

Identificação e monitorização do vírus Influenza A e B, na população de Maceió

Influenza virus A and B identification and monitoring in the population of Maceió

Jefferson Francisco de Oliveira ¹
Jacqueline Pacífica Oliveira de Sá ²
Maria Eliane de Melo Cruz ³

Abstract *Viral agents, like Influenza virus A and B, Parainfluenza, Adenovirus and Respiratory Syncytial Virus (RSV) are the main cause of acute respiratory infection (ARI) and are held responsible for high levels of morbidity among children and senior citizens. The aim of this study is to evaluate the importance of these viruses as promoters of ARI in patients of all ages from Professor Alberto Antunes University Hospital/UFAL and 2nd State Health Center in Maceió (AL). We will also study seasonality and association among respiratory virus. Nasopharyngeal secretion samples from children and adults and swabs from adults were collected from patients with ARI complaint from November 2000 to April 2002 and analyzed by Indirect Immunofluorescence, using a screening of monoclonal antibody (AcM) from Chemicon. Respiratory virus was detected in 207 (42.4%) of the 488 samples analyzed. In 126 samples, about half of the cases, the virus detected was the Influenza virus A. Multiple infection was found in 29 (5.9%) samples of which 9 (1.8%) was Adenovirus and SRV. Results for both gender and all age groups were similar so that we concluded that they were not correlated.*

Key words *Influenza virus A and B, Acute Respiratory Infection, Immunofluorescence indirect*

Resumo *Agentes virais, como os vírus da influenza A e B, parainfluenza 1, 2 e 3, adenovírus e o Vírus Respiratório Sincicial (VRS) são responsáveis por surtos de Infecção Respiratória Aguda (IRA), causando uma alta taxa de morbidade e mortalidade, principalmente em crianças e idosos. Este trabalho teve como objetivo o estudo desses vírus, como agentes etiológicos das IRAs em pacientes de todas as idades atendidos no Hospital Universitário Professor Alberto Antunes/UFAL e no 2º Centro de Saúde em Maceió (AL). Objetivou-se também avaliar a sazonalidade e a associação entre grupo desses vírus. A pesquisa foi realizada em secreção nasofaríngea e swab combinado (nasal e oral) de pacientes com sintomatologia de IRA, no período de novembro de 2000 a abril de 2002, pela técnica de imunofluorescência indireta, utilizando um painel de anticorpos monoclonais (AcM). Das 488 amostras analisadas, 207 (42,4%) foram positivas. Destas, 126 (25,8%) corresponderam a infecções pelo vírus da influenza A e 29 (5,9%) corresponderam a infecções concomitantes, sendo 9 (1,8%) por adenovírus e VRS. Também se observou que fatores como idade e sexo não influenciaram os processos de infecção respiratória aguda por vírus respiratório.*

Palavras-chave *Vírus da influenza A e B, Infecção Respiratória Aguda, Imunofluorescência indireta*

¹ Laboratório de Imunodiagnóstico de Saúde Pública, Campus A. C. Simões, Tabuleiro dos Martins, 57072-970, Maceió AL.

jffor256@hotmail.com

² Departamento de Química, CCEN; Universidade Federal de Alagoas.

³ Laboratório Central de Saúde Pública Dr. Aristeu Lopes do Estado de Alagoas.

Introdução

Dentre as doenças transmissíveis (infectocontagiosas), as doenças respiratórias representam 95% do total de enfermidades que acometem os seres humanos e estão entre as mais estudadas atualmente (Nascimento *et al.*, 1991).

As Infecções Respiratórias Agudas (IRA) são de maior frequência, atingindo de 5% a 20% anualmente o ser humano (Bennenson, 1995). Sua prevalência e incidência em todos os continentes ocorrem em todas as faixas etárias, desde o recém-nascido até o idoso, e a multiplicidade de seus agentes etiológicos fazem com que as IRAs sejam, sem dúvida, um dos maiores problemas da saúde pública mundial (Graham, 1991).

Os vírus são os agentes mais frequentes das IRAs em todo o mundo, com mais de duas centenas identificados como causadores de quadros respiratórios, que variam desde o resfriado comum até pneumonias graves com potencial risco de vida (John *et al.*, 1991). Dependendo do país, podem alcançar taxas entre 17% a 58% em crianças com idade inferior a 5 anos (Winter *et al.*, 1996).

Os vírus da influenza A e B são responsáveis por epidemias de doenças respiratórias que ocorrem em quase todos os invernos, com duração de quatro a seis semanas e frequentemente associadas com o aumento das taxas de hospitalização e morte (Mello *et al.*, 1997a). O vírus da influenza C usualmente causa uma doença respiratória muito mais branda ou sem sintomas sistêmicos associados e, por isso, não tem um impacto significativo em saúde pública (Mims *et al.*, 1995).

O vírus da influenza A apresenta distribuição mundial que atinge anualmente cerca de 600 milhões de pessoas no mundo e, devido ao seu mecanismo característico de variação genética que ocorre nas espículas (glicoproteínas de superfície), é responsável pela ocorrência frequente de surtos, epidemias e pandemias (Toniolo, 2001).

Objetivo

Identificar e monitorar os vírus respiratórios pela técnica de Imunofluorescência Indireta (IFI), no período de novembro de 2000 a abril de 2002, no HU/UFAL e 2º Centro de Saúde, em Maceió, Alagoas.

Materiais e métodos

Amostras

As amostras de Secreção Nasofaríngea (SNF) foram utilizadas para pacientes com até 5 anos de idade e o *swab* combinado (nasal e oral) para pacientes acima de 5 anos de idade. Essas amostras foram coletadas nos ambulatórios dos centros sentinelas HU/UFAL e 2º Centro de Saúde, no período compreendido de novembro de 2000 até abril de 2002, totalizando 18 meses de observação. As análises das 488 amostras dos sexos masculino (203) e feminino (285) foram efetuadas por IFI, no setor de imunodiagnóstico do Laboratório Central de Saúde Pública de Alagoas (LACEN-AL).

A população do estudo foi composta por pacientes de todas as idades, preferencialmente, portadores de DRA e/ou crônica das vias respiratórias inferiores e/ou superiores com até três dias de evolução, sendo os mesmos atendidos nos ambulatórios do HU / UFAL e do 2º Centro de Saúde.

No presente estudo, foi aplicado o método de IFI que utiliza um painel de AcM de acordo com as instruções do fabricante. Esse painel emprega um *pool* de AcM (*screening*) anti-influenza A e B, antiparainfluenza 1, 2 e 3, anti-VRS e anti-adenovírus destinado à identificação específica (Oliveira, 1994).

A pesquisa de etiologia viral em IRA em pacientes de 0 a >60 anos de idade, atendidos nos ambulatórios do HU/UFAL e do 2º Centro de Saúde, no período de janeiro a dezembro de 2001, foi aprovada pela comissão de ética da Universidade Federal de Alagoas.

Análise estatística

A análise dos resultados foi realizada por meio de um método não-paramétrico, sendo desnecessário, portanto, estimar os parâmetros da população (Siegel, 1975). Os gráficos presentes no trabalho foram obtidos com os programas de computador Excel 5,0.

Resultados e discussão

Ao longo de todo o período de estudo foram coletadas 488 amostras, constituídas de SNF e *swab* combinado de pacientes portadores de síndrome gripal, atendidos em nível ambulatorio.

rial nos centros sentinelas, colaboradores do projeto de identificação e monitorização do vírus da influenza, durante o período de novembro de 2000 a abril de 2002.

Após análise, do total de 488 amostras, 42,4% (207) revelaram IFI positiva para os vírus influenza A e B, parainfluenza tipos 1, 2 e 3, adenovírus e VRS. A tabela 1 apresenta a distribuição das amostras por localidades participantes, bem como os agentes respiratórios detectados. Observa-se que 25,8% (126) dos casos foram positivos para influenza A; 10,0% (49) para adenovírus; 4,1% (20) para VRS; 3,5% (17) para parainfluenza 3; 2,5% (12) para parainfluenza 2; 1,8% (9) para parainfluenza 1; e 0,6% (3) para influenza B.

A taxa de positividade dos vírus respiratórios estudados foi de 42,4% (207/488) de todas as amostras analisadas. Essa taxa foi inferior ao resultado obtido por Torres e Vicente (1992) no Chile (54,4%), e superior aos mencionados por Nascimento *et al.* (1991) no Rio de Janeiro (31,8%), Stralioto *et al.* (1994) no Rio Grande do Sul (32,8%), Mello & Oliveira (1997b) em Belém (16,4%). Apesar disso, essa taxa foi equivalente aos resultados descritos por Sung *et al.* (1992) em Hong Kong (40%) e Lungon *et al.* (1999) no Espírito Santo (42,7%).

A procedência dos pacientes pode, também, ter interferido na taxa de positividade. Os estudos de Torres e Vicente (1992) se referem, apenas, a crianças hospitalizadas, entre as quais a maioria era portadora de doença grave do trato respiratório inferior, enquanto a popula-

ção do nosso estudo foi mais heterogênea. Incluiu, de um modo geral, pacientes com sintomas de DRA, procedentes dos ambulatórios de pediatria (HU-UFAL) e clínica geral (2º Centro de Saúde).

Nascimento *et al.* (1991) e Winter *et al.* (1996) utilizaram, além do método de imunofluorescência, a cultura celular. Adicionalmente, a maioria das amostras foi coletada durante estação de DRA, logo, dentro dessas condições, era de se esperar que a taxa de positividade tivesse sido maior. Os resultados obtidos mostravam que os adenovírus foram o segundo patógeno mais freqüente entre os vírus detectados, o que concorda com os nossos resultados.

A diferença entre os resultados obtidos no presente estudo e nos dos pesquisadores mencionados pode ser justificada, quando comparamos os métodos laboratoriais empregados para detecção da infecção viral (IFI, Reação da Polimerase em Cadeia – PCR, Cultura Celular), procedência e faixa etária dos pacientes. O fator faixa etária, sem limite de idade, pode ter diluído os resultados encontrados neste estudo.

O vírus da influenza A mostrou ser o patógeno mais freqüente. Esses resultados estão de acordo com os encontrados por Oliveira (2001), nos quais a taxa de positividade para o vírus da influenza foi em média de 20%, através do método de IFI e nos mesmos parâmetros descritos do nosso estudo, também visualizado na tabela 1. Quanto aos outros vírus, eles estiveram associados a casos esporádicos e/ou menores freqüências.

Tabela 1

Distribuição dos vírus respiratórios por amostra positiva nos centros sentinela.

Espécime/Vírus	Centros/Sentinelas			%
	HU/UFAL	2º Centro de Saúde	Total de amostras	
SNF e Swab Combinado	185	303	488	100,0
InF A	54	72	126	25,8
InF B	1	2	3	0,6
PI 1	4	5	9	1,8
PI 2	5	7	12	2,5
PI 3	8	9	17	3,5
VRS	9	11	20	4,1
Ad	21	28	49	10,0
Total de amostras positivas	102	134	236	
% de amostras positivas nos centros sentinela	20,9	27,4		48,3

InF A – Influenza tipo A; InF B – Influenza tipo B; PI 1, 2 e 3 – Parainfluenza tipos 1, 2 e 3 respectivamente; VRS – Vírus Respiratório Sincicial; Ad – Adenovírus.

A posição do vírus da influenza A, em nossos resultados, pode ser justificada pela possível ocorrência de surto durante o período estudado. Segundo Monto (1995), quando há grandes surtos de gripe, o vírus da influenza pode ser identificado com maior frequência em relação aos demais vírus respiratórios. Com relação ao vírus da influenza B, apenas 0,6% (3) foi encontrado, o que pode ser explicado por se tratar de uma cepa na qual a mutação é lenta por ter o homem como seu único hospedeiro.

A tabela 2 estabelece a correlação entre a identificação dos diferentes tipos de vírus estudados e o sexo dos pacientes. Do total de amostras, 41,6% (203) e 58,4% (285) correspondiam aos sexos masculino e feminino, respectivamente. A positividade foi equivalente a 26,4% (129) e 21,9% (107) para os sexos feminino e masculino, respectivamente.

Infecções concomitantes nas mais variadas combinações foram observadas em 29 amostras das 488 estudadas, o que equivale a 5,9% do total de amostras (dados originais). As taxas mais elevadas foram observadas para o adenovírus e VRS, com 1,8% (9), juntos ou participando de outras combinações como mostra a figura 1, o que concorda com os resultados de outros estudos (Oliveira, 2001).

Para uma melhor análise dos dados, em conformidade com recomendação do Centro Nacional de Epidemiologia (CENEPI), os pacientes foram agrupados em faixas etárias com intervalos variados como mostra a figura 2. A maioria dos pacientes atendidos nos centros sentinelas reporta-se à faixa etária de 5-14 anos de idade.

Observou-se um predomínio de positividade nesta faixa etária de 14,3% (70) dos casos. Entre crianças e adolescentes (5-14 anos), o vírus da influenza A ocorre em 10% dos casos de doenças respiratórias relatados, aumentando ainda mais com a faixa etária (WHO, 1980),

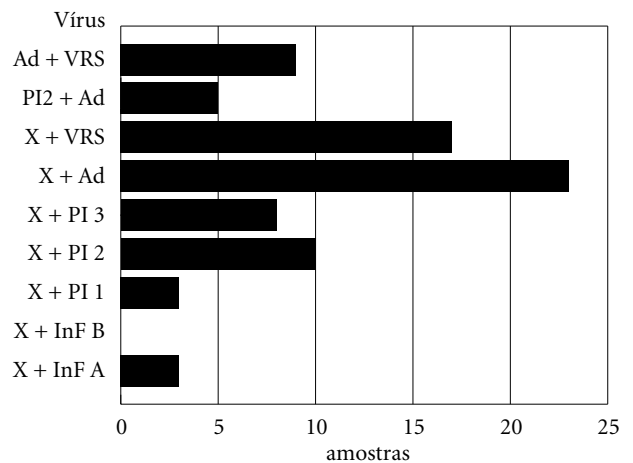
Tabela 2

Distribuição por sexo das amostras positivas e percentual total dos vírus respiratórios (InF, PI, Ad e VRS).

Sexo	Vírus		
	Número de Amostras	Número de Amostras Positivas	%
Masculino	203	107	21,9
Feminino	285	129	26,4
Total	488	236	48,3

Figura 1

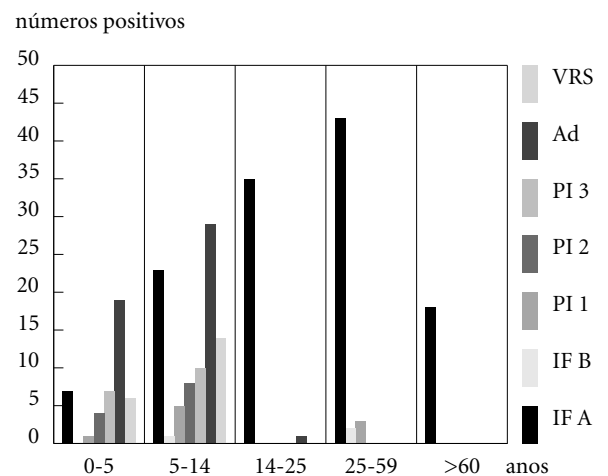
Distribuição das amostras positivas detectadas em infecções concomitantes dos vírus respiratórios



X – outros vírus respiratórios (InF A, InF B, PI 1, PI 2, PI 3, Ad e VRS).

Figura 2

Distribuição de vírus respiratórios por faixas etárias (anos)



concordando com os nossos resultados, cuja prevalência aumentou gradativamente com aumento da idade dos pacientes investigados.

Foram coletadas, também, 50 amostras na faixa etária maior que 60 anos de idade. Destas, 36% (18) apresentaram positividade para o vírus da influenza A, apesar de terem sido vacinados contra a gripe, durante o ano de 2001. Isto pode ter ocorrido em virtude de a vacina ter sido administrada após a infecção pelo vírus, ou o sistema imunológico desses indivíduos ter-se mostrado comprometido pela idade, ou ainda a uma nova cepa circulante, conforme estudos feitos por Sá e colaboradores (2001).

A figura 3 mostra a frequência de amostras positivas para os vírus respiratórios por gênero em estudo. Foi traçada a sazonalidade durante o ano 2001, evidenciando os meses de julho, setembro, outubro e dezembro, que corresponderam aos de maior frequência de positividade nas unidades sentinelas em estudo. Estudos realizados nos anos de 2000 e 2002 não permitiram avaliar a sazonalidade dos respectivos vírus, por não ter havido coleta em todos os meses.

A ocorrência de casos de infecção pelos vírus respiratórios começou no mês de janeiro/2001 persistindo até dezembro/2001, observando-se um pico de positividade nos meses de julho, setembro, outubro e dezembro. Após esse período, a frequência manteve-se significativa, principalmente do vírus da influenza A, com frequências acima de 7% (Figura 3).

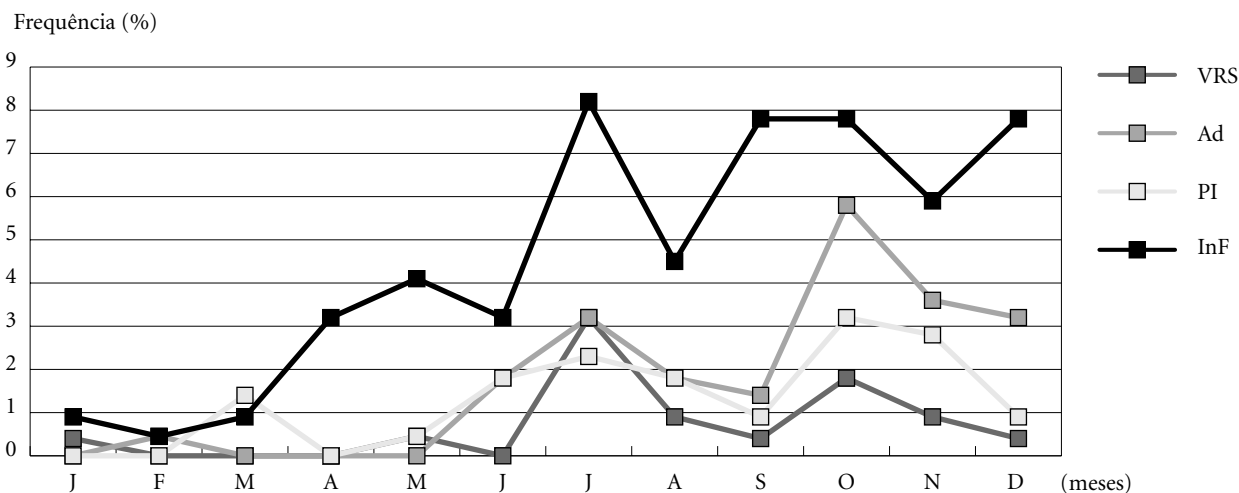
A distribuição mensal dos casos positivos mostra um perfil epidemiológico distinto para cada vírus, evidenciando circulação de vírus respiratórios na maioria dos meses do ano, exceto para o vírus da influenza B, devido ao pequeno número de amostras positivas. Este dado torna evidente a necessidade de se manter uma vigilância virológica contínua, com a finalidade de atenuar o impacto desses vírus nos períodos de maior atividade.

Considerações finais

1. Diante dos resultados, podemos concluir que as viroses respiratórias foram responsáveis por surtos de IRA em índice elevado, acometendo as mais diversas faixas etárias e sexos nas duas unidades sentinelas.
2. O maior número de casos de IRA ocorreu na faixa etária de 5-14 anos de idade.
3. A sazonalidade do vírus da influenza foi estudado para o ano de 2001 e observamos os mais altos índices de positividade nos meses de julho, setembro, outubro e dezembro.
4. Os vírus respiratórios no período estudado apresentaram características de circulação em um mesmo período epidêmico com variabilidade nas ocorrências dos grupos. Dessa forma, foi possível analisar a sazonalidade da circulação dos vírus respiratórios, principalmente do vírus da influenza.

Figura 3

Distribuição mensal da porcentagem de amostras positivas dos vírus respiratórios durante o ano de 2001



Agradecimentos

Ao professor Willer Alencar de Melo, do Instituto Evandro Chagas, Belém (PA), pelo incentivo e apoio durante a realização deste trabalho.

Referências bibliográficas

- Bennenson AS 1995. *Editor Control of Communicable Diseases Manual*. An official of the American Public Health Association. (16ª ed.). American Public Health Association, Washington.
- Graham NMH 1991. The epidemiology of acute respiratory infections in children and adults: A global perspective. *Epidemiology Review* 12:149-178.
- John TS, Cerian T, Steinoff C & Simões EA. 1991. Etiology of acute respiratory infections in children in tropical Southern India. *Reviews Infectious Disease*. (6):463-469.
- Lungon AK *et al.* 1999. Antigenic and genomic analysis of influenza virus isolated from a metropolitan region of Vitoria-ES. *Virus Reviews and Research* 4(1):93.
- Mello WA, Oliveira CS & Leão RN 1997a. Infecções respiratórias agudas por vírus, pp. 345-354. In RN Leão. *Coordenadas. Doenças infecciosas e parasitárias enfoque amazônico*. CEJUP, UEPA, Instituto Evandro Chagas, Belém.
- Mello WA & Oliveira CS 1997b. Clinical and epidemiological aspects of respiratory diseases in Belém, Brazil. *Virus Reviews and Research* 2:121-122.
- Mims CA, Playfair JHL, Roitt MP, Waklein D & Williams W 1995. *Microbiologia médica*. (1ª ed.). Editora Manóel Ltda.
- Monto AS 1995. Viral respiratory infections in the community: epidemiology, agents and interventions. *American Journal Medical* 99(6):24-27.
- Nascimento JP, Ferreira V & Rodrigues J 1991. Longitudinal study of acute respiratory diseases in Rio de Janeiro occurrence of respiratory viruses during four consecutive years. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo* 33(4):287-296.
- Oliveira JF, Sá JPO & Cruz MEM 2001. Epidemiological study of respiratory virus in nasopharyngeal aspirates from november 2000 to july 2001 in the population of Maceio-AL, Brasil. XII Encontro Nacional de Virologia, *Virus Reviews & Research* 6(Supp. 1), painel OT-8.
- Oliveira LHS 1994. *Virologia humana*. (1ª ed.). Ed. Cultura Médica. Rio de Janeiro.
- Sá JPO, Andrade JCF, Rodrigues MML & Cruz MEM 2001. A study of the immune response to influenza vaccine/2000 in Maceio/AL. XII Encontro Nacional de Virologia. *Virus Reviews & Research* 6(Supp. 1):painel OT-10, 2001.
- Siegel S 1975. *Estatística não-paramétrica*. Mcgraw-Hill, São Paulo.
- Straliotto SM, Roitman B & Lima JB 1994. Respiratory syncytial virus (RSV) bronchiolitis: comparative study of RSV groups A and B infected children. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical* 27(1):1-4.
- Sung RYT, Chan RCK & Tam JS. 1992. Epidemiology and etiology of acute bronchiolitis in Hong Kong infants. *Epidemiology and Infection* 108:147-154.
- Toniolo JN 2001. *A história da gripe – a influenza em todos os tempos e agora*. Reproduções fotográficas de Valentino Fialdini. Dezembro Editorial, São Paulo.
- Torres GI & Vicente MS 1992. Deteción de virus respiratorio sincicial y adenovirus en aspirados nasofaríngeos: comparación de cultivos celulares e inmunofluorescencia. *Revista Médica de Chile* 120:415-419.
- WHO 1980. *Viral respiratory diseases*. Geneva, WHO. (Technical Report Series, 642).
- Winter GF, Hallam NF & Hargreaves FD 1996. Respiratory viruses in a hospitalized paediatric population in Edinburgh 1985 – 1994. *Journal of Infection* 33: 207-211.

Artigo apresentado em 11/8/2003

Aprovado em 26/9/2003

Versão final apresentada em 16/2/2004