436 casos de síndrome gripal (SG) pelas redes Médicos-Sentinel e Serviços de Urgência (1). A atividade gripal foi considerada moderada e o maior número de notificações foi observado entre o final de janeiro e a primeira quinzena de março. O período epidémico (2) ocorreu entre as semanas 4/2013 e 11/2013, com um valor máximo de 69,6 casos de SG por 100 000 habitantes na semana 10/2013 (Gráfico 1). A maior parte das notificações corresponderam a indivíduos do género feminino (56,7%). O grupo etário mais representado foi o correspondente à população jovem/adulta com idades compreendidas entre os 15 e os 44 anos (41,8%).

### Vigilância Laboratorial

#### Vírus Influenza

A análise laboratorial realizada a 1262 exsudados da nasofaringe permitiu a identificação de um vírus respiratório em 778 (61,6%) casos de síndrome gripal (Gráfico 2). O vírus influenza foi detetado em 549 (43,5%) casos de SG (em 536 casos como único agente etiológico e em 13 casos associado a outros vírus respiratórios). Foram identificados 267 (21,2%) casos de infeção por influenza B da linhagem Yamagata e 225 (17,8%) casos por influenza A(H1)pdm09 (Gráfico 1 e 2). Foram também detetados de forma esporádica 34 (2,7%) vírus influenza do subtipo A(H3) e 10 (0,8%) vírus influenza B da linhagem Victoria (Gráfico 1 e 2). O vírus do subtipo A(H1) sazonal não foi detetado nos casos estudados.

Gráfico 1: Distribuição semanal dos casos de Gripe detetados por RT-PCR em tempo-real, por tipo/subtipo do vírus influenza e segundo a semana de início da doença, ao longo do período em estudo.



n influenza A(H1)pdm09=232<sup>a</sup>; n influenza A(H3)=35<sup>b</sup>; n influenza B/Yamagata=272<sup>c</sup>; n influenza B/Victoria=10; n negativos 713; n total=1262

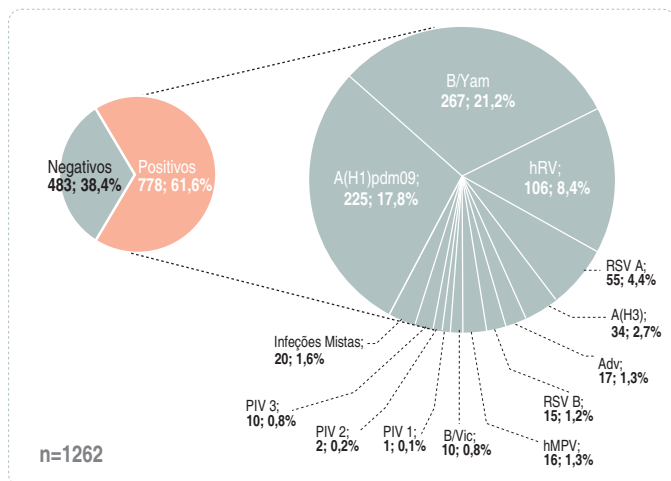
a) inclui 7 vírus A(H1)pdm09 associados a outros vírus respiratórios; b) inclui 1 vírus A(H3) associado a outros vírus respiratórios;  
c) inclui 5 vírus B/Yamagata associados a outros vírus respiratórios;

Inclui taxas de incidência semanais de SG por 100 000 habitantes, no período em estudo (2012/2013) com indicação do limite superior do IC a 95% da área de atividade basal.

→ continua

artigos breves\_ n. 8

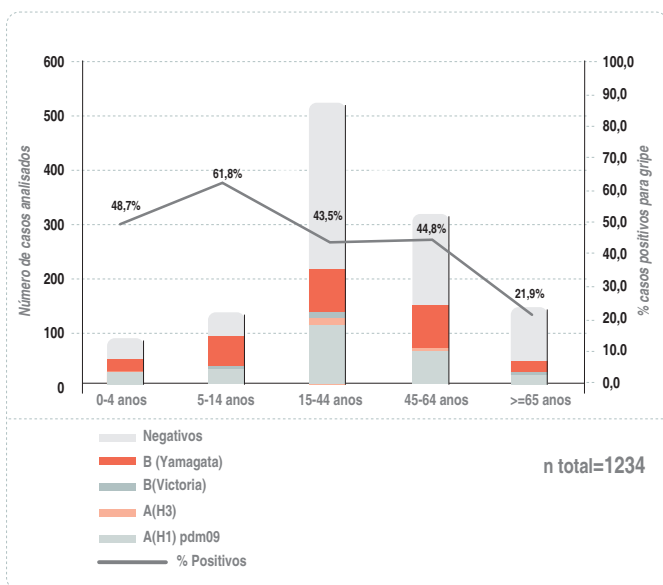
**Gráfico 2:** Distribuição percentual dos casos de SG notificados com envio de exsudado da nasofaringe, segundo os resultados obtidos no diagnóstico laboratorial para gripe e outros vírus respiratórios.



O vírus influenza A(H1)pdm09 e B/Yamagata co-circularam durante a época 2012/2013, e foram detetados em circulação simultânea no decorrer de praticamente todo o inverno, especialmente entre as semanas 1/2013 e 16/2013 (Gráfico 1).

Nos casos de síndrome gripal notificados para cada grupo etário (Gráfico 3), a maior percentagem de casos de gripe verificou-se em crianças com idade compreendida entre os 5 e os 14 anos (61,8%; 94/162).

**Gráfico 3:** Distribuição dos casos de Gripe por grupo etário no período em estudo.



Foram excluídos da análise 28 casos, por não apresentarem informação sobre a idade.

**Outros vírus respiratórios**

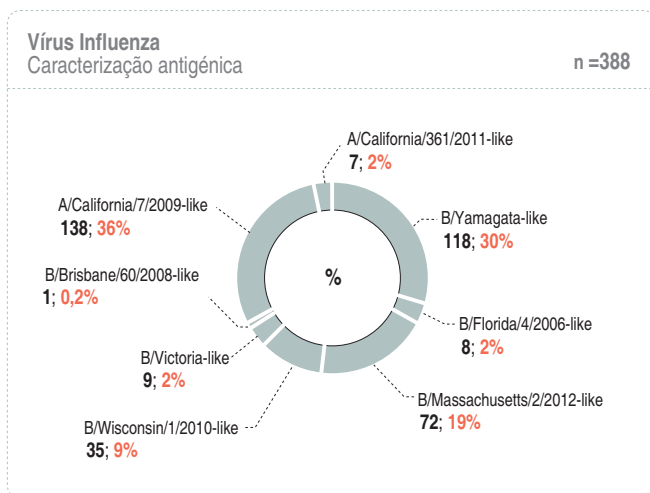
O rinovírus humano e o vírus sincicial respiratório foram identificados em 8,4% (106/1262) e 5,6% (70/1262), respetivamente, dos casos de síndrome gripal, sendo detetados ao longo de toda a época gripal em co-circulação com o vírus influenza (Gráfico 2). O rinovírus humano antecedeu a época de gripe e o vírus sincicial respiratório foi detetado com os primeiros casos de gripe, acompanhando a circulação do vírus influenza ao longo da época de vigilância.

Foram detetados outros vírus respiratórios, mas com frequências mais baixas, como o adenovírus (17/1262; 1,3%), o metapneumovírus humano (16/1262; 1,3%) e o vírus parainfluenza (13/1262; 1,1%).

**Caraterização antigénica e genética**

Os vírus da gripe detetados durante 2012/2013, quer na vigilância clínica e laboratorial (n=549/1262), quer através da Rede Portuguesa de Laboratórios para o Diagnóstico da Gripe (n=165, recebidos no INSA) foram objeto de análise complementar no Laboratório Nacional de Referência para o Vírus da Gripe (LNRVG). A análise antigénica realizada revelou que os vírus influenza do tipo A foram semelhantes às estirpes vacinais 2012/2013 (3) para os subtipos A(H3) e A(H1)pdm09 (Gráfico 4). A maioria dos vírus influenza B/Yamagata evidenciaram uma deriva antigénica relativamente à estirpe vacinal para a época 2012/2013, aproximando-se da estirpe B/Massachusetts/2/2012, estirpe que integrará a vacina antigripal 2013/2014 (Gráfico 4).

**Gráfico 4:** Caracterização antigénica das estirpes de vírus influenza A e B, isoladas na época 2012/2013.



artigos breves\_ n. 8

\_O LNRVG caracterizou geneticamente 43 vírus influenza B/Yamagata, 33 vírus A(H1)pdm09, 8 A(H3) e 6 B/Victoria. Os vírus predominantes na época em análise [influenza B/Yamagata e A(H1)pdm09] revelaram também alguma diversidade genética, tendo sido registadas algumas substituições de aminoácidos em locais antigénicos da glicoproteína viral hemaglutinina que podem estar na origem da sua deriva antigénica. Os vírus influenza B/Yamagata dividiram-se por 2 clades genéticos: 19 vírus pertencem ao clade 2 (que integra também as estirpes de referência B/Estonia/55669/2011 e B/Massachusetts/2/2012) e 24 integram o clade 3 representado por B/Wisconsin/1/2010. Vinte e oito dos 33 vírus pandémicos A(H1)pdm09 caracterizados são do grupo genético 6 (A/St. Petersburg/27/2011), os restantes 5 vírus pertencem ao grupo genético 7 (A/St. Petersburg/100/2011).

**\_Monitorização da resistência aos antivirais**

Foram selecionadas 90 estirpes do vírus influenza B, 60 estirpes de vírus A(H1)pdm09 e 2 estirpes de vírus A(H3) para a realização dos ensaios fenotípicos de sensibilidade aos inibidores da neuraminidase (NAI). A susceptibilidade dos vírus influenza ao oseltamivir e zanamivir difere de acordo com o tipo/subtipo do vírus influenza (tipo de neuraminidase). A análise estatística dos resultados obtidos revelou, que todas as estirpes analisadas são susceptíveis ao oseltamivir e ao zanamivir (*Quadro I*).

\_No entanto, os valores de IC<sub>50</sub> (metade da máxima concentração inibitória) obtidos para os vírus influenza B, revelam a presença de 9 estirpes *outliers* para o oseltamivir (6 *minor outliers* e 3 *major outliers*) e de 13 estirpes *minor outliers* para o zanamivir. Quando avaliados os valores de IC<sub>50</sub> obtidos para os vírus influenza A(H1)pdm09, 8 estirpes foram consideradas *outliers* para o zanamivir (7 *minor outliers* e 1 *major outlier*).

\_Os valores medianos de IC<sub>50</sub> para o oseltamivir e zanamivir diferem entre vírus influenza do tipo A e B, exibindo os vírus influenza B valores mais elevados. Os vírus influenza B de diferentes linhagens, B/Yamagata e B/Victoria, mostram valores de IC<sub>50</sub> mais elevados para a linhagem B/Victoria (*Quadro I*).

\_A análise dos valores medianos de IC<sub>50</sub> (para ambos os inibidores da neuraminidase) ao longo das últimas épocas (2009-2013) revelou que entre os vírus B/Yamagata, estes valores foram mais baixos na presente época (bem como em 2010/2011 <sup>(4)</sup>) comparativamente com a época 2011/2012 <sup>(2)</sup>. Os valores medianos de IC<sub>50</sub> apresentados pelos vírus A(H1)pdm09 (dados não publicados) e A(H3) <sup>(2)</sup> mantêm-se estáveis desde 2009.

\_Os ensaios genómicos para monitorização da susceptibilidade aos NAI dos vírus influenza A(H1)pdm09 e influenza B (n=265 e n=8, respectivamente) foram realizados através da sequenciação do gene da neuraminidase e/ou PCR para deteção da mutação H275Y. Nenhum dos vírus estudados, incluindo os *minor* e *major outliers*, apresentou qualquer substituição de aminoácidos associada à redução de susceptibilidade aos inibidores da neuraminidase: D199N, I223R, N295S e H275Y [vírus pandémico A(H1)pdm09] e R150K, D197N/E, I221T, N294S e G407S (vírus da gripe tipo B). <sup>(5,6,7)</sup>

**\_Conclusão**

Na época de vigilância 2012/2013, o período epidémico foi tardio e de duração semelhante à época anterior. Verificou-se a co-circulação dos vírus influenza sazonais com maior destaque para a circulação do vírus influenza A(H1)pdm09 e vírus influenza B, da linhagem Yamagata. A atividade gripal foi moderada ao longo do último inverno com taxas de incidência de casos de síndrome gripal inferiores às verificadas na passada época de 2011/2012.

O diagnóstico diferencial de outros vírus respiratórios permitiu uma melhoria na caracterização dos casos de síndrome gripal, tendo sido identificado o agente etiológico em 62% dos casos.

\_A monitorização da susceptibilidade aos antivirais assumiu desde 2007 elevada importância na vigilância da gripe, sendo hoje uma das atividades da responsabilidade dos laboratórios nacionais de referência que integram as redes europeias <sup>(8)</sup>, coordenadas pelo ECDC e OMS. Na presente época, o estudo da susceptibilidade do vírus influenza A e B aos antivirais NAI revelou, que todas as estirpes analisadas são susceptíveis ao oseltamivir e ao zanamivir.

**Quadro 1:** ↓ Valores de linha de base IC<sub>50</sub> para os vírus influenza A e B, na época de 2012/2013.

Vírus influenza (sub)tipo	Mediana ± Desvio-padrão robusto <sup>a)</sup> (nM)		
	n	Osetamivir	Zanamivir
A(H3)	2 <sup>b)</sup>	0,42 ± 1,44	0,76 ± 1,24
A(H1)pdm09	60	0,87 ± 2,08	0,80 ± 1,56
B/Yamagata	80	14,85 ± 1,38	2,82 ± 1,30
B/Victoria	10	31,57 ± 1,72	3,86 ± 1,52

a) Os valores de linha de base IC<sub>50</sub> foram determinados pela análise estatística efetuada pelo programa Robust Excel.

b) Apenas 2 vírus influenza A(H3) foram analisados na época 2012/2013.

**artigos breves\_ n. 8**

**\_Agradecimentos**

À Rede Portuguesa de Laboratórios para o Diagnóstico da Gripe, aos Médicos Sentinela, aos Serviços de Urgência, aos participantes no estudo EuroEVA.

À Unidade Laboratorial Integrada e à Unidade de Tecnologia e Inovação do Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge.

**Referências bibliográficas:**

- (1) European Centre for Disease Prevention and Control. Influenza Case Definitions [Em linha]. Disponível em: [http://ecdc.europa.eu/en/activities/surveillance/EISN/surveillance/Pages/influenza\\_case\\_definitions.aspx](http://ecdc.europa.eu/en/activities/surveillance/EISN/surveillance/Pages/influenza_case_definitions.aspx) [consult.22-3-2012].
- (2) Gonçalves P, Pechirra P, Conde P, et al. Programa Nacional de Vigilância da Gripe - Relatório da Época 2011/2012 [Em linha]. Lisboa: Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge, 2013. [consult. 22-3-2012]. Disponível em: <http://hdl.handle.net/10400.18/1183>
- (3) Direção-Geral da Saúde. Orientação 013/2012 de 21/09/2012 - Vacinação contra a gripe sazonal com a vacina trivalente para a época 2012/2013 (atualização 24/09/2012) [Em linha]. Disponível em: <http://www.dgs.pt/upload/membro.id/ficheiros/i017781.pdf> [consult. 1-8-2013].
- (4) Gonçalves P, Pechirra P, Conde P, et al. Programa Nacional de Vigilância da Gripe - Relatório da Época 2010/2011 [Em linha]. Lisboa: Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge, 2012. [consult. 1-8-2013] Disponível em: <http://hdl.handle.net/10400.18/1009>
- (5) Abed Y, Baz M, Boivin G. Impact of neuraminidase mutations conferring influenza resistance to neuraminidase inhibitors in the N1 and N2 genetic background. *Antivir Ther.* 2006;11(8):971-6.
- (6) Kiso M, Mitamura K, Sakai-Tagawa Y, et al. Resistant influenza A viruses in children treated with oseltamivir: descriptive study. *Lancet.* 2004;364(9436):759-65.
- (7) Ferraris O, Lina B. Mutations of neuraminidase implicated in neuraminidase inhibitors resistance. *J Clin Virol.* 2008;41(1):13-9.
- (8) Pozo F, Lina B, Andrade HR, et al. Guidance for clinical and public health laboratories testing for influenza virus antiviral drug susceptibility in Europe. *J Clin Virol.* 2013;57(1):5-12.