

CENTRO UNIVERSITÁRIO SAGRADO CORAÇÃO

ANA GABRIELA SAGIORO MOLAN

A IMPORTÂNCIA DO ACOMPANHAMENTO DAS TÉCNICAS DE IDENTIFICAÇÃO
E DO POTENCIAL MUTAGÊNICO DO VÍRUS DA INFLUENZA AVIÁRIA

BAURU

2024

ANA GABRIELA SAGIORO MOLAN

A IMPORTÂNCIA DO ACOMPANHAMENTO DAS TÉCNICAS DE IDENTIFICAÇÃO
E DO POTENCIAL MUTAGÊNICO DO VÍRUS DA INFLUENZA AVIÁRIA

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à Banca Examinadora do Curso de Ciências Biológicas Bacharelado, Centro Universitário de Bauru, mantido pelo Centro Universitário Sagrado Coração, para a obtenção do grau de bacharel em Ciências Biológicas, sob a orientação da Prof. Dra. Ana Carolina Polano Vivan e Prof. co-orientadora Dra. Angélica Lino Rodrigues.

BAURU
2024

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP) de acordo com
ISBD

M717i

Molan, Ana Gabriela Sagioro

A importância do acompanhamento das técnicas de identificação e do potencial mutagênico do vírus da influenza aviária / Ana Gabriela Sagioro Molan. -- 2024.

33f.

Orientadora: Prof.^a Dra. Ana Carolina Polano Vivan
Coorientadora: Prof.^a Dra. Angélica Lino Rodrigues

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Ciências Biológicas) - Centro Universitário Sagrado Coração - UNISAGRADO - Bauru - SP

1. Origem zoonótica. 2. Saúde pública. 3. Rearranjo viral. 4. Gripe aviária. 5. Biologia molecular. I. Vivan, Ana Carolina Polano. II. Rodrigues, Angélica Lino. III. Título.

ANA GABRIELA SAGIORO MOLAN

A IMPORTÂNCIA DO ACOMPANHAMENTO DAS TÉCNICAS DE IDENTIFICAÇÃO
E DO POTENCIAL MUTAGÊNICO DO VÍRUS DA INFLUENZA AVIÁRIA

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à Banca Examinadora do Curso de Ciências Biológicas Bacharelado, Centro Universitário de Bauru, mantido pelo Centro Universitário Sagrado Coração, para a obtenção do grau de bacharel em Ciências Biológicas, sob a orientação da Prof. Dra. Ana Carolina Polano Vivan e Prof. co-orientadora Dra. Angélica Lino Rodrigues.

Aprovado em: 06/12/2024.

Banca examinadora:

Documento assinado digitalmente
 ANGELICA LINO RODRIGUES
Data: 12/12/2024 22:04:42-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof.^a Dra. Angélica Lino Rodrigues (Co-orientadora)

Centro Universitário Sagrado Coração

Documento assinado digitalmente
 ANA PAULA FAVARO TROMBONE GARLET
Data: 13/12/2024 11:13:30-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof.^a Dra. Ana Paula Favaro Trombone Garlet

Centro Universitário Sagrado Coração

AGRADECIMENTOS

Agradeço imensamente à minha família, que sempre acreditou em meu potencial e investiu em meu crescimento, oferecendo-me a força necessária para superar desafios e momentos difíceis, além da coragem para seguir firmemente nas minhas escolhas.

Aos meus pais, pelo apoio incondicional e incentivo constante em todas as fases da minha trajetória, sempre me proporcionando o melhor.

Às minhas irmãs, que, mesmo na distância, sempre estiveram ao meu lado com compreensão e carinho.

Aos meus amigos, que contribuíram significativamente para a minha formação, com palavras de incentivo e apoio ao longo dessa jornada.

À minha professora e orientadora, Ana Carolina Polano Vivan, pela paciência, atenção e dedicação, fundamentais para a realização desta monografia.

À minha co-orientadora, Angélica Lino Rodrigues, por todo o suporte e orientação durante o período em que me acompanhou, sempre pronta para ajudar.

E, por fim, a todos que, de forma direta ou indireta, contribuíram para minha formação acadêmica e pessoal. A cada um de vocês, meu sincero agradecimento.

RESUMO

O vírus da influenza aviária (AIV) apresenta um importante papel na saúde pública, onde destacam-se sua diversidade genética, origem zoonótica e potencial pandêmico. Alguns subtipos desse vírus possuem a capacidade de infectar humanos, principalmente por meio do contato direto com aves infectadas e seus fluidos corporais, representando um desafio para a área da saúde. A patogenia por AIV é infecciosa, aguda e altamente contagiosa, com capacidade de rearranjo viral que ameaça os tratamentos e contenção existentes. Diante disso, o controle e a prevenção da doença dependem fortemente de medidas de contenção e vigilância eficazes, liderados por órgãos oficiais preparados para lidar com possíveis surtos. Ressalta-se a importância do acompanhamento contínuo e do aprimoramento das medidas de prevenção e identificação do AIV, visando proteger tanto a saúde pública quanto o setor avícola mundial. A revisão bibliográfica das medidas de identificação e prevenção do vírus, assim como sua epidemiologia, sequenciamento genético e análise de risco evolutivo foi realizada com vista a demonstrar a importância do acompanhamento e aprimoramento das medidas de prevenção e identificação do vírus. Com o contexto das mudanças climáticas e o crescimento populacional global, o risco potencial associado à gripe aviária pode aumentar, especialmente se ocorrerem mutações que aumentem sua patogenicidade e virulência. Como parte das medidas preventivas, destacam-se as inovações em técnicas de biologia molecular, como o sequenciamento genético, com papel fundamental na detecção precoce, vigilância e rastreamento de surtos da gripe. Enfatiza-se a importância da vigilância contínua, da prontidão para ação rápida e do investimento em tecnologias inovadoras para enfrentar os desafios apresentados pela gripe aviária, protegendo assim a saúde humana e animal.

Palavras-chave: Origem zoonótica; Saúde pública; Rearranjo viral; Gripe aviária; Biologia molecular.

ABSTRACT

The avian influenza virus (AIV) plays an important role in public health, where its genetic diversity, zoonotic origin and pandemic potential stand out. Some subtypes of this virus have the ability to infect humans, mainly through direct contact with infected birds and their body fluids, representing a challenge for the health sector. The AIV pathogenesis is infectious, acute and highly contagious, with viral rearrangement capacity that threatens existing treatments and containment. Therefore, the control and prevention of the disease strongly depends on effective containment and surveillance measures, led by official bodies prepared to deal with possible outbreaks. The importance of continuous monitoring and improvement of AIV prevention and identification measures is highlighted, in order to protect both public health and the global poultry sector. The bibliographic review of virus identification and prevention measures, as well as its epidemiology, genetic sequencing and evolutionary risk analysis was carried out in order to demonstrate the importance of monitoring and improvement of virus prevention and identification measures. In the context of climate change and global population growth, the potential risk associated with avian influenza may increase, especially if mutations occur that increase its pathogenicity and virulence. As part of the preventive measures, innovations in molecular biology techniques, such as genetic sequencing, with a fundamental role in the early detection, surveillance and tracking of flu outbreaks, stand out. The importance of continuous surveillance, readiness for rapid action and investment in innovative technologies to face the challenges presented by avian influenza, thus protecting human and animal health, is emphasized.

Keywords: Zoonotic origin; Public health; Viral rearrangement; Avian flu; Molecular biology.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	7
2	PROBLEMA E HIPÓTESES	9
3	JUSTIFICATIVA	10
4	OBJETIVOS	11
4.1	Objetivo geral.....	11
4.2	Objetivos específicos	11
5	MATERIAIS E MÉTODOS	12
5.1	Seleção das fontes	12
5.2	Processo de busca e análise	12
6	REVISÃO DE LITERATURA	13
6.1	Gripe aviária	13
6.2	Vírus Influenza A	14
6.3	Epidemiologia	15
6.4	Métodos de Diagnóstico	17
6.5	Prevenção e Controle	20
7	CONSIDERAÇÕES FINAIS	22
	REFERÊNCIAS	23

1 INTRODUÇÃO

A gripe aviária (IA) é uma doença viral zoonótica, causada pelo vírus da família Orthomyxoviridae e pertencente ao gênero Influenza A, um vírus de RNA de fita simples, que acomete principalmente o setor avícola (Ashraf *et al.*, 2017; Hasni *et al.*, 2021). O vírus da gripe aviária apresenta uma diversidade antigênica das glicoproteínas de superfície vasta, classificada em dezoito subtipos de hemaglutinina (HA) (H1 a H18) e onze subtipos de neuraminidase (NA) (N1 a N11), onde a maioria das combinações potenciais desses subtipos isolados de espécies aviárias (Bouwstra *et al.*, 2017).

Uma parcela específica dos vírus da gripe aviária A é frequentemente identificada em aves domésticas, e vários hospedeiros acidentais, como humanos, já foram identificados (Webster *et al.*, 1992; Robertson *et al.*, 2006). Apesar de vários indicadores moleculares nos genes do vírus da gripe estarem relacionados ao aumento da infecção e replicação em humanos, os fatores que desencadeiam os eventos de transmissão entre espécies ainda não são completamente compreendidos, grande parte devido à ausência de monitoramento longitudinal sistemático em múltiplos hospedeiros virais (Li *et al.*, 2019).

As aves migratórias selvagens têm o potencial de transportar o vírus da influenza aviária ao longo de suas rotas migratórias, e o contato entre essas aves selvagens e as populações domésticas ocasionalmente resulta na transmissão do vírus entre elas (Trovão *et al.*, 2015; Bahl *et al.*, 2016). Os vírus altamente patogênicos da influenza aviária (HPAI) H5 e H7 foram ocasionalmente transmitidos para seres humanos a partir de aves domésticas (Gauthier-Clerc; Lebarbenchon; Thomas, 2007) e, pelo menos no caso do H5, houve casos de transmissão de volta para as populações de aves selvagens. No entanto, como a gripe aviária de baixa patogenicidade não causa necessariamente a morte de suas aves hospedeiras, há a possibilidade de rearranjo com vírus de baixa patogenicidade (GABP) que estão circulando, impulsionando a evolução do vírus (Krauss *et al.*, 2015).

Existem várias tecnologias disponíveis para diagnosticar a gripe aviária. Conforme recomendado pelo Centro de Controle e Prevenção de Doenças, os testes rápidos de detecção de antígenos, como imunofluorescência ou imunoensaio enzimático, não devem ser prioritários para o diagnóstico em caso de suspeita de surto da gripe aviária (Centro de Controle e Prevenção de Doenças, 2022) devido à

baixa sensibilidade desses testes, que resulta em um alto número de resultados falso-positivos, além de não distinguirem entre diferentes subtipos virais, o que reduz sua utilidade diagnóstica (OMS, 2018; CDC, 2022).

2 PROBLEMA E HIPÓTESES

A gripe aviária é uma doença zoonótica causada por um vírus pertencente à família *Orthomyxoviridae*, classificado em subtipos com base em suas proteínas de superfície, acometendo principalmente aves domésticas e silvestres. Algumas cepas virais são capazes de causar a infecção humana, por meio do contato direto com aves infectadas, suas secreções, excrementos e superfícies contaminadas. A Influenza A é considerada uma doença infecciosa, aguda, contagiosa e que não possui tratamento específico disponível. O controle e a prevenção baseiam-se em medidas de contenção e ação rápida da vigilância de órgãos oficiais, que estão preparados para conter possíveis surtos da doença. Frente às mudanças climáticas e ao crescimento populacional mundial, a IA pode apresentar um aumento no risco potencial para a saúde humana e animal, caso ocorra a recombinação genética e/ou mutações virais que aumentem sua patogenicidade e virulência. Portanto, o presente estudo teve como objetivo revisar as literaturas disponíveis sobre o tema e demonstrar a importância do acompanhamento e aprimoramento das medidas de prevenção e identificação do vírus, que protegem a saúde pública e o setor avícola mundial. Dentre essas medidas, destacam-se as inovações em técnicas de biologia molecular, como o sequenciamento, que auxiliam na detecção precoce, vigilância e rastreamento de surtos e até na produção de vacinas.

3 JUSTIFICATIVA

A gripe aviária representa uma ameaça significativa à saúde pública, à segurança alimentar e à economia global. A capacidade do vírus de infectar aves domésticas e selvagens, bem como a sua transmissão ocasional para humanos, levanta preocupações sobre a possibilidade de uma pandemia. É de extrema importância estudar e compreender as estratégias de prevenção, diagnóstico e controle dessa doença. Com o avanço da tecnologia genômica, tornou-se possível analisar o genoma completo do vírus da influenza aviária em detalhes sem precedentes. Isso não só permite uma identificação rápida e precisa do vírus, mas também proporciona uma compreensão mais profunda de sua diversidade genética, evolução e potencial de patogenicidade.

4 OBJETIVOS

4.1 Objetivo geral

Realizar o levantamento bibliográfico das medidas de identificação e prevenção do vírus pertencente à família Orthomyxoviridae que provoca a gripe aviária nos seres vivos, levantando as novas técnicas de identificação e sequenciamento utilizadas na biologia molecular e o possível aumento da patogenicidade e virulência desses vírus frente a uma possível mutação.

4.2 Objetivos específicos

- a) Estudar a epidemiologia da gripe aviária;
- b) Levantar os métodos de diagnóstico molecular virais;
- c) Detalhar como é realizado o sequenciamento do material genético do vírus da Influenza;
- d) Pontuar as técnicas de diagnósticos atuais;
- e) Destacar os meios de prevenção e controle;

5 MATERIAIS E MÉTODOS

5.1 Seleção das fontes

A pesquisa bibliográfica foi conduzida com as seguintes palavras-chave: “gripe aviária”, “vírus da gripe”, “H5N1”, “H9N2”, “influenza tipo A”, “epidemiologia da gripe aviária”, “*avian influenza*”, “*bird flu*”, “*influenza vaccines*”, “*methods of diagnosis of influenza a*”, “*clinical diagnosis of influenza*”, “*genetic sequencing of the influenza virus*” nos seguintes portais: PubMed, Scielo, Google Acadêmico e revistas científicas. Os critérios de inclusão dos estudos, que se caracterizam pelo assunto abordado, o tema foco dos trabalhos e o período de publicação, foram estabelecidos para abranger publicações científicas, artigos de revisão e relatórios técnicos relacionados à epidemiologia, diagnóstico, tratamento e prevenção da gripe aviária.

5.2 Processo de busca e análise

A seleção do material de revisão foi caracterizada pela preferência a publicações recentes (2018-2024), que passaram por uma triagem inicial em que se analisou títulos e resumos para determinar a relevância desses estudos dentro da revisão.

6 REVISÃO DE LITERATURA

6.1 Gripe aviária

Os vírus influenza são caracterizados por parte da família Orthomyxoviridae (King *et al.*, 2011), como um grupo de vírus de RNA segmentados de sentido negativo. Existem quatro espécies principais de vírus influenza: Alphainfluenzavirus (A), Betainfluenzavirus (B), Gammainfluenzavirus (C) e Deltainfluenzavirus (D) (Schoch *et al.*, 2020). Os IAV têm a capacidade de infectar várias espécies hospedeiras, principalmente aves e mamíferos, e inclui todos os vírus da gripe aviária (Webster *et al.*, 1992; Long *et al.*, 2019).

Acredita-se que os AIV se originaram de uma vasta diversificação de aves migratórias, próximas a áreas úmidas ou habitats aquáticos (Webster *et al.*, 1992; Causey *et al.*, 2008). Estudos demonstraram que aves migratórias podem transportar GAAP quanto GABP, de forma assintomática e por longas distâncias (Olsen *et al.*, 2006; Brown *et al.*, 2008; Jourdain *et al.*, 2010), espalhando ao longo de sua rota de migração várias cepas virais, provocando uma deriva antigênica e um rearranjo de genomas, podendo resultar no surgimento de novas cepas virais (Lam *et al.*, 2012; Blagodatski *et al.*, 2021).

Padrões de transmissão indicam que o comércio de aves domésticas infectadas é parcialmente responsável pela circulação de cepas dos IAVs (Chen *et al.*, 2006; Gauthier-Clerc; Lebarbenchon; Thomas, 2007; Bahl *et al.*, 2016). A maioria dos subtipos de AIVs podem se espalhar esporadicamente para aves domésticas e/ou mamíferos por saliva, fezes e secreções nasais (Abdelwhab; Veits; Mettenleiter, 2013).

As infecções da gripe em aves podem variar de gravidade nula a completa (100% de mortalidade) (Swayne *et al.*, 2003). De acordo com a Organização Mundial de Saúde Animal (OIE ou OMSA), quando a doença é considerada leve ou nula, considera-se uma gripe aviária de baixa patogenicidade (LPAIV); quando a doença causa altas taxas de mortalidade nas aves considera-se um vírus de gripe aviária altamente patogênico (HPAIV) ou com um índice de patogenicidade intravenosa (IPIV) superior a 1,2; no Código Sanitário para os Animais Terrestres da OMSA, as doenças causadas pelo vírus da Influenza A são de notificação obrigatória.

Na última década, transmissões de aves para humanos dos subtipos de vírus

H3 (H3N8), H5 (HPAI H5N1, H5N6 e H5N8), H6, H7, H9 (LPAI H9N2) e H10 foram relatados (Cápua *et al.*, 2013; Adlhoch *et al.*, 2022; Yang *et al.*, 2022). Segundo o Ministério da Agricultura e Pecuária do Governo Federal do Brasil, o vírus de Influenza tipo A apresentam alta capacidade de mutação (drift e shift antigênico) e, dessa forma, adaptação a novos hospedeiros. Em 2017, a Organização Mundial da Saúde (OMS) publicou os primeiros relatos de sorotipos HPAIV (H5N1 e H7N9), capazes de afetar humanos e com taxas de mortalidade significativas.

Segundo a Organização Mundial da Saúde (2024), desde a sua primeira aparição, o H5N1 foi associado a mais de 887 casos e 462 mortes em todo o mundo, o H7N9 foi responsável por 1568 casos humanos e 616 mortes.

6.2 Vírus Influenza A

Os vírus influenza A apresentam um genoma que consiste em oito segmentos genômicos que codificam oito proteínas estruturais e até oito proteínas não estruturais (Shaw; Palese, 2013). Os segmentos de seu genoma codificam dez polipeptídios centrais, incluindo três proteínas transmembrana (hemaglutinina (HA), neuraminidase (NA) e o canal iônico M2), três subunidades de uma polimerase viral, uma nucleoproteína, uma proteína de matriz M1 e proteínas não estruturais NS1 e NS2/NEP, além de proteínas acessórias (Vasin *et al.*, 2014). Especialistas na classificação e taxonomia de vírus dividem o IAV em subtipos com base em suas glicoproteínas na superfície HA e NA, divididas em dezoito e onze subtipos, respectivamente, resultando em um total de 198 combinações potenciais classificatórias (Pineo, 2021). A proteína M1, que forma o invólucro no envelope da superfície interna da camada proteica, serve como suporte estrutural para partículas virais e pela proteína de exportação nuclear (NEP/NS2), contribuindo para a exportação nuclear de núcleo de ribonucleoproteína viral (vRNP) (Bremaud; Favard; Muriaux, 2022).

O genoma do AIV é composto por um RNA viral de fita simples (vRNA) de sentido negativo, variando em seu tamanho e codificando principalmente as proteínas polimerase básica 2 (PB2), polimerase básica 1 (PB1), polimerase ácida (PA), HA, nucleoproteína (NP), NA, M (M1 e M2) e proteínas não estruturais (NS1 e NS2/NSE) (Chauhan; Gordon, 2022). Todos os segmentos genômicos, são envoltos com NP e ligado à RNA polimerase dependente de RNA (RdRp) e ao complexo PA, PB1 e PB2,

formando, separadamente, o complexo vRNP (Bouvier; Palese, 2008; Noda, 2011). Cada segmento de vRNA possui uma região codificadora, flanqueada aos lados por regiões não traduzidas (UTRs), que contêm regiões específicas para cada segmento genético e regiões não codificantes específicas do segmento (ssNCRs) (Keller *et al.*, 2018). As UTRs ainda apresentam uma sequência conservada de doze nucleotídeos da extremidade 3' e de treze nucleotídeos da extremidade 5', comum a todos os vRNAs e conservadas para todos os segmentos genéticos de todas as cepas de AIV (Keller *et al.*, 2018; Skelton; Huber, 2022).

A evolução do vírus influenza A, assim como a biodiversidade das espécies hospedeiras e os mecanismos de adaptação do hospedeiro (tropismo tecidual, resposta imunitária do hospedeiro, adaptação ao receptor do hospedeiro) são causados pela deriva antigênica (acúmulo gradual de mutação nos genes que codificam proteínas de superfície do vírus) e pela mudança antigênica do vírus (nova cepa viral originada a partir de duas cepas que infectaram um mesmo hospedeiro, acabando por reorganizar seu material genético) (Paules; Fauci, 2019). Mutações na hemaglutinina e neuraminidase podem provocar alterações proteicas, facilitando a evasão das respostas imunes humorais do hospedeiro (Shaw; Palese, 2013). A mudança e à deriva antigênica, implicadas na transmissão zoonótica e no surgimento de vírus pandêmicos de influenza A, contribuem para a variedade de infecções de espécies, aumentando o risco de transmissão interespecíficas e destacando a ameaça potencial aos humanos (Vijaykrishna; Mukerji; Smitg, 2015; Mostafa *et al.*, 2018; Sreenivasan *et al.*, 2019).

6.3 Epidemiologia

Em 1880 identificou-se o primeiro vírus GAAP em aves domésticas no norte da Itália. Desde então, até meados de 1959, a IA se espalhou em aves por toda a Europa, Ásia, África e América do Norte e do Sul (Swayne, 2008). Segundo os Centros de Controle e Prevenção de Doenças (CDC) dos EUA (2023), em 1996 o vírus H5N1 foi identificado em aves aquáticas na China; já em 2003 e 2005, o vírus sofreu modificações em suas linhagens genéticas e provocou surtos generalizados em aves de capoeira em outras fronteiras, como na Ásia, África, Europa, Oriente Médio e América do Norte (Organização das Nações Unidas para a Alimentação e Agricultura, 2008). A troca de genes de vírus H5 em aves levou ao surgimento e detecção, entre

2014 e 2016, dos subtipos de vírus H5N6 e H5N8, que a partir de 2018 tornaram-se predominantes globalmente, substituindo os vírus H5N1 originais. Entre 2021 e 2023, um novo vírus H5N1, do clado 2.3.4.4b, com um gene N1 NA adaptado a aves selvagens emerge, predominando-se nos países orientais até o final de 2021 e sendo detectado em aves selvagens no Canadá e nos Estados Unidos até o final do ano e fevereiro de 2022. O vírus H5N1 começou a causar infecções raras e esporádicas em humanos e em outros mamíferos (CDC, 2023).

A transmissão de vírus de aves selvagens GABP para patos domésticos, associado ao rearranjo com os vírus domésticos co-circulantes e a transmissão subsequente para a população de aves resultaram em linhagens circulantes de H7N9 e Vírus H7N7 (Lam *et al.*, 2013; Liu *et al.*, 2013). Quando os primeiros casos humanos do vírus H7N9 foram relatados, comprovou-se a zoonose desses vírus (Gao *et al.*, 2013; Chen *et al.*, 2013).

A patogenicidade do IA resulta-se do acúmulo de múltiplos aminoácidos básicos no local de clivagem do HA (local de clivagem polibásico ou motivo polibásico), permitindo seu desenvolvimento fora do trato gastrointestinal e estabelecendo uma infecção sistêmica, promovendo um surto de GAAP, caracterizado pelo início e progressão rápidos, associados a altas taxas de mortalidade (Lee; Bertran; Kwon; Swayne, 2017; Sutton, 2018; PAHO, 2023).

Durante os processos de inserção e recombinação no local de clivagem proteolítica do HA, os subtipos H5 e H7 GABP podem sofrer mutações tornando-se GAAP (Rabadan; Robins, 2007; Lee; Criado; Swayne, 2021). Os vírus da gripe aviária altamente patogênicos possuem a capacidade de atravessar barreiras respiratórias e intestinais, difundindo-se no sangue e danificando tecidos do hospedeiro (OIE, 2021). A IA é considerada uma doença animal de notificação obrigatória pela Organização Mundial de Saúde Animal e pela Organização das Nações Unidas para a Alimentação e a Agricultura; dessa forma, o relato às autoridades de saúde dos casos de infecções GAAP e subtipos H5 e H7 GABP devem ser seguidos devido à sua capacidade de sofrer mutação para GAAP (Zhou *et al.*, 2017; Chatziprodromidou *et al.*, 2018).

A transmissão interespecíes costuma ocorrer após a circulação do vírus em espécies de aves infectadas densamente povoadas (Yamaji *et al.*, 2020), possibilitando o rearranjo viral até que atinja a compatibilidade com o novo ambiente do hospedeiro (Kuiken *et al.*, 2006; Gambaryan; Matrosovich, 2015; Cáceres; Rajao; Perez, 2021). Os hospedeiros do vírus Influenza A são determinados pela

correspondência entre a disponibilidade do receptor celular, a capacidade de ligação do receptor viral e a receptividade da célula infectada para sustentar a replicação viral e liberação do vírion (Medina; Garcia-Sastre, 2011).

Nas aves, o local de replicação do AIV costuma localizar-se no trato intestinal, enquanto os vírus da gripe de mamíferos infectam preferencialmente o trato respiratório superior (Webster *et al.*, 1992; Medina; Garcia-Sastre, 2011). Os receptores que se ligam ao vírus IA, preferencialmente os ácidos siálicos terminais com uma ligação $\alpha 2,3$ ($\alpha 2,3$ -AS) (Medina; Garcia-Sastre, 2011; Watanabe *et al.*, 2012), são encontrados com certa frequência no pulmão humano (de Graaf; Fouchier, 2014), dessa forma, a probabilidade de infecção humana por vírus aviários é relativamente baixa sem a ocorrência de rearranjos virais (Glaser *et al.*, 2005; Yamada *et al.*, 2006; Watanabe *et al.*, 2011).

A principal via de transmissão entre aves e humanos é o contato direto com fezes ou secreções de animais infectados e a exposição a ambientes contaminados ou infectados por vírus (OMS, 2023; Chin; PAHO, 2023). Durante epidemias de H5N1 e H7N9, foram relatados grupos de infecções humanas que sugerem a transmissão por contato direto de humanos infectados (OMS, 2014; OMS, 2017).

Os vírus da gripe A são vírus de RNA segmentados de sentido negativo (Andrewes *et al.*, 1955; Pons, 1967). O sequenciamento desses vírus permitiu a descoberta dos terminais 3' e 5' de vRNA altamente conservados (Desselberger *et al.*, 1980), com respectivos 12 e 13 nucleotídeos de comprimento conservados nos segmentos PB2, PB1, PA, HA, NP, NA, M e NS do genoma do AIV, promovendo o desenvolvimento de um conjunto de primers universais para amplificação do genoma do vírus (Zhou B *et al.*, 2009; Zhou B; Wentworth DE, 2012).

6.4 Métodos de Diagnóstico

Atualmente, a maioria dos testes clínicos para diagnóstico do AIV se baseia na detecção de antígenos virais ou na amplificação por reação em cadeia polimerase (PCR) de ácidos nucleicos virais derivado de amostras respiratórias (Ito, 2018). Os resultados diagnósticos apresentados por qualquer tipo dos testes são quantitativos, com capacidade limitada de informação sobre a ligação epidemiológica, a eficácia de vacinas ou a suscetibilidade antiviral (Votintseva *et al.*, 2017).

A disponibilidade do teste de amplificação de ácido nucleico (NAAT), como a

amplificação baseada em sequência de ácidos nucleicos (NASBA), transformou o diagnóstico de gripes; estes testes são reconhecidos por sua alta sensibilidade e especificidade, considerados como padrões de excelência (Vemula *et al.*, 2016). A abordagem baseada no ensaio de amplificação isotérmica mediada por loop de transcrição reversa em tempo real (RT-LAMP) também se destaca, com uma sensibilidade de 98% e especificidade de 100% se comparada aos ensaios de RT-PCR (Kubo *et al.*, 2010); a primeira consiste no uso de um novo DNA polimerase (ou transcriptase reversa para amostras de RNA) com alta atividade de deslocamento de fita e dois conjuntos de primers especializados no reconhecimento de seis regiões específicas no cDNA viral, enquanto o RT-PCR caracteriza-se pela extração de RNA viral de espécimes clínicos, transcrição reversa de RNA viral para um cDNA de fita simples usando a enzima transcriptase reversa e amplificação do produto de PCR, acoplado à detecção fluorescente de produtos de PCR marcados (Vemula *et al.*, 2016).

A abordagem de cultura viral é o método mais tradicional para o diagnóstico de influenza. Realiza-se a inoculação de linhas celulares permissivas ou ovos embrionados com amostras infecciosas, permitindo sua propagação ao longo de 7 a 10 dias; durante esse período, o desenvolvimento de efeitos citopáticos é monitorado, seguido pela confirmação da infecção pelo vírus da gripe através de técnicas como coloração de anticorpos específicos, hemadsorção com eritrócitos ou microscopia de imunofluorescência; o isolamento do vírus influenza usando essa metodologia geralmente é realizado em linhas celulares logicas, como rim canino Madin Darby (MDCK), A449, linha celular epitelial de pulmão de vison (Mv1Lu), rim de macaco rhesus (LLC MK2) e rim de macaco verde búfalo (BGMK), ou em linhagens celulares primárias, como rim de macaco rhesus (RhMK) ou rim de macaco verde africano (AGMK); em certos laboratórios, a cultura viral é produzida simultaneamente com os testes de amplificação de ácido nucleico (Vemula *et al.*, 2016).

A cultura viral em células suscetíveis (SVC) é uma técnica utilizada desde os anos 90 para diagnosticar infecções pelo vírus da gripe. Nesse método, o vírus é propagado em células de mamíferos cultivados em frascos pequenos de 1 dram ou frascos de concha, seguido por uma coloração com anticorpos monoclonais fluorescentes específicos para o vírus da gripe; a SVC é uma técnica relativamente simples e mais sensível que os métodos tradicionais de isolamento viral, permitindo a detecção do vírus em 24 a 48 horas; uma versão modificada do SVC, utilizando células

R-mix (uma combinação de células pulmonares de visão e células de adenocarcinoma humano), declarada ser ainda mais sensível, com um tempo de resposta de até 2 dias (Vemula *et al.*, 2016).

O teste de anticorpos imunofluorescentes (DFA) é uma técnica rotineiramente utilizada para diagnosticar infecção pelo vírus da gripe, com uma sensibilidade razoável de 60 a 80% em comparação com culturas virais para gripe sazonal (Dharmapalan, 2020). Ela consiste na coloração direta de células epiteliais respiratórias obtidas de esfregaços nasofaríngeos ou aspirados nasofaríngeos com anticorpos fluorescentes, seguido de exame sob um microscópio fluorescente (Vemula *et al.*, 2016). Atualmente há dois testes DFA aprovados pela Administração de Alimentos e Drogas dos EUA disponíveis: o D3 FastPoint L-DFA da Diagnostic Hybrids (Atenas, Ohio, EUA) e o Bartels Viral Respiratory Screening and Identification Kit da Intracel Corporation (Issaquah, Washington, EUA), destinados principalmente à detecção e diferenciação dos vírus influenza A e B (Vemula *et al.*, 2016).

Os ensaios sorológicos ajudam a determinar a presença de anticorpos específicos da gripe após infecção e vacinação (Dharmapalan, 2020). O teste de hemaglutinação e de inibição de hemaglutinação é um teste comum, rápido e econômico de detecção (Kode *et al.*, 2020). Ele é usado para verificar se o fluido alantóico coletado após o isolamento do vírus apresenta atividade de hemaglutinação; posteriormente, o soro antiviral é utilizado para a realização de testes de inibição da hemaglutinação não isolados, que necessitam de identificação da atividade de hemaglutinação (Pawar *et al.*, 2012).

AL Shafer, Katz e Eernisse (1998) desenvolveram um ensaio de imunoabsorção enzimática (ELISA) competitivo (CELISA) baseado no baculovírus recombinante do AIV para o diagnóstico sorológico do AIV em várias aves, onde não havia a necessidade de vários conjugados antiimunoglobulinas ou vírus vivos, evitando o risco potencial de infecção pela exposição a vírus vivos nos métodos convencionais do ELISA. O ELISA pode detectar reações cruzadas entre diferentes subtipos de AIV (Burlington *et al.*, 1985; Remarque *et al.*, 1998). Vários métodos de ELISA foram criados para a identificação do AIV, Zhang *et al.* (2006) desenvolveram o ELISA sanduíche de anticorpo duplo (DAS-ELISA); Chen *et al.* (2008) estabeleceram um instrumento rápido e simples na detecção dos subtipos H1-H15 de AIV, sem apresentar reação cruzada com outros patógenos aviários; Ho *et al.* (2009) desenvolveram o ELISA de captura de antígeno (AC-ELISA), usado para a detecção

rápida do H5N1 AIV; Prabakaran *et al.* (2009) estabeleceram um ELISA bloqueador de epítipo (EB-ELISA), usado para detectar anticorpos específicos para H5N1 AIV em soro animal e humano. Ainda que todos os métodos ELISA apresentem alta sensibilidade e especificidade, existe a baixa reprodutibilidade como desvantagem do método (Ellis; Fleming; Zambon, 1995 e 1996).

O teste de neutralização viral (VN) é uma técnica solicitada para avaliar a produção de anticorpos específicos contra um vírus após a infecção natural ou vacinação, sendo amplamente utilizado para determinar os níveis de anticorpos contra diferentes cepas do vírus influenza A; os anticorpos específicos tem capacidade de neutralizar o vírus, impedindo sua infecção nas células; o título de VN é definido como recíproco da diluição mais alta do soro em que a infecção viral está completamente bloqueada (Stephenson *et al.*, 2009).

6.5 Prevenção e Controle

No surgimento de qualquer caso suspeito, os protocolos de vigilância epidemiológica devem ser iniciados pelas autoridades até que um diagnóstico definitivo seja obtido (Ministério da Saúde Espanha, 2022).

Os medicamentos antivirais como Oseltamivir e Zanamivir são fundamentais no tratamento, pois atuam na inibição da neuraminase, uma enzima essencial na liberação do vírus das células infectadas, impedindo sua disseminação para outras células hospedeiras (Dharmapalan, 2020). O Sistema Global de Vigilância e Resposta à Gripe (GISRS) examinou 27.000 vírus H1N1 entre 2009 e 2011, encontrando resistência ao Oseltamivir em 447 desses vírus; foi notado que pacientes com comprometimento do sistema imunológico, especialmente aqueles com doenças hematológicas malignas ou que passaram por transplante de células-tronco hematopoiéticas (TCTH), tem maior probabilidade de desenvolver resistência ao Oseltamivir devido a doses inadequadas durante a profilaxia ou à interrupção prematura do tratamento durante a replicação do vírus (Hurt *et al.*, 2012).

Quando um caso de gripe aviária for confirmado, as estratégias de mediação devem ser imediatas e devem ser tomadas precauções rigorosas ao manusear casos de aves infectadas ou materiais infectados, seguindo um protocolo padrão (Kanaujia *et al.*, 2022).

Considerando a grande relevância da circulação do AIV para a saúde pública,

a Organização Mundial da Saúde supervisiona de perto a antigenicidade viral por meio da coordenação de laboratórios de referência com o objetivo de selecionar as cepas mais apropriadas para o desenvolvimento de vírus candidatos a vacinas, visando à preparação para pandemias (WHO, 2024). A imunização anual contra a gripe permanece como a principal medida preventiva, em que a eficácia das vacinas depende da correspondência entre as estirpes vacinais e as estirpes do vírus em circulação (Dharmapalan, 2020). No momento, existem opções de vacinas trivalente e quadrivalentes, com proteção estimada de 60% em adultos e 83% em crianças, contendo uma cepa H1N1, uma cepa H3N2 e uma ou duas cepas de Influenza B, que podem ser da linhagem B/Victoria ou B/Yamagata, ambas geneticamente distintas (Houser; Subbarao, 2015).

7 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A ocorrência de infecções anteriores do vírus da influenza em humanos com os vírus H5 e H7 ofereceram uma oportunidade valiosa na investigação e compreensão dos fatores virais que influenciam a transmissão e a gravidade da doença. Ao compreendermos os processos que levam a mudanças adaptativas nos vírus da influenza aviária (AIV) e as condições em que essas mudanças ocorrem, poderemos melhorar nossa habilidade de avaliar os riscos que a gripe aviária representa para a saúde pública e prever onde futuras pandemias podem surgir.

O reforço da biossegurança e a implementação de vacinação em aves domésticas são medidas cruciais para reduzir a incidência de surtos nessa população. Além disso, a manutenção de programas de vigilância de doenças em aves, humanos e outros animais domésticos, juntamente com o controle eficaz da gripe aviária em aves domésticas, podem significativamente diminuir os riscos de uma potencial pandemia.

REFERÊNCIAS

- ABDELWHAB, E. M.; VEITS, J.; METTENLEITER, T. C. Genetic changes that accompanied shifts of low pathogenic avian influenza viruses toward higher pathogenicity in poultry. **Virulence**, v. 4, n. 6, p. 441–452, 2013. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23863606/>. Acesso em: 27 maio 2024.
- ADLHOCH, C.; FUSARO, A.; GONZALES, J. L.; KUIKEN, T.; MARANGON, S.; NIQUEUX, É.; STAUBACH, C.; TERREGINO, C.; AZNAR, I.; GUAJARDO, I. M.; BALDINELLI, F. **Emerging Infectious Diseases**, v. 20, n. 8, 2022. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35949938/>. Acesso em: 27 maio 2024.
- AL SHAFER; KATZ, J. B.; EERNISSE, K. A. Development and validation of a competitive enzyme-linked immunosorbent assay for detection of type A influenza antibodies in avian sera. **Avian Diseases**, v. 42, n. 1, 2023. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/9533078/>. Acesso em: 30 maio 2024.
- ANDREWES, C. H.; BANG, F. B.; BURNET, F. M. A short description of the Myxovirus group (influenza and related viruses). **Virology**, v. 1, n. 2, p. 176–184, 1 jul. 1955.
- BAHL, J.; PHAM, T. T.; HILL, N. J.; HUSSEIN, I. T. M.; MA, E. J.; PÁSCOA, B. C.; HALPIN, R.; STOCKWELL, T. B.; WENTWORTH, D. E.; KAYALI, G.; KRAUSS, S.; SCHULTZ-CHERRY, S.; WEBSTER, R. G.; WEBBY, R. J.; SWARTZ, M. D.; SMITH, G. J. D.; RUNSTADLER, J. A. Ecosystem interactions underlie the spread of avian influenza A viruses with pandemic potential. **PLOS Pathogens**, v. 12, n. 5, p. e1005620–e1005620, 2016. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27166585/>. Acesso em: 27 maio 2024.
- BLAGODATSKI, A.; TRUTNEVA, K.; GLAZOVA, O.; MITYAEVA, O.; SHEVKOVA, L.; KEGELES, E.; ONYANOV, N.; FEDE, K.; MAZNINA, A.; KHAVINA, E.; YEO, S.-J.; HYUN, P.; VOLCHKOV, P. Avian influenza in wild birds and poultry: Dissemination pathways, monitoring methods, and virus ecology. **Pathogens**, v. 10, n. 5, p. 630–630, 2021. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34065291/>. Acesso em: 27 maio 2024.
- BOUVIER, N. M.; PALESE, P. The biology of influenza viruses. **Vaccine**, v. 26, p. D49–D53, 2008. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19230160/>. Acesso em: 28 maio 2024.
- BOUWSTRA, R.; GONZALES, J. L.; DE WIT, S.; STAHL, J.; FOUCHIER, R. A. M.; ELBERS, A. R. W. Risk for low pathogenicity avian influenza virus on poultry farms, the Netherlands, 2007–2013. **Emerging Infectious Diseases**, v. 23, n. 9, p. 1510–1516, 2017. Disponível em: https://wwwnc.cdc.gov/eid/article/23/9/17-0276_article. Acesso em: 28 maio 2024.
- BRÉMAUD, E.; FAVARD, C.; MURIAUX, D. Deciphering the assembly of enveloped viruses using model lipid membranes. **Membranes**, v. 12, n. 5, p. 441–441, 2022. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35629766/>. Acesso em: 28 maio 2024.

BROWN, J. D.; STALLKNECHT, D. E.; SWAYNE, D. E. Experimental infection of swans and geese with highly pathogenic avian influenza virus (H5N1) of Asian lineage. **Emerging Infectious Diseases**, v. 14, n. 1, p. 136–142, 2008. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18258093/>. Acesso em: 27 maio 2024.

BURLINGTON, D. B.; WRIGHT, P. F.; WYKE, V.; PHELAN, M. A.; MAYER, R. E.; MURPHY, B. R. Development of subtype-specific and heterosubtypic antibodies to the influenza A virus hemagglutinin after primary infection in children. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 21, n. 5, p. 847–849, 1985. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/3839001/>. Acesso em: 30 maio 2024.

CÁCERES, C. J.; RAJAO, D. S.; PEREZ, D. R. Airborne transmission of avian origin H9N2 influenza A viruses in mammals. **Viruses**, v. 13, n. 10, p. 1919–1919, 2021. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34696349/>. Acesso em: 30 maio 2024.

CAPUA, I.; MUNOZ, O. Emergence of influenza viruses with zoonotic potential: Open issues which need to be addressed. A review. **Veterinary Microbiology**, v. 165, n. 1-2, p. 7–12, 2013. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0378113513000965>.

CAUSEY, D.; EDWARDS, S. V. Ecology of avian influenza virus in birds. **The Journal of Infectious Diseases**, v. 197, n. S1, p. S29–S33, 2008. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18269325/>. Acesso em: 27 maio 2024.

Centros de Controle e Prevenção de Doenças. Emergence and evolution of H5N1 bird flu. Atlanta, GA, EUA. 2022. Disponível em: <https://www.cdc.gov/flu/avianflu/communication-resources/bird-flu-origin-infographic.html>. Acesso em: 30 maio 2024.

CHATZIPRODROMIDOU, I. P.; MALAMATENIA, A.; GUITIAN, J.; APOSTOLOU, T.; VANTARAKIS, G.; VANTARAKIS, A. Global avian influenza outbreaks 2010–2016: A systematic review of their distribution, avian species and virus subtype. **Systematic Reviews**, v. 7, n. 1, 2018. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29368637/>. Acesso em: 30 maio 2024.

CHAUHAN, R. P.; GORDON, M. L. An overview of influenza A virus genes, protein functions, and replication cycle highlighting important updates. **Virus Genes**, v. 58, n. 4, p. 255–269, 2022. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35471490/>. Acesso em: 28 maio 2024.

CHEN, H.; SMITH, D.; LI, K. S.; WANG, J.; XH, V.; RAYNER, J. M.; VIJAYKRISHNA, D.; ZHANG, J. X.; ZHANG, L. J.; GUO, C. T.; CHEUNG, C. L.; XU, K. M.; DUAN, L.; HUANG, K.; QIN, K.; LEUNG, Y. H.; WU, W. L.; LU, H. R.; CHEN, Y.; XIA, N. S.; NAIPOSPOS, T. S.; YUEN, K. Y.; HASSAN, S. S.; BAHRI, S.; NGUYEN, T. D.; WEBSTER, R. G.; PEIRIS, J. S.; GUAN, Y. Establishment of multiple sublineages of H5N1 influenza virus in Asia: Implications for pandemic control. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 103, n. 8, p. 2845–2850, 2006. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16473931/>. Acesso em: 27 maio 2024.

CHEN, Y.; XU, F.; FAN, X.; LUO, H.; GE, S.; ZHENG, Q.; XIA, N.; CHEN, H.; GUAN, Y.; ZHANG, J. Evaluation of a rapid test for detection of H5N1 avian influenza virus. **Journal of Virological Methods**, v. 154, n. 1-2, p. 213–215, 2008. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18793671/>. Acesso em: 30 maio 2024.

CHEN, Y.; LIANG, W.; YANG, S.; WU, N.; GAO, H.; SHENG, J.; YAO, P.; WO, J.; FANG, Q.; CUI, D.; LI, Y.; YAO, X.; ZHANG, Y.; WU, H.; ZHENG, S.; DIAO, H.; XIA, S.; ZHANG, Y.; CHAN, K.-H.; TSOI, H.-W.; TENG, J. L.; SONG, W.; WANG, P.; LAU, S. Y.; ZHENG, M.; CHAN, J. F.; TO, K. K.; CHEN, H.; LI, L.; YUEN, K.-Y. Human infections with the emerging avian influenza A H7N9 virus from wet market poultry: Clinical analysis and characterisation of viral genome. **Lancet**, v. 381, n. 9881, p. 1916–1925, 2013. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23623390/>. Acesso em: 30 maio 2024.

DE GRAAF, M.; FOUCHIER, R. A. M. Role of receptor binding specificity in influenza A virus transmission and pathogenesis. **EMBO Journal**, v. 33, n. 8, p. 823–841, 2014. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24668228/>. Acesso em: 30 maio 2024.

DESSELBERGER, U.; RACANIELLO, V. R.; ZAZRA, J. J.; PALESE, P. The 3' and 5'-terminal sequences of influenza A, B and C virus RNA segments are highly conserved and show partial inverted complementarity. **Gene**, v. 8, n. 3, p. 315–328, 1 fev. 1980.

DHARMAPALAN, D. Influenza. **Indian Journal of Pediatrics**, v. 87, n. 10, p. 828–832, 2020. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7091034/>. Acesso em: 30 maio 2024.

ELLIS, J. S.; FLEMING, D. M.; ZAMBON, M. C. Multiplex reverse transcription-PCR for surveillance of influenza A and B viruses in England and Wales in 1995 and 1996. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 35, n. 8, p. 2076–2082, 1997. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/9230385/>. Acesso em: 30 maio 2024.

GAMBARYAN, A. S.; MATROSOVICH, M. N. What adaptive changes in hemagglutinin and neuraminidase are necessary for emergence of pandemic influenza virus from its avian precursor? **Biochemistry**, v. 80, n. 7, p. 872–880, 2015. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26542001/>. Acesso em: 30 maio 2024.

GAO, R.; CAO, B.; HU, Y.; FENG, Z.; WANG, D.; HU, W.; CHEN, J.; JIE, Z.; QIU, H.; XU, K.; XU, X.; LU, H.; ZHU, W.; GAO, Z.; XIANG, N.; SHEN, Y.; HE, Z.; GU, Y.; ZHANG, Z.; YANG, Y.; ZHAO, X.; ZHOU, L.; LI, X.; ZOU, S.; ZHANG, Y.; LI, X.; YANG, L.; GUO, J.; DONG, J.; LI, Q.; DONG, L.; ZHU, Y.; BAI, T.; WANG, S.; HAO, P.; YANG, W.; ZHANG, Y.; HAN, J.; YU, H.; LI, D.; GAO, G. F.; WU, G.; WANG, Y.; YUAN, Z.; SHU, Y. Human infection with a novel avian-origin influenza A (H7N9) virus. **New England Journal of Medicine**, v. 368, n. 20, p. 1888–1897, 2013. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23577628/>. Acesso em: 30 maio 2024.

GAUTHIER-CLERC, M.; LEBARBENCHON, C.; THOMAS, F. Recent expansion of highly pathogenic avian influenza H5N1: A critical review. **Ibis**, v. 149, n. 2, p. 202–214, 2007. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1474-919X.2007.00699.x>. Acesso em: 27 maio 2024.

GLASER, L.; STEVENS, J.; ZAMARIN, D.; WILSON, I. A.; GARCÍA-SASTRE, A.; TUMPEY, T. M.; BASLER, C. F.; TAUBENBERGER, J. K.; PALESE, P. A single amino acid substitution in 1918 influenza virus hemagglutinin changes receptor binding specificity. **Journal of Virology**, v. 79, n. 17, p. 11533–11536, 2005. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16103207/>. Acesso em: 30 maio 2024.

HO, H.-T.; QIAN, H.-L.; HE, F.; MENG, T.; SZYPORTA, M.; PRABHU, N.; PRABAKARAN, M.; CHAN, K. P.; KWANG, J. Rapid detection of H5N1 subtype influenza viruses by antigen capture enzyme-linked immunosorbent assay using H5- and N1-specific monoclonal antibodies. **Clinical and Vaccine Immunology**, v. 16, n. 5, p. 726–732, 2009. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19321691/>. Acesso em: 30 maio 2024.

HOUSER, K.; SUBBARAO, K. Influenza vaccines: Challenges and solutions. **Cell Host & Microbe**, v. 17, n. 3, p. 295–300, 2015. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25766291/>. Acesso em: 31 maio 2024.

HURT, A. C.; CHOTPITAYASUNONDH, T.; COX, N. J.; DANIELS, R.; FRY, A. M.; GUBAREVA, L. V.; HAYDEN, F. G.; HUI, D. S.; HUNGNES, O.; LACKENBY, A.; LIM, W.; MEIJER, A.; PENN, C.; TASHIRO, M.; UYEKI, T. M.; ZAMBON, M. Antiviral resistance during the 2009 influenza A H1N1 pandemic: Public health, laboratory, and clinical perspectives. **Lancet Infectious Diseases**, v. 12, n. 3, p. 240–248, 2012. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22186145/>. Acesso em: 31 maio 2024.

ITO, Y. Clinical diagnosis of influenza. **Methods in Molecular Biology**, p. 23–31, 2018. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30151567/>. Acesso em: 30 maio 2024.

JOURDAIN, E.; GUNNARSSON, G.; WAHLGREN, J.; LATORRE-MARGALEF, N.; BRÖJER, C.; SAHLIN, S.; SVENSSON, L.; WALDENSTRÖM, J.; LUNDKVIST, Å.; OLSEN, B. Influenza virus in a natural host, the mallard: Experimental infection data. **PLOS One**, v. 5, n. 1, p. e8935–e8935, 2010. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20126617/>. Acesso em: 27 maio 2024.

KANAUJIA, R.; BORA, I.; RATHO, R. K.; HAKUR, V.; MOHI, G. K.; THAKUR, P. Avian influenza revisited: Concerns and constraints. **Virus Disease**, v. 33, n. 4, p. 456–465, 2022. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36320191/>. Acesso em: 31 maio 2024.

KELLER, M. W.; RAMBO-MARTIN, B. L.; WILSON, M. M.; RIDENOUR, C. A.; SHEPARD, S. S.; STARK, T. J.; NEUHAUS, E. B.; DUGAN, V. G.; WENTWORTH, D. E.; BARNES, J. R. Direct RNA sequencing of the coding complete influenza A

virus genome. **Scientific Reports**, v. 8, n. 1, 2018. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30258076/>. Acesso em: 28 maio 2024.

KING, A. M. Q.; ADAMS, M. J.; CARSTENS, E. B.; LEFKOWITZ, E. J. *Virus Taxonomy: Ninth Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses*. 1 ed. **Elsevier**, 2011.

KODE, S. S.; PAWAR, S. D.; TARE, D. S.; MULLICK, J. Application of frozen and stored glutaraldehyde-fixed turkey red blood cells for hemagglutination and hemagglutination inhibition assays for the detection and identification of influenza viruses. **Journal of Virological Methods**, v. 289, p. 114046–114046, 2021. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33333106/>. Acesso em: 30 maio 2024.

KRAUSS, S.; STUCKER, K. M.; SCHOBEL, S. A.; DANNER, A.; FRIEDMAN, K.; KNOWLES, J. P.; KAYALI, G.; NILES, L. J.; DEY, A. D.; GRANADA, C.; PRIOR, P.; LIN, X.; DAS, S. R.; STOCKWELL, T. B.; WENTEORTH, D. E.; WEBSTER, R. G. Long-term surveillance of H7 influenza viruses in American wild aquatic birds: Are the H7N3 influenza viruses in wild birds the precursors of highly pathogenic strains in domestic poultry? **Emerging Microbes & Infections**, v. 4, n. 1, p. 1–9, 2015. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26954883/>. Acesso em: 31 maio 2024.

KUBO T., AGOH M., MAI LE Q., FUKUSHIMA K., NISHIMURA H., YAMAGUCHI A., HIRANO M., YOSHIKAWA A., HASEBE F., KOHNO S., MORITA K. Development of a Reverse Transcription-Loop-Mediated Isothermal Amplification Assay for Detection of Pandemic (H1N1) 2009 Virus as a Novel Molecular Method for Diagnosis of Pandemic Influenza in Resource-Limited Settings. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 48, n. 3, p. 728–735, 14 jan. 2010.

KUIKEN, T.; HOLMES, E. C.; MCCAULEY, J.; RIMMELZWAAN, G. F.; WILLIAMS, C. S.; GRENFELL, B. T. Host species barriers to influenza virus infections. **Science**, v. 312, n. 5772, p. 394–397, 2006. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16627737/>. Acesso em: 30 maio 2024.

LAM, T. T. Y.; WANG, J.; SHEN, Y.; ZHOU, B.; DUAN, L.; CHEUNG, C. L.; MA, C.; LYCETT, S. J.; LEUNG, C. Y. H.; CHEN, X.; LI, L.; CHAI, Y.; ZHOU, L.; LIANG, H.; OU, Z.; LIU, Y. M.; FAROOQUI, Â.; KELVIN, D. J.; POON, L. M.; SMITH, D. K.; PYBUS, O. G.; LEUNG, G. M.; SHU, Y.; WEBSTER, R. G.; WEBBY, R. J.; PEIRIS, J. S. M.; RAMBAUT, A.; ZHU, H.; GUAN, Y. The genesis and source of the H7N9 influenza viruses causing human infections in China. **Nature**, v. 502, n. 7470, p. 241–244, 2013. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23965623/>. Acesso em: 30 maio 2024.

LEE, D.-H.; BERTRAN, K.; KWON, J.-H.; SWAYNE, D. E. Evolution, global spread, and pathogenicity of highly pathogenic avian influenza H5Nx clade 2.3.4.4. **Journal of Veterinary Science**, v. 18, n. S1, p. 269–269, 2017. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28859267/>. Acesso em: 30 maio 2024.

LEE, D.-H.; CRIADO, M. F.; SWAYNE, D. E. Pathobiological origins and evolutionary history of highly pathogenic avian influenza viruses. **Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine**, v. 11, n. 2, p. a038679–a038679, 2020. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31964650/>. Acesso em: 30 maio 2024.

LI, Y.-T.; LINSTER, M.; MENDENHALL, I. H.; SU, Y. C. F.; SMITH, G. J. Avian influenza viruses in humans: lessons from past outbreaks. **British Medical Bulletin**, v. 132, n. 1, p. 81–95, 2019. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6992886/#ref3>. Acesso em: 31 maio 2024.

LIU, D.; SHI, W.; SHI, Y.; WANG, D.; XIAO, H.; LI, W.; BI, Y.; WU, Y.; LI, X.; YAN, J. H.; LIU, W.; ZHAO, G.; YANG, W.; WANG, Y.; MA, J.; SHU, Y. L.; LEI, F.; GAO, G. F. Origin and diversity of novel avian influenza A H7N9 viruses causing human infection: phylogenetic, structural, and coalescent analyses. **Lancet**, v. 381, n. 9881, p. 1926–1932, 2013. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23643111/>. Acesso em: 30 maio 2024.

LONG, J. S.; MISTRY, B.; HASLAM, S. M.; BARCLAY, W. Host and viral determinants of influenza A virus species specificity. **Nature Reviews Microbiology**, v. 17, n. 2, p. 67–81, 2018. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30487536/>. Acesso em: 27 maio 2024.

MEDINA, R. A.; GARCÍA-SASTRE, A. Influenza A viruses: new research developments. **Nature Reviews Microbiology**, v. 9, n. 8, p. 590–603, 2011. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21747392/>. Acesso em: 30 maio 2024.

MOSTAFA, A.; ELSAYED ABDELWHAB, E.; METTENLEITER, T.; PLESCHKA, S. Zoonotic potential of influenza A viruses: a comprehensive overview. **Viruses**, v. 10, n. 9, p. 497–497, 2018. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30217093/>. Acesso em: 28 maio 2024.

OFICINA INTERNACIONAL DE EPIZOOTIAS (OIE). **Influenza Aviar (Incluida la Infección por los Virus de la Influenza Aviar Altamente Patógenos)** 2021. Capítulo 3.3.4. Disponível em: https://www.woah.org/fileadmin/Home/esp/Health_standards/tahm/3.03.04_AI.pdf/. Acesso em: 30 maio 2024.

OLSEN, B.; MUNSTER, V. J.; WALLENSTEN, A.; WALDENSTRÖM, J.; OSTERHAUS, A. D. M. E.; FOUCHIER, R. A. M. Global patterns of influenza A virus in wild birds. **Science**, v. 312, n. 5772, p. 384–388, 2006. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16627734/>. Acesso em: 27 maio 2024.

ORGANIZAÇÃO DAS NAÇÕES UNIDAS PARA A ALIMENTAÇÃO E A AGRICULTURA. **Terceiro Relatório do Programa Global para a Preservação e Controle da Gripe Aviária Altamente Patogênica**. FAO; Roma, Itália, 2008.

PAHO. **Avian Influenza**. Disponível em: <https://www.paho.org/en/topics/avian-influenza>. Acesso em: 30 maio 2024.

PAHO/WHO | Pan American Health Organization. **Paho.org**. Disponível em: <https://www.paho.org/en>. Acesso em: 30 maio 2024.

PAULES, C. I.; FAUCI, A. S. Influenza Vaccines: Good, but We Can Do Better. **The Journal of Infectious Diseases** (Online. University of Chicago Press), v. 219, n. Supplement_1, p. S1–S4, 2019. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30715469/>. Acesso em: 28 maio 2024.

PAWAR, S. D.; PARKHI, S. S.; KORATKAR, S. S.; MISHRA, A. C. Receptor specificity and erythrocyte binding preferences of avian influenza viruses isolated from India. **Virology Journal**, v. 9, n. 1, 2012. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23110802/>. Acesso em: 30 maio 2024.

PINEO, R. Four Flu Pandemics: Lessons that Need to Be Learned - Ronn Pineo, 2021. **Journal of Developing Societies**. Disponível em: <https://journals.sagepub.com/doi/10.1177/0169796X211047221>. Acesso em: 28 maio 2024.

PONS, M. W. Studies on influenza virus ribonucleic acid. **Virology**, v. 31, n. 3, p. 523–531, 1 mar. 1967.

PRABAKARAN, M.; HO, H.-T.; PRABHU, N.; VELUMANI, S.; SZYPORTA, M.; HE, F.; CHAN, K.-P.; CHEN, L.-M.; MATSUOKA, Y.; DONIS, R. O.; KWANG, J. Development of Epitope-Blocking ELISA for Universal Detection of Antibodies to Human H5N1 Influenza Viruses. **PLOS One**, v. 4, n. 2, p. e4566, 2009. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19238211/>. Acesso em: 30 maio 2024.

REMARQUE, E. J.; DE BRUIJN, I. A.; BOERSMA, W. J.; MASUREL, N.; LIGTHART, G. J. Altered antibody response to influenza H1N1 vaccine in healthy elderly people as determined by HI, ELISA, and neutralization assay. **Journal of Medical Virology**, v. 55, n. 1, 2015. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/9580890/>. Acesso em: 30 maio 2024.

ROBERTON, S. I.; BELL, D. J.; SMITH, G. J. D.; NICHOLLS, J. M.; CHAN, K. H.; NGUYEN, D. T.; TRAN, P. Q.; STREICHER, Y.; POON, L. L. M.; CHEN, H.; HORBY, P.; GUARDO, M.; GUAN, Y.; PEIRIS, J. S. M. Avian influenza H5N1 in viverrids: implications for wildlife health and conservation. **Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences**, v. 273, n. 1595, p. 1729–1732, 2006. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16790404/>. Acesso em: 31 maio 2024.

SCHOCH, C. L.; CIUFO, S.; DOMRACHEV, M.; HOTTON, C. L.; KANNAN, S.; KHOVANSKAYA, R.; LEIPE, D.; MCVEIGH, R.; O'NEILL, K.; ROBERTSE, B.; SHARMA, S.; SOUSSOV, V.; SULLIVAN, J. P.; SUN, L.; TURNER, S. NCBI Taxonomy: a comprehensive update on curation, resources and tools. **Database**, v. 2020, 2020. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32761142/>. Acesso em: 27 maio 2024.

SHAW, M.; PALESE, P. Orthomyxoviridae. Em: **Fields Virology**, Vol. 1, 6ª ed. Filadélfia: Lippincott, Williams & Wilkins, 2013.

NODA, Takeshi. Native Morphology of Influenza Virions. **Frontiers in Microbiology**, v. 2, 2012. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22291683/>. Acesso em: 28 maio 2024.

SKELTON, R. M.; HUBER, V. C. Comparing Influenza Virus Biology for Understanding Influenza D Virus. **Viruses**, v. 14, n. 5, p. 1036, 2022. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35632777/>. Acesso em: 28 maio 2024.

SREENIVASAN, C. C.; THOMAS, M.; KAUSHIK, R. S.; WANG, D.; LI, F. Influenza A in Bovine Species: A Narrative Literature Review. **Viruses**, v. 11, n. 6, p. 561, 2019. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31213032/>. Acesso em: 28 maio 2024.

STEPHENSON, I.; HEATH, A.; MAJOR, Diane; et al. Reproducibility of Serologic Assays for Influenza Virus A (H5N1). **Emerging Infectious Diseases**, v. 15, n. 8, p. 1250–1259, 2009. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19751587/>. Acesso em: 31 maio 2024.

SUTTON, T. C. The Pandemic Threat of Emerging H5 and H7 Avian Influenza Viruses. **Viruses**, v. 10, n. 9, p. 461, 2018. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30154345/>. Acesso em: 30 maio 2024.

SWAYNE, D. E. **Gripe Aviária**. Ames, IA, EUA: Blackwell, 2008. Disponível em: https://books.google.com.ec/books?hl=es&lr=&id=eZjFavPmuxAC&oi=fnd&pg=PP2&ots=jyiRjnKa6Q&sig=tbhpc0dDVC45dPzGpFokIANKasU&redir_esc=y#v=onepage&q&f=false. Acesso em: 30 maio 2024.

SILVA, B. R. et al. Molecular Diagnosis of Avian Viruses in Grassland Passerines and Captive Yellow Cardinals **Gubernatrix cristata** in Brazil. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 41, p. e06840, 2021.

SUTTON, T. C. The Pandemic Threat of Emerging H5 and H7 Avian Influenza Viruses. **Viruses**, v. 10, n. 9, p. 461, 2018. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30154345/>. Acesso em: 30 maio 2024.

SWAYNE, D. E.; HALVORSON, D. A. **Gripe**. In: SAIF, Y. M.; BARNES, H. J.; GLISSON, J. R.; FADLY, A. M.; MCDUGALD, L. R.; SWAYNE, D. E., editores. **Doenças das Aves**, 11^a ed. Ames (IA): Imprensa da Universidade Estadual de Iowa, 2003. p. 135–160.

TROVÃO, Nídia Sequeira; SUCHARD, Marc A.; BAELE, Guy; GILBERTO, Mário; LEMEY, Philippe. Bayesian Inference Reveals Host-Specific Contributions to the Epidemic Expansion of Influenza A H5N1. **Molecular Biology and Evolution**, p. msv185, 2015. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26341298/>. Acesso em: 31 maio 2024.

VASIN, A. V.; TEMKINA, O. A.; EGOROV, V. V.; KLOTCHENKO, S. A.; PLOTNIKOVA, M. A.; KISELEV, O. I. Molecular mechanisms enhancing the proteome of influenza A viruses: An overview of recently discovered proteins. **Virus**

Research, v. 185, p. 53–63, 2014. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24675275/>. Acesso em: 28 maio 2024.

VIJAYKRISHNA, D.; MUKERJI, R.; GAVIN. RNA Virus Reassortment: An Evolutionary Mechanism for Host Jumps and Immune Evasion. **PLOS Pathogens**, v. 11, n. 7, p. e1004902, 2015. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26158697/>. Acesso em: 28 maio 2024.

VEMULA, S. V.; ZHAO, J.; LIU, J.; WANG, X.; BISWAS, S.; HEWLETT, I. Current Approaches for Diagnosis of Influenza Virus Infections in Humans. **Viruses**, v. 8, n. 4, p. 96, 2016. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27077877/>. Acesso em: 30 maio 2024.

VOTINTSEVA, A. A.; BRADLEY, P.; PANKHURST, L.; et al. Same-Day Diagnostic and Surveillance Data for Tuberculosis via Whole-Genome Sequencing of Direct Respiratory Samples. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 55, n. 5, p. 1285–1298, 2017. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28275074/>. Acesso em: 30 maio 2024.

WATANABE, Y.; IBRAHIM, M. S.; ELLAKANY, H. F.; KAWASHITA, N.; MIZUIKE, R.; HIRAMATSU, H.; et al. Acquisition of Human-Type Receptor Binding Specificity by New H5N1 Influenza Virus Sublineages during Their Emergence in Birds in Egypt. **PLOS Pathogens**, v. 7, n. 5, p. e1002068, 2011. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21637809/>. Acesso em: 30 maio 2024.

WATANABE, Y.; IBRAHIM, M. S.; SUZUKI, Y.; IKUTA, K. The Changing Nature of Avian Influenza A Virus (H5N1). **Trends in Microbiology**, v. 20, n. 1, p. 11–20, 2012. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22153752/>. Acesso em: 30 maio 2024.

WEBSTER, R. G.; BEAN, W. J.; GORMAN, O. T.; CHAMBERS, T. M.; KAWAOKA, Y. Evolution and Ecology of Influenza A Viruses. **Microbiological Reviews**, v. 56, n. 1, p. 152–179, 1992. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/1579108/>. Acesso em: 27 maio 2024.

WHO. **Influenza (Avian and other zoonotic)**. Who.int. Disponível em: [https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/influenza-\(avian-and-other-zoonotic\)](https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/influenza-(avian-and-other-zoonotic)). Acesso em: 30 maio 2024.

WHO. **Current Influenza Update**. Disponível em: <https://www.who.int/teams/global-influenza-programme/surveillance-and-monitoring/influenza-updates/current-influenza-update>. Acesso em: 31 maio 2024.

YAMADA, S.; SUZUKI, Y.; SUZUKI, T.; et al. Haemagglutinin Mutations Responsible for the Binding of H5N1 Influenza A Viruses to Human-Type Receptors. **Nature**, v. 444, n. 7117, p. 378–382, 2006. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17108965/>. Acesso em: 30 maio 2024.

YAMAJI, R.; SAAD, M. D.; DAVIS, C. T.; et al. Pandemic Potential of Highly Pathogenic Avian Influenza Clade 2.3.4.4 A(H5) Viruses. **Reviews in Medical**

Virology, v. 30, n. 3, 2020. Disponível em:
<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32135031/>. Acesso em: 30 maio 2024.

YANG, R.; SUN, H.; GAO, F.; et al. Human Infection of Avian Influenza A H3N8 Virus and the Viral Origins: A Descriptive Study. **Lancet Microbe**, v. 3, n. 11, p. e824–e834, 2022. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36115379/>. Acesso em: 27 maio 2024.

ZHANG, A.; JIN, M.; LIU, F.; et al. Development and Evaluation of a DAS-ELISA for Rapid Detection of Avian Influenza Viruses. **Avian Diseases**, v. 50, n. 3, p. 325–330, 2006. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17039829/>. Acesso em: 30 maio 2024.

ZHOU, L.; TAN, Y.; KANG, M.; et al. Preliminary Epidemiology of Human Infections with Highly Pathogenic Avian Influenza A(H7N9) Virus, China, 2017. **Emerging Infectious Diseases**, v. 23, n. 8, p. 1355–1359, 2017. Disponível em:
<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28580900/>. Acesso em: 30 maio 2024.