

Nota técnica

Diagnóstico Laboratorial de Infección humana por Influenza A/H5

10 de janeiro de 2023

ANTECEDENTES

Desde o início de 2022, vários surtos de influenza aviária causados pelo influenza A/H5 foram detectados em países da Região Andina e da América do Norte. A influenza aviária (IA) é uma doença viral altamente contagiosa que afeta aves domésticas e selvagens, sendo causada por múltiplos subtipos (ou seja, H5N1, H5N3, H5N8, etc.) cujas características genéticas evoluem rapidamente¹.

De acordo com a gravidade da doença em aves de criação (não em seres humanos), os vírus são classificados em duas categorias: influenza aviária de baixa patogenicidade (LPAI), que geralmente causa poucos ou nenhum sinal clínico; e influenza aviária de alta patogenicidade (HPAI), que pode causar sinais clínicos graves e possíveis altas taxas de mortalidade em aves¹.

Embora diferentes espécies de aves sejam os hospedeiros naturais dos vírus influenza aviários, podem ocorrer infecções em humanos que vão desde doenças leves até a morte². Normalmente, essas infecções de influenza zoonótica em humanos são adquiridas através do contato direto com animais infectados ou ambientes contaminados, mas a transmissão de humano a humano não é sustentada³.

No entanto, a circulação emergente e contínua da influenza A/H5 em aves de criação e de abate torna-se uma preocupação de saúde pública, uma vez que os vírus da influenza têm o potencial de sofrer mutações e recombinações que podem resultar em aumento da transmissibilidade entre seres humanos. Se esses vírus adquirirem a capacidade de se espalhar facilmente entre humanos, seja por meio de adaptação ou aquisição de certos genes dos vírus da influenza humana, eles podem desencadear uma epidemia ou uma pandemia³.

A este respeito, a vigilância e a detecção precoce da infecção pelo vírus influenza A/H5 em humanos são cruciais para identificar e coordenar a resposta a surtos de influenza zoonótica, bem como para uma potencial preparação para uma pandemia. A caracterização adicional, como o sequenciamento genômico, dos vírus influenza A/H5 detectados em humanos é fundamental para a caracterização precoce dos vírus influenza com potencial pandêmico.

Dada a ocorrência e disseminação de surtos aviários de influenza A/H5 para vários países das Américas e o risco de infecção zoonótica, é importante estar preparado para a investigação, ter implementado os testes laboratoriais utilizados para detectar influenza A/H5 em amostras humanas, assim como as recomendações de algoritmos de teste. Informações sobre a definição de caso suspeito; coleta das amostras; algoritmo de teste e submissão; reagentes; uso efetivo da rede global de laboratórios; e relatório de caso e resultados de testes podem ser encontrados neste guia provisório.

¹ WHOA (antiga OIE). Avian Influenza. Disponível em: <https://www.woah.org/en/disease/avian-influenza/>

² OPAS. Influenza at the Human-Animal Interface: PAHO Recommendations to Strengthen Intersectoral Work for Surveillance, Early Detection, and Investigation, 9 July 2020. Disponível em: <https://iris.paho.org/handle/10665.2/52563>

³ OMS. Influenza virus Infections in humans. Disponível em: https://cdn.who.int/media/docs/default-source/influenza/influenza_virus_infections_humans_oct_18.pdf

DETECCIÓN LABORATORIAL

Coleta de amostras humanas

As amostras devem ser coletadas por pessoal treinado em conformidade com todas as normas de biossegurança, incluindo o uso de equipamentos de proteção individual (EPI) adequados para vírus respiratórios.

As amostras recomendadas são do mesmo tipo de amostras utilizadas para a vigilância rotineira de influenza. O swab nasofaríngeo é o método ideal de coleta de amostras para o teste de influenza. No entanto, uma amostra combinada de swab nasal e faríngeo ou amostras de aspirado podem ser coletadas.

Swab de Dacron/nylon estéril deve ser usado para a coleta de amostras. Os swabs com ponta de algodão e de madeira não são recomendados, pois interferem no processamento da amostra e inibem as reações de diagnóstico molecular.

Os swabs devem ser colocados num tubo de transporte viral contendo 3 ml de meio de transporte viral estéril e transportados no mesmo tubo com meio de transporte viral (MTV).

A coleta de amostras dentro de 4 dias após o início dos sintomas é recomendada para obter melhor rendimento do vírus da influenza e melhor detecção. A amostragem de contatos assintomáticos não é recomendada, a menos que seja considerado necessário de acordo com as orientações nacionais.

As amostras devem ser mantidas refrigeradas (4 a 8°C) e enviadas para o laboratório (laboratório central, nacional ou de referência), onde devem ser processadas nas primeiras 24-72 horas após a coleta.

Se as amostras não puderem ser enviadas dentro deste período, recomenda-se congelá-la a -70°C (ou menos) até que as amostras sejam enviadas (garantindo que a cadeia de frio seja mantida).

Fluxo de amostras e algoritmo de teste de laboratório

Nas Américas, todos os Centros Nacionais de Influenza (NICs) e laboratórios nacionais de referência (LNRs) para influenza humana, como parte do Sistema Global de Vigilância e Resposta à Influenza (GISRS) da OMS, utilizam protocolos de diagnóstico molecular e reagentes desenvolvidos e validados pelo Centro Colaborador da OMS nos Centros de Controle e Prevenção de Doenças dos EUA (CDC).

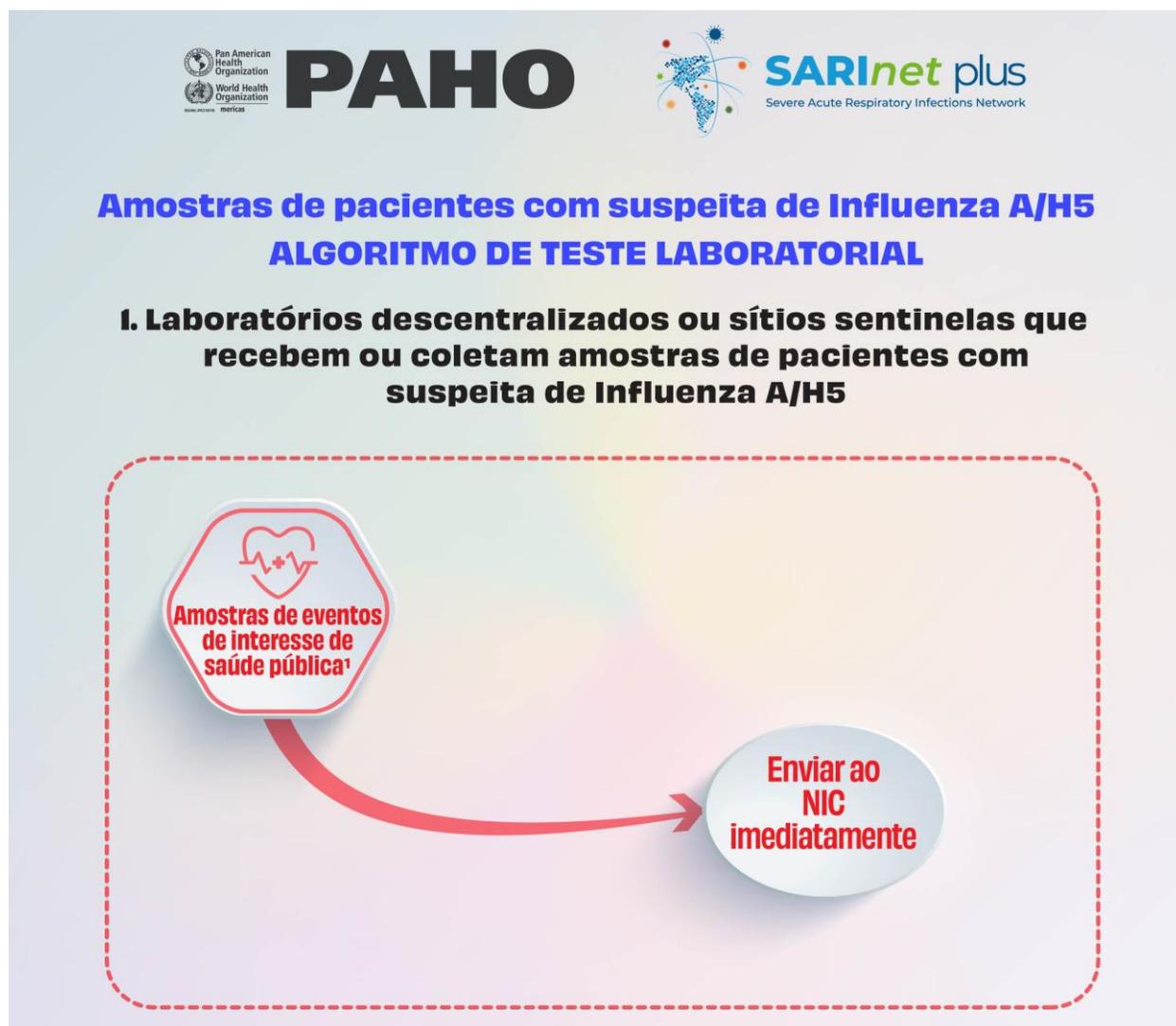
Diante da identificação de casos suspeitos de infecção humana causada por influenza aviária A/H5, a amostra respiratória deve ser coletada e encaminhada ao NIC ou LNR para análise (Figura 1).⁴

⁴OPAS. Amostras de pacientes com suspeita de influenza A/H5 ALGORITMO DE TESTE LABORATORIAL: <https://www.paho.org/es/documentos/muestras-pacientes-sospechosos-influenza-ah5-algoritmo-pruebas-laboratorio>

As amostras coletadas de casos humanos suspeitos expostos a aves ou contatos com casos humanos confirmados de influenza A/H5 devem ser testadas para detecção de influenza. Amostras positivas para influenza A devem ser subtipadas posteriormente para H5 (Figura 2)⁴.

Figura 1

Fluxo de amostras para amostras de casos suspeitos de influenza A/H5 em sítios sentinelas e laboratórios descentralizados.

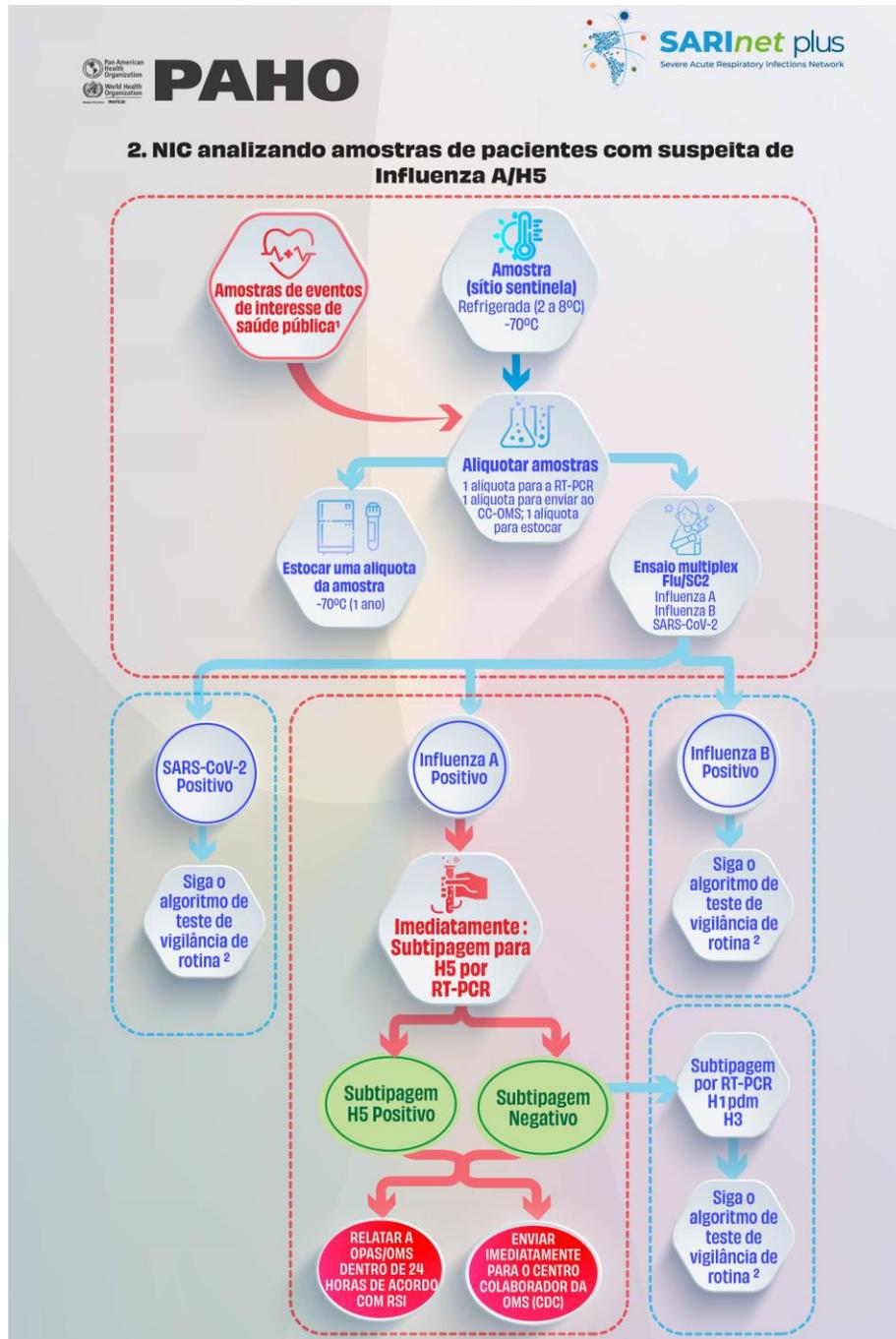


⁴ Amostras de pacientes com suspeita de Influenza A/H5 ALGORITMO DE TESTE LABORATORIAL: <https://www.paho.org/pt/documentos/amostras-pacientes-com-suspeita-influenza-ah5-algoritmo-teste-laboratorial>

Figura 2

12

NIC processando amostras de casos suspeitos de Influenza A/H5



¹ Amostras coletadas fora da vigilância rotineira de eventos de interesse em saúde pública. Regulamento Sanitário Internacional de 2005. Disponível em: <https://www.who.int/publications/i/item/9789241580496>

² Vigilância integrada da gripe e do SARS-CoV-2 Algoritmo de testes laboratoriais. Disponível em: <https://www.paho.org/en/documents/influenza-and-sars-cov-2-integrated-surveillance-laboratory-testing-algorithm>

Reagentes de laboratório

Os kits de CDC dos EUA para detecção em tempo real da reação em cadeia da polimerase com transcriptase reversa (qRT-PCR) dos vírus da influenza estão disponíveis através do International Reagent Resource (IRR).

Para a detecção e subtipagem da influenza A/H5, estão disponíveis os seguintes kits e controlos de detecção molecular:

- Influenza SARS-CoV-2 Multiplex Assay (RUO) (500 reactions) (Catalog No. FluSC2PPB-RUO), dried primers and probes
- • Influenza SARS-CoV-2 Multiplex Assay Positive Controls Kit (RUO) (500 reactions) (Catalog No. FluSC2PCRUIO)
- • CDC Real-Time RT-PCR Influenza Virus A/H5 (Asian Lineage) Subtyping Panel (VER 4) (RUO) (Catalog No. FluRUO-13)
- • CDC Influenza A/H5N1 (Asian Lineage) Real-Time RT-PCR Positive Control with Human Cell Material (RUO) (Catalog No. VA2715)

Interpretação dos resultados

Os kits CDC para marcadores de detecção de subtipos A/H5 da influenza (alvos) são: INFA (M), H5a (HA), H5b (HA), RP.

Ao usar o kit de subtipagem A / H5 da influenza CDC:

- Amostras positivas para os marcadores INFA, H5a e H5b são consideradas **positivas para influenza A/H5**.
- Amostras positivas para um único marcador H5 são **presuntivas para influenza A/H5**.

Em ambos os casos, as amostras devem ser enviadas para um Centro Colaborador da OMS para posterior caracterização ou confirmação (no caso de resultados presuntivos). No entanto, uma amostra positiva para influenza A/H5 (ambos marcadores positivos) deve ser relatada imediatamente.

A OPAS está atualmente trabalhando para apoiar os Estados Membros na preparação e resposta à influenza A/H5. Para obter assistência adicional, entre em contato com flu@paho.org.

Envio de amostras

Os Centros de Controle e Prevenção de Doenças dos EUA (CDC) são o Centro Colaborador da OMS na Região das Américas para receber amostras humanas positivas para influenza A / H5.

Todas as remessas de amostras humanas para o Centro Colaborador da OMS nos EUA-CDC, fora do país e por via aérea devem garantir o cumprimento de todas as normas internacionais (International Air Transport Association - IATA), com documentos especiais necessários para o transporte para os Estados Unidos. Esses documentos são diferentes dos documentos para o envio rotineiro de amostras de influenza sazonal.

É importante ressaltar que as amostras humanas de influenza A/H5 **não** devem ser enviadas como amostras humanas de rotina ao CDC.

As amostras de animais devem ser enviadas para o Centro Colaborador da OMS no Hospital Infantil St. Jude. Documentos especiais são necessários para o transporte para os EUA e os documentos devem garantir a conformidade com todos os padrões internacionais.

Para informações logísticas e de envio de amostras A/H5 de influenza humana ou aviária, a OPAS deve ser contatada em flu@paho.org.

Sequenciamento genômico

A submissão de uma amostra positiva para influenza A/H5, animal ou humana, ao Centro Colaborador da OMS apropriado deve ser priorizada para caracterização antigênica e genômica.

Para os laboratórios que possuem capacidade de sequenciamento, além de enviar a amostra positiva para o Centro Colaborador, é incentivado o sequenciamento da amostra para gerar dados de sequenciamento genômico e fazer o upload das sequências em tempo hábil para a plataforma global GISAID.

A publicação de sequências no GISAID requer o uso da nomenclatura recomendada pela OMS⁵ :

- O formato para humanos é:
[tipo de influenza]/[região]/[número de referência interno]/[ano de coleta]
Ex: A/Wisconsin/2145/2001
- Para todos os outros hospedeiros animais:
[Tipo de Influenza]/[Hospedeiro]/[Região]/[Número de Referência Interno]/[Ano de Coleta].
Ex: A/chicken/Rostov/864/2007

⁵ OPAS. Nota técnica: Nomenclatura do vírus da gripe. Disponível em: <https://www.paho.org/es/documentos/nota-tecnica-nomenclatura-virus-influenza>

ORIENTAÇÕES PARA AS AUTORIDADES NACIONAIS

A OPAS/OMS reitera aos Estados Membros a necessidade de manter a vigilância do vírus influenza e o envio imediato de amostras de influenza humana A/H5 para o Centro Colaborador da OMS no CDC-Estados Unidos.

Como as informações sobre a circulação da influenza aviária A/H5 são importantes para a composição da vacina contra a influenza zoonótica humana e para gerar dados de preparação e resposta, os países são encorajados a compartilhar amostras de influenza animal com o Centro Colaborador da OMS no Hospital Infantil St. Jude. O Centro Colaborador da OMS em St. Jude se concentra exclusivamente na ameaça aos seres humanos dos vírus da influenza animal.

Relato de casos humanos

1. Um **caso positivo confirmado** de infecção por influenza humana A/H5 ou deve ser relatado **imediatamente** através de dois canais: o Ponto de Contato Regional do Regulamento Sanitário Internacional (RSI) da OMS (através do Ponto Focal Nacional do RSI ihr@paho.org) e o GISRS administrado pela OPAS/OMS (via flu@paho.org). O relatório deve incluir todos os resultados disponíveis da investigação epidemiológica do caso e as características virológicas do vírus.
2. Um caso suspeito de infecção por influenza humana A/H5 deve ser **notificado imediatamente** ao GISRS e as informações sobre o caso suspeito devem ser partilhadas com o Ponto Focal Nacional do RSI, uma vez que se trata de um acontecimento inusitado. O relatório deve incluir todos os resultados disponíveis da investigação epidemiológica do caso e as características virológicas do vírus.