

Gripe aviária: Seguindo as pegadas de um novo vírus

Eliana M. B. Dessen

Departamento de Genética e Biologia Evolutiva, Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo. Rua do Matão 277, 05508-090 São Paulo. Email: embdesse@ib.usp.br

Palavras-chave: gripe aviária, vírus influenza, H5N1

Nos últimos meses, a gripe aviária tem sido foco de atenção do sistema mundial de vigilância sanitária e de doenças. Numa verdadeira corrida contra o tempo, cientistas de várias partes do mundo procuram entender a evolução do vírus influenza, a maneira como ele consegue transpor a barreira das espécies que infectam e o mecanismo que torna algumas linhagens mais patogênicas do que outras. Por que tanta mobilização e apreensão? Afinal, a gripe não é uma doença sem gravidade?

O vírus influenza A: epidemias e pandemias de gripe

Atualmente, há três vírus com o nome influenza: A, B e C – e todos causam doenças respiratórias. O vírus influenza A é aquele que causa a doença mais significativa do ponto de vista clínico. Além disso, ele pode causar epidemias e infectar o mesmo hospedeiro mais do que uma vez durante sua vida.

Doenças virais são geralmente endêmicas (existem constantemente em determinado lugar e atacam um número variável de indivíduos), com flutuações periódicas de intensidade em resposta a eventos ecológicos e à dinâmica das populações. O vírus influenza A apresenta dois padrões atípicos de flutuação. Em um deles, o vírus alastra-se anualmente por localidades geográficas definidas: aparece de modo súbito atingindo ao mesmo tempo um grande número de pessoas, persiste por algumas semanas e desaparece rapidamente, caracterizando uma epidemia. No outro padrão, que ocorre em intervalos de alguns anos, o vírus propaga-se pelo mundo todo originando uma pandemia, isto é, um surto mundial da forma mais virulenta da doença. Comumente a infecção por influenza A começa na Ásia, move-se para a Rússia, Europa, e dali para as Américas. As pandemias podem resultar em alto índice de mortalidade.

A resposta do organismo humano à infecção viral ocorre pela mobilização do sistema imune, que fabrica anticorpos específicos cuja função é inativar as partículas virais. Paralelamente, as células T killer destroem as células infectadas. Desse modo, o indivíduo infectado se recupera da doença e fica imunizado pelo resto de sua vida. Isso previne a reinfeção e, ao mesmo tempo, limita severamente

o número de hospedeiros disponíveis ao vírus. Os vírus que possuem mutações que os tornam menos agressivos ou menos virulentos, terão maior probabilidade de expansão, contaminando maior número de hospedeiros, uma vez que têm um efeito letal menor. Vírus que enganam o sistema imune também têm maior probabilidade de se expandir porque têm a possibilidade de infectar maior número de pessoas. Isso significa que, ao longo das gerações dos vírus, ocorre uma seleção que favorece os vírus atenuados e os que enganam o sistema imune.

Como todo vírus de RNA, a taxa de mutações de ponto durante a multiplicação é alta. Algumas dessas mutações ocorrem em genes que codificam proteínas estruturais tornando-as ligeiramente diferentes, o que as torna suficientemente diferenciadas para não serem mais completamente reconhecidas pela memória do sistema imune do hospedeiro. Se o sistema imune não tem memória de uma infecção passada, cada infecção funciona como uma nova exposição. Desse modo, o vírus pode ter múltiplos acessos a um mesmo hospedeiro. Esse processo, antígeno drift, é responsável pelas epidemias locais.

Um mecanismo bem diferente ocorre quando um vírus influenza A pandêmico espalha-se pelo mundo todo. Para que isso ocorra é necessária uma mudança mais drástica das proteínas virais. Nesse caso, um ou mais de seus genes são substituídos, ou rearranjados, produzindo uma proteína com o qual o sistema imune nunca entrou em contato. Essa mudança radical, antígeno shift, produz um vírus que ainda é Influenza A, mas com um ou mais genes provenientes de uma outra linhagem viral, em outras palavras, um vírus que não estava em circulação na população humana.

O rearranjo ou mistura gênica corresponde à mistura de, por exemplo, genes de um vírus que infecta seres humanos com genes de vírus de aves. Para que a mistura ocorra, os vírus têm que infectar ao mesmo tempo o mesmo animal. O porco funciona como um vaso de mistura, pois suas células têm moléculas de superfície que permitem a entrada de ambos os tipos virais. Por exemplo, um porco pode ser atacado pelo vírus influenza humano de um fazendeiro gripado e, ao mesmo tempo, pelos vírus de uma ave com gripe – os patos da mesma fazenda. As moléculas de RNA dos dois tipos de vírus podem então ser

“rearranjadas“, criando um híbrido radicalmente novo que, se tiver a capacidade de infectar humanos, não será reconhecido pelo sistema imune. Além disso, o híbrido pode ser mais virulento que o normal.

O rearranjo gênico explica duas das pandemias de gripe do século XX: as de 1957 e 1968. Em cada uma delas, um novo subtipo de vírus apareceu por combinação dos genes de vírus humanos, que vinham causando gripes leves em anos anteriores, com novos genes de vírus de aves. Os novos vírus pandêmicos se disseminaram e correram pelo mundo, matando, juntos, cerca de 2 milhões de pessoas.

A formação de novas linhagens pandêmicas continuará a ser feita desde que haja uma fonte de genes virais que não tenha tido contato prévio com o hospedeiro humano. Na natureza, as aves são o reservatório natural do vírus influenza A.

Novos subtipos de vírus podem também ser formados quando o vírus influenza adquire a capacidade de transpor a barreira das espécies. Por exemplo, um vírus que normalmente infecta aves, pode passar a ser diretamente transmitido para os seres humanos. Estudos recentes indicam que isso ocorreu no caso da maior pandemia de gripe, a chamada gripe espanhola (1917-1918), quando pelo menos 20 milhões de pessoas morreram em todo o mundo. O vírus de 1918 não derivou de um vírus humano que estava em circulação, mas sim de um vírus aviário adaptado para infectar a espécie humana. Evidências nesse sentido foram provenientes de estudos do seqüenciamento do genoma do vírus influenza da pandemia de 1918, recém ressuscitado. Os vírus foram obtidos a partir de fragmentos de pulmões dos doentes conservados em parafina ou de vítimas que foram enterradas em solo permanentemente congelado (Taubenberger et al., 2005). O genoma do vírus foi seqüenciado, os genes foram sintetizados em laboratório e partículas virais reconstituídas em cultura de células. Um pequeno número de mudanças na seqüência de aminoácidos das polimerases virais deve ter sido crucial para o processo de adaptação do vírus de ave à espécie humana (Tumpey et al., 2005).

Atualmente, o vírus aviário H5N1 está fazendo o mesmo (a denominação refere-se às formas das proteínas estruturais do vírus: Hemaglutinina do tipo 5 e a enzima Neurominidase do tipo 1). O número de mortes humanas está na casa de dezenas (96, até março de 2006) e não de milhões porque os mecanismos de transmissão entre espécies ainda não foram totalmente desenvolvidos pelo vírus. Ainda não foram confirmados casos de contaminação de humanos para humanos por esse vírus.

Outro aspecto importante a ser esclarecido é o mecanismo que pode tornar uma linhagem viral altamente patogênica. Pesquisadores do St Jude Children’s Research Hospital acumularam nos últimos 30 anos um banco com 7000 seqüências de genomas (parciais ou completas) de vírus influenza provenientes de patos, gaivotas, aves domésticas e outras aves ao redor do mundo. A comparação das seqüências permitiu o encontro de diferenças-chave entre as formas mais virulentas e as mais brandas (Obenauer et al., 2006). Amostras do vírus H5N1, responsável pela morte de seres humanos na Ásia entre 1997 e 2004,

apresentam uma de suas proteínas, a NS1 (proteína não estrutural presente apenas na célula infectada), com a conformação “ave”, ou seja, semelhante à da proteína NS1 do vírus que infecta as aves. A linhagem viral que causou a pandemia de 1918 também apresenta a conformação “ave” da proteína NS1. Por outro lado, a forma “humana”, menos patogênica, está presente nas linhagens virais causadoras das pandemias de 1957 e 1968. Estudos funcionais mostraram que a patogenicidade do vírus talvez esteja relacionada à capacidade da proteína NS1 “ave” ligar-se a cerca de 30 proteínas humanas, enquanto a forma “humana” interage com um número bem menor (Obenauer et al., 2006). As pesquisas anteriores sobre virulência estavam centradas nas proteínas Hemaglutinina (H) e Neurominidase (N) presentes na superfície viral, que sabidamente variam nas diferentes linhagens de influenza.

Embora as pesquisas mais recentes tenham apresentado resultados esclarecedores com relação ao encontro de marcadores de virulência para seres humanos, uma pergunta ainda permanece sem resposta: o vírus H5N1 vai adquirir a capacidade de ser facilmente transmitido entre pessoas? Talvez isso nunca aconteça, mas, especialistas estão insistindo para que o mundo se prepare para o pior.

A evolução do H5N1

Uma grande variedade de vírus H5N1 tornou-se largamente difundida em populações endêmicas de patos domésticos na costa e em partes do sudeste da China e, em seguida, invadiu progressivamente aves domésticas terrestres. Logo após foram detectados casos de infecção em gatos domésticos, tigres e em seres humanos, no Vietnã e Tailândia. Atualmente, acredita-se que um ciclo de transmissão endêmica de pato para pato se estabeleceu na China, Vietnã e Tailândia. Frequentemente, ocorre transmissão de pato para galinha e de galinha para galinha e, particularmente, a transferência do vírus de patos para galinhas é a maior preocupação porque ela está provavelmente associada ao aumento da patogenicidade e risco aumentado do vírus manifestar-se em espécies de mamíferos.

Uma análise em larga escala do H5N1 confirmou que, há mais de uma década, ele está presente em aves domésticas da China. Cerca de 2% de patos e gansos aparentemente são portadores do vírus. Mais importante, os genes do vírus formaram agrupamentos geográficos que diferem levemente entre diferentes províncias chinesas, sugerindo que ele deve estar circulando há tempo suficiente para ter evoluído em linhagens diferentes. Porém, todos eles descendem do vírus da infecção de Guangdong, China, de 1996. Outro fato importante é que anticorpos de cada sub linhagem do H5N1 não se ligam prontamente aos de outras linhagens. Isso significa que vacinar pessoas ou aves contra uma linhagem pode não proteger contra outras.

O rastreamento das mudanças genéticas que o vírus influenza apresenta nos animais, que são seus reservatórios naturais, é vital para que previsões sobre possíveis

pandemias humanas sejam realizadas com tempo hábil para a tomada de decisões adequadas. Entretanto, a crise instalada pelo aparecimento e disseminação do vírus H5N1 evidencia que o sistema de vigilância mundial da gripe precisa ser repensado. Um dos problemas é a falta de colaboração para um estudo mais abrangente das amostras virais coletadas em vítimas humanas ou de animais domésticos e selvagens. Muitos países não querem compartilhar amostras com outros laboratórios com medo de perder o controle sobre a informação. Além disso, os governos não querem estrangeiros fazendo declarações sobre os problemas que ocorrem em seus países e os cientistas preferem pesquisar as amostras sem compartilhar informações para ganhar créditos sobre seus trabalhos e terem a oportunidade de criar a própria vacina.

A facilidade e rapidez da expansão da infecção viral estão também associadas a outros fatores de difícil controle como: hábitos culturais locais, possibilidade de disseminação por meio de aves migratórias ou pelas facilidades de transporte entre as mais remotas localidades do mundo. Por exemplo, na Ásia, os patos são importantes no manejo das pragas das plantações de arroz. Bandos de patos são transferidos para diferentes campos de cultivo de arroz para que possam se alimentar dos milhares de insetos nelas presentes e dos grãos caídos pelo processo de colheita. Desse modo, os bandos desses animais são mantidos praticamente sem gasto algum, além de auxiliar no controle de pragas das plantações e, após alguns meses, o bando está pronto para comercialização ou consumo. A mobilidade de tais bandos, entretanto, é um excelente veículo de disseminação do vírus. Há, por outro lado, um conjunto de circunstâncias que encorajam o estabelecimento da infecção viral em populações de patos em regiões de lagos. A interação entre patos e aves selvagens migratórias na Ásia permite o espalhamento da infecção para todos os potenciais nichos ecológicos. É cada vez maior o número de cientistas que atribuem o rápido espalhamento do vírus às aves migratórias. Todos os vírus encontrados na Sibéria e Europa até o momento são geneticamente muito semelhantes ao H5N1 encontrado em pássaros selvagens no Lago Qinghai, na China, na primavera de 2005.

Ainda não está completamente claro, entretanto, se as aves migratórias realmente constituem a rápida via de transmissão do vírus entre locais muito distantes. A morte de aves domésticas por uma mesma linhagem viral em localidades muito distantes não diz nada a respeito do modo como o vírus foi transferido. Muitos cientistas acreditam que a rota de transmissão do vírus da Ásia para a Europa tenha acontecido através das linhas ferroviárias importantes que conectam a China ao Cazaquistão, Rússia e leste da Europa. Assim, há cientistas que consideram as aves migratórias como vítimas, ou seja, elas estariam sendo atingidas pelos vírus presentes em aves domésticas infectadas. Um estudo recente (Obenauer et al., 2006), que analisa 13.000 amostras de vírus, sugere que o comércio e a movimentação de aves domésticas foram o principal fator responsável pelos repetidos surtos de espalhamento de vírus para fora de seu berço de origem no sudeste da China e também pela diversidade genética do mesmo.

A gripe nas Aves

Ao contrário dos mamíferos, que têm as vias respiratórias como alvo de infecção do vírus influenza, as aves selvagens ao redor do mundo carregam esses vírus em seus intestinos e geralmente não ficam doentes. Entretanto, linhagens patogênicas do vírus propagam-se muito rapidamente em bandos de aves domésticas. Nessas aves causam doença que afeta os órgãos internos, com taxa de mortalidade de 90 a 100%, em 48 horas. As aves domésticas abrigam vírus na saliva, secreções nasais e fezes. Tais aves podem se contaminar quando entram em contato direto com aves selvagens infectadas ou com água e ou alimento contaminados com vírus. A infecção com a forma viral de “baixa patogenicidade” causa sintomas muito leves da doença e, assim sendo, os vírus podem não ser detectados. Esse é um sério problema para uma estratégia de erradicação do H5N1.

A maioria dos casos de gripe aviária em seres humanos resultou do contato direto com aves domésticas infectadas.

O atual surto de gripe aviária foi facilitado pela explosiva produção de carne de aves, especialmente galinhas, na Ásia. Há inúmeras fazendas abarrotadas com bilhões de galinhas, que são focos de risco, propícios à propagação de um vírus. As campanhas de extermínio em larga escala não surtiram efeito para erradicar o H5N1. Isso ocorreu principalmente em países pobres, como a Indonésia, porque os produtores não foram financeiramente recompensados pelos animais sacrificados.

Alguns países como a China, por exemplo, aplicaram vacinas nas aves, mas elas nem sempre são eficazes quando há baixo nível de infecção, permitindo, dessa forma, que o vírus se espalhe sem que haja nenhuma mortandade evidente das aves.

Vigilância contra a gripe aviária

Na ocorrência de uma pandemia de gripe aviária, o uso profilático de antivirais é uma opção para alguns países com capacidade de compra e armazenamento. Entretanto, a produção atual dos antivirais oseltamivir e zanamivir (com nomes comerciais, respectivamente, Tamiflu e Relenza), que se mostraram eficientes contra o H5N1, é muito limitada. Não há medicamento suficiente para proteger uma fração significativa da população durante meses.

Uma opção alternativa de prevenção da gripe aviária é feita por meio da vacinação de seres humanos. O grande problema dessa opção é que antes que a epidemia de gripe realmente comece, não se sabe exatamente qual poderá ser a forma que a linhagem de vírus terá. Assim, não é possível construir de antemão uma vacina perfeita. Outra dificuldade reside na baixa capacidade mundial de produção de vacinas. Mesmo que a vacina fosse produzida por todos os países com condições para isso, ela seria suficiente apenas para 14% da população mundial.

O Instituto Butantã, em São Paulo, é um dos seis laboratórios selecionados pela Organização Mundial de Saúde (OMS) – e o único do hemisfério sul – para

desenvolver o produto. A produção deve começar ainda esse ano e a meta é que sejam produzidas, inicialmente, 20 milhões de doses.

A Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa) divulgou um cronograma de ação para evitar a entrada do H5N1 no Brasil, pelo menos por meio dos aeroportos. Em breve, será instituída a Declaração Única do Viajante, um registro cadastral para quem chegar de lugares onde as infecções ocorrem.

O Ministério da Agricultura instalou postos de monitoramento nas regiões por onde as aves migratórias costumam entrar no país e o Ministério da Saúde montou uma rede de 66 pontos de detecção, espalhados em 20 Estados e Distrito Federal. As chamadas Unidades Sentinela são hospitais, postos de saúde e policlínicas que recebem treinamento, equipamentos de informática, de refrigeração e kits para a coleta de amostras. O trabalho dessas unidades é recolher secreções do nariz e da faringe de pessoas que tenham sintomas de gripe, com o objetivo de verificar quais vírus estão presentes naquela região e orientar a aplicação de vacinas e a distribuição de remédios.

Muitas das pegadas deixadas pelo vírus H5N1 em suas vítimas foram seguidas e auxiliaram no esclarecimento de seu mecanismo de ação e propagação. Os cientistas continuam no encalço desse vírus. Porém, o principal problema continua sem resposta: o H5N1 causará uma pandemia de gripe?

Bibliografia

Abbott, A. and Pearson, H. (2006) Army of bird flu viruses decoded. *Nature* (published on line) doi:10.1038/news060123-11.

Appenzeller, T., (2005) Tracking the next killer flu. *National Geographic* 208(4):2-31.

Butler, D. (2006) Disease surveillance needs a revolution – Bird flu has highlighted serious deficiencies in epidemiology. *Nature* (published on line) 440: 6-7, doi:10.1038/44006a.

Butler, D. (2005) “Refusal to share” leaves agency struggling to monitor bird flu. *Nature* (published on line) doi:10.1038/435131a.

Check, E (2005) Is this our best shot? *Nature* 435: 404-406.

Chen, H., Smith, G.J.D., Zhang, S.Y., Qin, K., Wang, J., Li, K.S., Webster, R.G., Peiris, J.S.M. and Guan, Y. (2005) H5N1 virus outbreak in migratory waterfowl. *Nature* 436:191.

Ghedini E, Sengamalay NA, Shumway M, Zabor-sky J, Feldblyum T, Subbu V, Spiro DJ, Sitz J, Koo H, Bolotov P, Dernovoy D, Tatusova T, Bao Y, St George K, Taylor J, Lipman DJ, Fraser CM, Taubenberger JK, Salz-berg SL. (2005) Large-scale sequencing of human influenza

reveals the dynamic nature of viral genome evolution. *Nature*. 437:1162-6.

Krug, R.M. (2006) Clues to the virulence of H5N1 viruses in humans. *Science* 311:1562-1563.

Obenauer JC, Denson J, Mehta PK, Su X, Mukatira S, Finkelstein DB, Xu X, Wang J, Ma J, Fan Y, Rakestraw KM, Webster RG, Hoffmann E, Krauss S, Zheng J, Zhang Z, Naeve CW. (2006) Large-scale sequence analysis of avian influenza isolates. *Science*. 311:1576-80.

Patterson, M.M. (2005) The coming Influenza Pan-demic: lessons from the past for the future. *Jaoa* 105(11): 498-500.

Taubenberger, J.K. et al (2005) Characterization of the 1918 influenza virus polymerase genes. *Nature* 437: 889-93.

Tumpey TM, Garcia-Sastre A, Taubenberger JK, Palese P, Swayne DE, Pantin-Jackwood MJ, Schultz-Cherry S, Solorzano A, Van Rooijen N, Katz JM, Basler CF. (2005) Pathogenicity of influenza viruses with genes from the 1918 pandemic virus: functional roles of alveolar. *J Virol*. 79(23):14933-44.

Webster, R.G., (2002) The importance of animal influenza for human disease. *Vaccine* 20 S16-S20.

Webster, R.G., Peiris, M., Chen, H. and Guan, Y., (2006) H5N1 outbreaks and Enzootic influenza. *Emerging Infections Diseases* – www.cdc.gov/eid vol 12(1): 3-8.

Web sites:

<http://www.cdc.gov/flu/avian/index.htm> (Center for Disease Control and Prevention)

<http://www.fda.gov/> (American Food and Drug Administration)

http://www.who.int/csr/diseas/avian_influenza.en/index.html (World Organization for Animal Health)

<http://www.fao.org/ag/againfo/subjects/en/health/diseases-cards/avian.html> (Animal Health Special Report)

<http://www.geis.fhp.osd.mil/> - US Department of Defense

<http://www.nature.com/nature/focus/avianflu/index.html>