

# Fatores de risco associados à gravidade e óbitos por influenza durante a Pandemia de Influenza A (H1N1) 2009 em região tropical/semiárida do Brasil

## Risk factors associated with the severity and deaths caused by influenza during the Pandemic Influenza A (H1N1) 2009 in a tropical / semi-arid region of Brazil

Daniele Rocha Queiroz Lemos<sup>1,2,3,6</sup>, Roberto da Justa Pires Neto<sup>1,7</sup>, Anne Carolinne Bezerra Perdigão<sup>4,5</sup>, Izabel Florindo Guedes<sup>5</sup>, Fernanda Montenegro Carvalho Araújo<sup>4</sup>, Guilherme Emilio Ferreira<sup>3</sup>, Fabiana Rocha de Oliveira<sup>3</sup>, Luciano Pamplona de Góes Cavalcanti<sup>1</sup>

1. Departamento de Saúde Comunitária, Faculdade de Medicina, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, CE. 2. Núcleo de Vigilância Epidemiológica, Secretaria da Saúde do Estado do Ceará, Fortaleza, CE. 3. Faculdade de Medicina do Centro Universitário Christus, Fortaleza, CE. 4. Laboratório Central de Saúde Pública do Ceará, Fortaleza, CE. 5. Doutorado na Rede Nordeste de Biotecnologia pela Universidade Estadual do Ceará, Fortaleza, CE. 6. Doutorado em Saúde Coletiva pela Universidade Estadual do Ceará, Fortaleza, CE. 7. Hospital São José de Doenças Infecciosas, Fortaleza, CE.

### Resumo

**Introdução:** O vírus da Influenza A (H1N1) 2009 pdm tornou-se uma cepa sazonal da gripe a partir de 2010. Provoca doença leve na maioria dos pacientes e pequena proporção dos acometidos evoluiu para a forma grave da doença, necessitando de tratamento hospitalar e cuidados intensivos. Durante a pandemia de Influenza A (H1N1) 2009, ainda não era conhecida a patogenicidade e virulência da nova cepa. Este fato ressalta a necessidade de estudos para determinar as características epidemiológicas, clínicas e indicadores de mortalidade, especialmente nas formas graves e óbitos. **Objetivo:** Identificar os fatores associados à ocorrência de gravidade e óbitos durante a pandemia de Influenza A (H1N1) 2009 pdm no Ceará. **Metodologia:** Trata-se de uma coorte observacional, retrospectiva, dos pacientes admitidos em hospitais da capital do Ceará e detectados por meio dos casos notificados no Sistema de Informação de Agravos de Notificação (SINAN), no período pandêmico 2009-2010. Foram trabalhados os casos com diagnóstico de infecção aguda por vírus A (H1N1) por RT-PCR. Após identificado o paciente, buscou-se na unidade de hospitalização o prontuário de acompanhamento médico. Utilizou-se como instrumento para coleta de dados a APACHE II e questionário contendo dados da hospitalização, exames clínicos e laboratoriais. Após Teste Qui-quadrado, foram considerados significativos  $P < 0,05$  e IC de 95%. **Resultados:** Foram confirmados 40 casos graves por influenza A (H1N1) 2009 pdm, com 8 (20%) óbitos. Em 2010, os pacientes graves apresentaram duas vezes mais chances de serem internados na UTI e o percentual de óbitos foi 50% maior que em 2009. A letalidade foi 2,4 vezes maior entre os homens. Os pacientes com ensino fundamental completo tinham uma vez mais chances de evoluir para óbito que os pós-graduados. O tempo médio entre a data dos primeiros sintomas e o início do tratamento com Fosfato de Oseltamivir foi de 4,13 dias entre os que evoluíram para cura e 11 dias entre os que evoluíram para óbito ( $P = 0,00$ ). 72,5% (29/40) tinham algum fator associado ou comorbidade. Na admissão, 25% (10/40) dos pacientes tinham entre 11 e 50% de risco de morte e 10% (4/40) tinham injúria cerebral severa. Em relação à necessidade de cuidados intensivos, todos os aspectos estudados foram significativos. **Conclusão:** A procura por assistência de saúde, retardo no início da terapia antiviral e a presença de comorbidades, principalmente obesidade foram relevantes para a gravidade dos casos.

**Palavras-chave:** Influenza. Infecção respiratória aguda grave. Fatores de risco. Letalidade

### Abstract

**Introduction:** The virus Influenza A (H1N1) 2009 pdm has become a seasonal flu strain starting in 2010. It causes mild disease in most patients and small proportion of affected progresses to severe disease requiring hospital treatment and intensive care. During Pandemic Influenza A (H1N1) 2009 was not yet known pathogenicity and virulence of the new strain. This fact underscores the need for studies to determine the epidemiological, clinical and mortality rates, especially in severe forms and death. **Objective:** To identify factors associated with severity and deaths during a pandemic of Influenza A (H1N1) 2009 pdm in Ceará. **Methodology:** This is a retrospective observational cohort of patients admitted to hospitals of the capital of Ceará, through epidemiological surveillance through the routine cases reported in the Notifiable Diseases Information System (SINAN), the pandemic period 2009- 2010 diagnosed with acute infection virus A (H1N1) by RT PCR, also for the two years studied. After identified patient, sought in hospitalization unit, the medical records of medical care. It was used as the APACHE II data collection tool and questionnaire containing hospitalization data, clinical and laboratory tests. After the Chi-square test were considered significant  $P < 0.05$  and 95%. **Results:** We confirmed 40 severe cases of influenza A (H1N1) pdm 2009, 8 (20%) deaths. In 2010, seriously ill patients were twice as likely to be admitted to the ICU and the mortality rate was 50% higher than in 2009. The mortality rate was 2.4 times higher among men. Patients with complete primary school had one more chance of evolving to death that postgraduates. The average time between the date of the first symptoms and the initiation of treatment with Oseltamivir phosphate was 4.13 days among those who were cured and 11 days among those who died ( $P = 0.00$ ). 72.5% (29/40) had some associated factor or comorbidity, with significant obesity. On admission, 25% (10/40) of the patients were between 11 and 50% risk of death and 10% (4/40) had severe brain injury. Regarding the need for intensive care, all aspects studied were significant. **Conclusion:** The demand for health care, delayed initiation of antiviral therapy and the presence of comorbidities, especially obesity were relevant to the severity of cases.

**Keywords:** Influenza. Serious acute respiratory infection. Risk factors. Letality.

**Correspondência:** Daniele Rocha Queiroz Lemos. Rua João Adolfo Gurgel, 133, Parque do Cocó, Fortaleza, Ceará, Brasil. E-mail: daniele.rq@gmail.com

**Conflito de interesse:** Não há conflito de interesse por parte de qualquer um dos autores.

Recebido em: 10 Abr 2015; Revisado em: 05 Maio 2015; Aceito em: 11 Jun 2015.

## INTRODUÇÃO

A influenza é uma das principais causas globais de morbimortalidade, resultando em um número estimado de 3 a 5 milhões de casos de doença grave e 250 a 500 mil mortes anuais<sup>1,2,3</sup>. Essa estimativa pode ser superada quando há o surgimento de um novo vírus e consequentemente, ocorre uma pandemia. O impacto da doença está claramente associado à emergência de novas variantes do vírus, particularmente quando essas variantes não estão incluídas na vacina<sup>4</sup>.

Durante a última pandemia, o vírus da influenza A (H1N1) 2009 provocou uma doença semelhante à gripe sazonal. Apenas parte dos acometidos evoluiu para a forma grave da doença e óbito, necessitando de tratamento hospitalar e cuidados intensivos<sup>5</sup>. Mesmo assim, foram confirmados cerca de 18 mil óbitos nos anos de 2009 e 2010, causados pelo novo vírus<sup>4,6</sup>. A gravidade clínica e a mortalidade dos pacientes se deu principalmente pelo comprometimento respiratório secundário à infecção por influenza. Esta condição é descrita como infecção respiratória aguda grave (IRA)<sup>7,8</sup>. A pandemia de 2009 realçou a necessidade de estabelecer a vigilância da sentinela hospitalar de IRA<sup>9</sup>.

No Brasil, foram notificados 105.277 casos, com 54.171 confirmações e 2.232 mortes<sup>10</sup>. No estado do Ceará, nordeste do Brasil, foram relatados 40 casos com complicações e mortes<sup>11</sup>. Estudos realizados acerca da influenza A (H1N1) 2009 pdm abordam os cuidados de alta complexidade, já que com o avanço dos cuidados intensivos há a possibilidade de diminuir a mortalidade relacionada à infecção<sup>12</sup>. Lidar com a gripe de forma adequada é o grande desafio da atualidade.

O presente estudo caracterizou os padrões de morbimortalidade pelo vírus da Influenza A (H1N1) 2009, objetivando identificar os fatores associados à ocorrência de gravidade e óbitos durante a pandemia de Influenza A (H1N1) 2009, no Ceará, nos anos de 2009 e 2010.

## METODOLOGIA

Trata-se de uma coorte observacional, retrospectiva, dos casos graves e óbitos por influenza A (H1N1) 2009 pdm, nos anos pandêmicos de 2009 e 2010. Os pacientes que compuseram o estudo foram identificados por meio do Sistema de Informação de Doenças de Notificação (SINAN) da Secretaria da Saúde do Estado do Ceará, após notificação compulsória como casos suspeitos de Influenza A (H1N1) 2009 pdm, por meio da vigilância de rotina, durante hospitalização e confirmação diagnóstica através de RT-PCR em tempo real.

Após confirmação diagnóstica, houve a coleta de dados, em prontuário médico, por meio de um instrumento elaborado para esse fim, contendo variáveis como: dados demográficos, aspectos clínicos, dados da hospitalização e evolução clínica. Possuía também, variáveis para identificar a presença de comorbidades, de fatores de risco ou condição de risco, como ser obeso, tabagista, gestante, menor de dois anos ou idoso. Foram, ainda, utilizados como instrumentos de coleta de dados

a Ficha de Notificação de caso suspeito de Influenza pandêmica por novo subtipo e a escala *Acute physiology and chronic health evaluation* – APACHE II<sup>47</sup>. Os dados que compõe a análise da APACHE II foram coletados também em prontuário e são referentes às primeiras aferições de cada parâmetro, durante a hospitalização. O critério de inclusão foi o paciente ter sido hospitalizado, independente de ter evoluído para cura ou óbito, com diagnóstico confirmado de influenza A (H1N1) 2009 pdm por RT-PCR em tempo real e ter o prontuário disponível na unidade em que foi hospitalizado. Não houve critério de exclusão. Realizou-se estatística descritiva, bivariada e teste chi-quadrado. As variáveis quantitativas foram comparadas com o teste t de student, admitindo-se como significativo um  $p < 0,05$  e IC de 95%. Os softwares utilizados para análise estatística dos dados foram o Epi Info<sup>®</sup> e SPSS.

O estudo seguiu os princípios éticos de pesquisa envolvendo humanos e foi aprovado pelo Comitê de Ética e Pesquisa com a numeração: (C.A.A.E: 0012.0.042.000-11). A execução do projeto não gerou nenhum risco para os participantes, pois consistia de uma análise de dados em prontuários, não interferindo na conduta e no manejo clínico, já que o episódio da doença já havia se resolvido no momento da coleta de dados.

## RESULTADOS

Durante a pandemia de influenza no Ceará, foram notificados 616 casos suspeitos e 143 (23,2%) foram confirmados. Destes, 28% (40/143) foram hospitalizados e 8,4% (20/143) necessitaram de cuidados em unidades de terapia intensiva (UTI). Cinquenta e dois por cento (21/40) das hospitalizações ocorreram em 2010. Nesse ano, os pacientes graves tiveram duas vezes mais chances de serem internados na UTI, risco relativo de 1,5 para evolução para óbito em relação ao ano de 2009.

A média de idade foi de 26,6 (10 meses - 62 anos). A faixa etária de 20 a 59 anos foi a mais acometida com 70,0% (28/40) dos casos. O maior coeficiente de mortalidade foi entre menores de 2 anos e as maiores letalidades em menores de 9 anos e 60 anos e mais. O sexo feminino foi o mais acometido com 80% (32/40) dos casos, com maior coeficiente de mortalidade, porém a letalidade foi 2,4 vezes maior entre os homens (Tabela 1).

No grupo que evoluiu para óbito, a prevalência do sexo masculino foi 0,4 vezes maior, com a prevalência de brancos três vezes maior que a raça amarela ( $P=0,018$ ), embora a maior frequência entre esses pacientes tenha sido a raça parda. Sessenta e dois por cento (25/40) dos acometidos tinham como escolaridade o ensino fundamental completo, tendo estes duas vezes mais chances de evoluir para óbito que os acometidos com maior escolaridade ( $P=0,038$ ).

A letalidade hospitalar foi de 20% (8/40). Fatores relacionados ao atendimento e ao tratamento médico que foram significativos para a evolução para óbito estão representados na tabela 2.

**Tabela 1.** Descrição dos pacientes hospitalizados por influenza A (H1N1) 2009 no Ceará, 2009-2010.

Faixa Etária	Total	%	Segundo sexo			População do Estado*	Incidência p/100 mil hab**	Coeficiente Mortalidade p/100 mil hab***	Letalidade (%)	P
			Feminino	Masculino	Óbitos					
≤ 2 anos	1	2,5	-	1	1	463.481	0,22	0,22	100	
3 a 9 anos	1	2,5	-	1	1	1.147.884	0,08	0,08	100	
10 a 19 anos	9	22,5	8	1	-	1.667.738	0,54	-	-	0,542
20 a 59 anos	28	70,0	24	4	5	4.462.330	0,62	0,11	17,8	
60 anos e +	1	2,5	-	1	1	806.362	0,12	0,12	100	
Total	40	100	32	8	8	8,54.750	0,47	0,09	20,0	

**Tabela 2.** Intervalos, em dias, entre procedimentos de busca de saúde e tratamento dos pacientes hospitalizados por influenza A (H1N1) 2009 no Ceará, 2009-2010

Intervalo de tempo	Evolução		
	Cura	Óbito	P valor
Início dos sintomas e primeiro atendimento	3,5	7,12	0,004
Início dos sintomas e admissão hospitalar	4,2	9	0,002
Primeiro atendimento após a admissão hospitalar	0,9	2	0,186
Início dos sintomas e diagnóstico laboratorial	11	14	0,097
Início do uso do oseltamivir e diagnóstico laboratorial	7	8	0,907
Admissão hospitalar e diagnóstico laboratorial	10	12	0,445
Início dos sintomas e alta hospitalar	9	23	0,009
Primeiro atendimento e alta hospitalar	5	16	0,040
Início dos sintomas e início do uso do oseltamivir	4	11	0,000
Primeiro atendimento e início do uso do oseltamivir	0,8	4	0,004
Admissão hospitalar e início do uso do oseltamivir	-0,1	2	0,020
Tempo de hospitalização	4,8	14	0,011
Tempo de internação da UTI	0,4	11,6	0,000

Os sintomas mais relatados foram desconforto respiratório (95% - 38/40), mialgia (65% - 26/40) e cefaleia (60% - 24/40). Setenta e dois por cento (29/40) dos pacientes graves tinham algum fator associado ou comorbidade (Tabela 3). Entre os fatores de risco associados, obesidade foi significativa para a gravidade da infecção (P=0,000) com risco de evoluir para óbito 5,6 vezes maior (Tabela 3).

Em relação à necessidade de cuidados intensivos, todos os aspectos estudados foram significativos. Trinta por cento (12/40) necessitaram de internamento para cuidados críticos na UTI. A necessidade de ventilação mecânica (invasiva ou não) foi estatisticamente significante (P=0,000). A proporção de acometidos com necessidade de uso de relaxante muscular foi 16,5 vezes maior e a necessidade de uso de droga vasopressora foi 14,7 vezes maior entre os que evoluíram para óbito. A

proporção dos acometidos com necessidade de traqueostomia e de hemodiálise foi 17 e 7,4 vezes maior, respectivamente, entre os que evoluíram para óbito (P=0,000) (Tabela 3).

A pontuação média da APACHE II entre os pacientes que evoluíram para cura foi de 6,90, enquanto que no grupo que evoluiu para óbito foi de 24,62 (P=0,000). O Glasgow, na admissão, de 60% (32/40) dos hospitalizados foi considerado normal, 10% (4/40) com injúria cerebral moderada e 10% (4/40) injúria cerebral severa. As médias da frequência cardíaca (P=0,038), frequência respiratória (P=0,021) e saturação de O<sub>2</sub> em ambiente (P=0,001) tiveram diferenças significativas se comparados o grupo que evoluiu para cura e grupo que evoluiu para óbito, bem como, a contagem de hemoglobina foi (P=0,000), leucócitos (P=0,005), TGO (P=0,000) e TGP (0,001) (Tabela 4) e (Tabela 5).

**Tabela 3.** Perfil clínico e cuidados intensivos em hospitalizados por influenza A (H1N1) 2009 no Ceará, 2009-2010.

Variáveis	Evolução		P valor	Risco Relativo	Intervalo de Confiança
	Cura	Óbito			
<b>Sinais e Sintomas</b>					
Calafrio	9	2	1,00	0,87	0,20-3,71
Dor na garganta	18	5	1,00	1,23	0,34-4,46
Artralgia	8	5	0,08	3,46	0,97-12,31
Mialgia	22	4	0,41	0,53	0,15-1,83
Conjuntivite	1	0	1,00	0	-
Coriza	11	4	0,44	1,66	0,48-5,69
Diarreia	7	0	0,30	0	-
Cefaleia	19	5	1,00	1,11	0,30-4,01
Desconforto Respiratório	30	8	1,00	0	-
<b>Fatores Associados/Comorbidades</b>					
Pneumopatia	3	1	1,00	1,28	0,20-7,95
Imunodepressão	2	0	1,00	0	-
Tabagismo	5	2	0,61	1,57	0,39-6,22
Doença Metabólica	3	1	1,00	1,28	0,20-7,95
Etilismo	3	1	1,00	1,28	0,20-7,95
Drogadição	0	1	0,20	5,57	2,84-10,89
Puerpério	1	0	1,00	0	-
Obesidade	2	4	0,00	5,66	1,92-16,69
<b>Cuidados Intensivos</b>					
Internação na UTI					
Sim	4	8	0,000	-	-
Não	28	0			
Tipo de ventilação					
Sim					
Invasiva	0	8	0,000	-	-
Não invasiva	21	0			
Não	11	0			
Droga vasopressora					
Sim	1	7	0,000	14,7	2,96-12,82
Não	31	1			
Relaxante Muscular					
Sim	3	8	0,000	16,5	4,30-63,21
Não	29	0			
Traqueostomia					
Sim	2	6	0,000	17	4,43-65-21
Não	30	2			
Hemodiálise					
Sim	0	3	0,006	7,4	3,27-16,72
Não	32	5			
Uso do Oseltamivir					
Sim	31	7	0,364	0,36	0,07-1,71
Não	1	1			

\*D.P. – Desvio Padrão / I.C. – Intervalo de confiança / bpm – batimentos por minuto / mrpm – movimentos respiratórios por minuto

**Tabela 4.** Avaliação clínica dos hospitalizados por influenza A (H1N1) 2009 no Ceará, 2009-2010.

Parâmetro	Evolução da cura		Evolução do óbito		P valor
	Média	DP*	Média	DP	
Exame clínico e físico					
Temperatura corpórea °C	37,6	1,02	38,1	1,23	0,23
Frequência cardíaca (bpm)*	103	14	118	19	0,03
Frequência Resp. (mrpm)*	27,9	9,04	38,2	18	0,02
Pontuação - Glasgow	14,96	0,17	6,87	3,79	0,00
Pontuação - APACHE II	6,90	4,48	24,62	2,61	0,00
Saturação de O <sub>2</sub> (Sa O <sub>2</sub> )	92,04	12,04	72,5	9,8	0,00

\* D.P. – Desvio Padrão

**Tabela 5.** Avaliação laboratorial dos hospitalizados por influenza A (H1N1) 2009 no Ceará, 2009-2010.

Parâmetro	Evolução para cura		Evolução para óbito		P valor
	Média	D.P.*	Média	D.P.*	
Análise Laboratorial					
Hemoglobina	11,46	2,15	8,93	0,77	0,00
Leucócitos	7.812	2,828	14.701	5.688	0,00
Plaquetas	2013.000	67.000	182.000	101.000	0,25
Neutrófilos	5.093	2.331	7.401	3.529	0,17
Linfócitos	2.339	1.361	2.877	1.213	0,45
Creatinina Sérica	0,74	0,26	0,65	0,14	0,21
TGO	33,89	50,66	117	96,37	0,00
TGP	27,63	29,93	106,75	69,65	0,00
Bilirrubina Direta	0,1466	0,056	0,385	0,056	0,90
Bilirrubina indireta	0,3533	0,1844	0,2357	0,7360	0,30
Uréia	25,2	18,44	29,5	12,75	0,24
pH arterial	7,39	0,10	7,49	0,10	0,08
Sódio Sérico	137,53	4,15	138,35	5,54	0,97
Potássio Sérico	3,81	0,47	3,61	101,01	0,13

\* D.P. – Desvio Padrão

## DISCUSSÃO

Os dados revisados dos pacientes hospitalizados por complicações da infecção pela Influenza A (H1N1) 2009, trazem dados semelhantes ao encontrado na literatura<sup>13-16</sup>. A dinâmica da influenza é caracterizada não apenas pela da cepa viral que circula, mas também, por aspectos relacionados aos indivíduos acometidos, imunidade da população, acesso ao serviço e tratamento de saúde, hábitos de vida, cultura e mitos, condições do ambiente, fatores climáticos, etc, interferindo na forma de acometimento da doença nas comunidades, nas taxas de transmissão e gravidade da doença. Assim, a poluição ambiental, o adensamento populacional, e sazonalidade com outros agentes infecciosos são exemplos de fatores não considerados neste estudo e que possam de alguma forma ter influenciado na epidemiologia da influenza no nosso Estado, se comparado com outras comunidades<sup>17</sup>.

Os pacientes brancos apresentaram percentual significativamente maior de internamento. Os pacientes analfabetos, comparados aos que apresentavam algum nível de escolaridade, apresentaram uma proporção de internamento significativamente maior. O fato de ser branco e ter baixa escolaridade foram considerados fatores de risco para a evolução para óbito, diferindo do que Lenzi (2010) observou, pois em seu estudo pacientes negros e indígenas apresentaram maiores percentuais de internamentos. A relação entre o nível de escolaridade e a gravidade da doença pode ser associada à classe social do indivíduo, sugerindo que os hábitos, as condições de vida e o conhecimento sobre a doença influenciam no prognóstico da doença.<sup>18</sup> Quanto maior o nível de conhecimento, melhor a adesão a medidas de prevenção da doença<sup>19</sup>. Entretanto, o presente estudo trabalhou com dados secundários, o que limita a compreensão de raça e toda

a dinâmica da cofatorialidade da gravidade da infecção por influenza.

A necessidade de hospitalização em UTI no Ceará (30%) foi menor que a encontrada entre paciente internados em hospitais no México (65%)<sup>20</sup>. Na Austrália (26,8%) e na Índia (22,6%), esses percentuais foram menores que os encontrados no Ceará<sup>13,14</sup>. A letalidade entre os pacientes internados na UTI (66%) foi maior que a letalidade encontrada na Índia (41,5%), próxima à encontrada no México (58,3%) e na Argentina (46%)<sup>13,21,22</sup>. No entanto, os relatórios mais recentes dos EUA, Canadá e Austrália têm mostrado taxas de letalidade mais baixas, entre 11% e 17,3%<sup>16,23,24</sup>, o que revela a importância de uma avaliação pós-pandêmica para dados mais fidedignos.

Embora não seja determinado em nosso estudo, observou-se que a sobrevivência tendeu a melhorar com o passar do tempo e com a maior compreensão da doença, principalmente em grupos específicos, como o das gestantes<sup>11</sup>. A internação em hospital especializado em tratamento de doenças infecciosas foi determinante para não haver letalidade. Em estudo similar, no Paraná, municípios com as menores taxas de hospitalização, apresentaram maiores taxas de letalidade entre os municípios que registraram óbitos<sup>13</sup>. A redução da letalidade ao longo do tempo, tanto em Países desenvolvidos como em Países em desenvolvimento, reflete um melhor entendimento do processo da doença, identificação sintomática e tratamento precoce<sup>24</sup>. A pontuação APACHE-II indicou um risco de morte de 50 a 63% em 10% dos hospitalizados, sendo, a proporção das médias dos escores obtidos, em análise bivariada, altamente significativa. A escala demonstrou ser um bom indicador de mortalidade. Em estudos recentes, esta pontuação também foi considerada uma boa indicação do risco de mortalidade<sup>25,26</sup>. No presente estudo, houve limitação na obtenção dos itens que compõem a APACHE II, pois nem todos os exames foram realizados no mesmo dia. A escala deve ser aplicada na admissão; contudo, foi considerada a primeira medição de cada item, o que reduzir as chances de informações distorcidas.

Embora os pacientes admitidos em unidades hospitalares fossem jovens (mediana 26 anos), foi comum a existência de comorbidades<sup>27</sup>. No presente estudo, 15% dos pacientes internados eram obesos, proporção esta que é 1,5 a 2 vezes maior que a encontrada na população brasileira<sup>28</sup>. A obesidade foi descrita como um dos fatores de risco mais importantes para as formas graves da doença<sup>29,30</sup>. A proporção de pacientes obesos admitidos na UTI com quadros complicados da infecção por influenza A (H1N1) 2009 foi maior que a proporção da população geral<sup>26,31,32</sup>. A razão para a maior morbidade dos pacientes obesos ainda não está clara, mas talvez envolva alterações da mecânica respiratória, a coexistência de doenças cardiovasculares e metabólicas ou problemas no tratamento desses pacientes<sup>33</sup>. Um estudo que analisou mortes por influenza A (H1N1) 2009 nos EUA, encontrou aumento do risco de morte de pacientes com obesidade mórbida<sup>34</sup>. No presente estudo, não foi possível classificar o grau da obesidade dos pacientes hospitalizados, porém, este foi o único fator de risco ou comorbidade com significância estatística quando

comparados a grupos que evoluíram para cura e óbito.

A gestação apresentou-se como um fator de risco isolado para a admissão, porém não há evidência suficiente para a associação entre gravidez, influenza e pior prognóstico<sup>15,30</sup>. Em vários estudos norte americanos, a letalidade entre as mulheres grávidas com infecção por influenza A H1N1 (2009) foi de 11-25%<sup>33,35,36</sup>. Os dados encontrados referentes aos obesos e gestantes devem ser analisados com cuidado, pois tais populações podem ser mais suscetíveis à IRA por qualquer outro agente infeccioso que cause infecção respiratória<sup>37</sup>.

A principal causa que levou à admissão dos pacientes foi a insuficiência respiratória aguda, caracterizada por intenso desconforto respiratório e baixas saturações sanguíneas de O<sub>2</sub> em respiração ambiente. Em nosso estudo, a proporção de pacientes que necessitou de ventilação mecânica foi baixa (20%), em oposição a estudos realizados no Chile, Espanha, Austrália, Estados Unidos, Canadá e México, países em que essa proporção variou entre 40 a 68%<sup>16,20,22,26,32,38,39</sup> e corrobora com um estudo realizado em São Paulo, no qual essa proporção foi de 22,5% dos hospitalizados<sup>29</sup>. Todos os pacientes que utilizaram ventilação mecânica invasiva evoluíram para óbito, o que pode ser justificada pelo quadro de agravamento dos pacientes que necessitam desse tipo de intervenção. A IRA causada pelo vírus influenza A (H1N1) 2009 foi um marco para profissionais de medicina intensiva, principalmente relacionada à assistência ventilatória. É uma patologia com novas características clínicas, com desconforto respiratório de instalação rápida, com infiltração de ambos os campos pulmonares, cursando com hipoxemia severa e mortalidade elevada. Diversos estudos descritivos mostram a variabilidade de apresentações clínicas, alterações laboratoriais e curso clínico imprevisível<sup>37</sup>. Estudos anatomopatológicos em que foram utilizados testes histoquímicos e RT-PCR possibilitaram a identificação de vários casos de morte por influenza em crianças e adultos, demonstrando que o impacto da doença é muito maior do que o registrado em dados oficiais<sup>40</sup>.

Na população estudada, a realização de hemodiálise foi necessária para 20% dos hospitalizados; entre esses pacientes os riscos de evolução para óbito foram 7,4 vezes maior que entre os pacientes que não necessitaram de hemodiálise, comprovando a gravidade da clínica do paciente em falência renal. O uso de drogas vasoativas, também relacionado ao choque hemodinâmico, foi considerado risco para óbito, sendo 14 vezes maior entre os hospitalizados. Muitos pacientes evoluíram para choque hemodinâmico, com necessidade de drogas vasoativas e insuficiência renal aguda, por vezes com a necessidade de terapia dialítica de substituição<sup>37</sup>.

Não foi possível estabelecer associação benéfica entre o uso do oseltamivir e melhor percentual de cura entre os pacientes com a forma grave da doença<sup>30</sup>. Observou-se que o tempo médio para iniciar a terapia após o início dos sintomas foi maior nos pacientes que necessitaram internação na UTI e que evoluíram para óbito, ou seja, o atraso da terapia antiviral pode impactar na gravidade da doença e na mortalidade dos pacientes com

influenza A (H1N1) 2009, concordando com os resultados de outros estudos realizados na população brasileira, em Nova York e na Sérvia<sup>15,41,42</sup>. Grande parte dos pacientes tiveram um atraso no início do tratamento<sup>39,41,45</sup>, o que pode ter elevado a mortalidade entre os acometidos por influenza A (H1N1) 2009<sup>44-49</sup>.

O tempo entre o início dos sintomas e o primeiro atendimento, sendo este ambulatorial ou hospitalar, foi impactante para evolução agravada da doença e óbito. O tempo médio, em dias, pela busca de atendimento médico, entre os que evoluíram para óbito foi de sete dias, variando entre três e quinze dias. Consequentemente, o tempo entre o início dos sintomas e a admissão hospitalar também foi retardado, sendo considerado como fator agravante para que complicações se desenvolvessem no curso da infecção. Em nenhum estudo na literatura este critério foi citado; portanto, não há parâmetros para comparações. Esses fatores foram relevantes e demonstram que a demora na busca por atendimento médico pode ser reflexo de dificuldades no acesso ao serviço de saúde.

## CONCLUSÕES

A demora na procura por assistência médica foi o principal fator impactante para a ocorrência de casos graves e óbitos. O uso do antiviral não foi significativo; porém, se analisarmos que a busca por atendimento médico se deu de forma tardia, o início da terapia antiviral também se deu de forma retardada e este aspecto foi considerado fator para agravamento da doença. A obesidade foi o fator de risco mais significativo para o agravamento da doença. O fator que não estava relacionado à clínica do paciente e que foi significativo para a evolução para óbito foi a baixa escolaridade. A hospitalização em unidades de saúde com serviço especializado em infectologia representou um fator de proteção para os acometidos pela forma grave da doença, sugerindo a importância de referenciar o paciente para esses serviços. Esse estudo não esgota a temática abordada e novas análises sobre o período pós-pandêmico devem ser realizadas para o monitoramento da mudança no perfil de acometimento do vírus emergente.

## REFERÊNCIAS

- World Health Organization. Influenza (Sazonal) [Internet]. Genebra: WHO; c2015. [acesso em: 05/05/2011]. Disponível em: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs211/en/>.
- Centers For Disease Control And Prevention. People at high risk of developing flu-related complications [Internet]. Atlanta: CDC; 2015. [acesso em: 2015 02 02]. Disponível em: [http://www.cdc.gov/flu/about/disease/high\\_risk.htm](http://www.cdc.gov/flu/about/disease/high_risk.htm).
- Dawood FS, Luliano AD, Reed C, Meltzer MI, Shay DK, Cheng PY, et al. Estimated global mortality associated with the first 12 months of 2009 pandemic influenza A H1N1 virus circulation: a modelling study. *Lancet Infect Dis* 2012 Sept;12(9):687-95. doi: [http://dx.doi.org/10.1016/S1473-3099\(12\)70121-4](http://dx.doi.org/10.1016/S1473-3099(12)70121-4).
- Bricks LF, Domingues CMAS, Carvalhanas TRMP, Pereira SF, Moraes JC. Influenza em crianças: o que há de novo? *J. Health Biol Sci*. 2014; 2(3):125-134. doi:10.12622/2317-3076jhbs.v2i3.73p.125.2014.
- Louie JK, Acosta M, Samuel MC, Schechter R, Vugia Dj, Harriman K, et al. A novel risk factor for a novel virus: obesity and 2009 pandemic influenza A (H1N1). *Clin Infect Dis*. 2011 Feb 1;52(3):301-12. doi: 10.1093/cid/ciq152. PubMed PMID 21208911.
- Vaqué RJ, Gil CJ, Brotons AM. [Main features of the new influenza virus a pandemic (H1N1)]. *Med Clin (Barc)*. 2009 Oct 1;133(13):513-21. doi: 10.1016/j.medcli.2009.09.002. PubMed PMID 19781723. Espanhol.
- Restrepo MI, Mazo M, Anzueto A. Influenza A (H1N1). Experience in the United States. *Arch Bronconeumol*. 2010 Mar;46 (Suppl 2):13-8. doi: 10.1016/S0300-2896(10)70015-6. PubMed PMID 20353854.
- Montané E, Lecumberri J, Pedro-BOTET ML. [Influenza A, pregnancy and neuraminidase inhibitors]. *Med Clin (Barc)*. 2011 May 28;136(15):688-93. doi: 10.1016/j.medcli.2010.02.006. PubMed PMID 20416906. Espanhol.
- Meerhoff TJ, Simaku A, Ulqinaku D, Torosyan L, Gribkova N, Shimanovich V, et al. Surveillance for severe acute respiratory infections (SARI) in hospitals in the WHO European region - an exploratory analysis of risk factors for a severe outcome in influenza-positive SARI cases. *BMC Infect Dis* 2015 Jan 8;15(1): 1. doi: 10.1186/s12879-014-0722-x. PubMed PMID 25567701.
- Brasil, Ministério da Saúde. Sistema de Informação de Agravos de notificação [Internet]. Brasília: Ministério da Saúde; 2004 [acesso 2011 July 1]. Disponível em: [http://dtr2004.saude.gov.br/sinanweb/tabnet/dh?sinanet/influenza/bases/influbrnet.def](http://dtr2004.saude.gov.br/sinanweb/tabnet/dh?sinanet/influenza/bases/influbrnet.defhttp://dtr2004.saude.gov.br/sinanweb/tabnet/dh?sinanet/influenza/bases/influbrnet.def)
- Pires Neto, RJ, Lemos DRQ, Pamplona LGC, Ramos Junior AN, Alencar CH, Façanha MC, et al. Pandemic influenza A (H1N1) 2009: epidemiological analysis of cases in a tropical/semi-arid region of Brazil. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop* [Internet]. 2013 Mar-Abr [acesso ano mês dia]; 46(2): 141-6. Disponível em: [http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0037-86822013000200141&lng=en&nrm=iso](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0037-86822013000200141&lng=en&nrm=iso). access on 09 Oct. 2013. <http://dx.doi.org/10.1590/0037-8682-0016-2012>.
- Soares, S C S; Janahu, L T A. O suporte ventilatório no tratamento da Influenza A H1N1 em Unidade de Terapia Intensiva. *Rev Pan-Amaz Saude*. [Internet]. 2011 Mar [acesso 2015 Maio 05]; 2(1): 79-84. Disponível em: [http://scielo.iec.pa.gov.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S2176-62232011000100010&lng=en&nrm=iso](http://scielo.iec.pa.gov.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2176-62232011000100010&lng=en&nrm=iso). access on 21 Apr. 2013. <http://dx.doi.org/10.5123/S2176-62232011000100010>.
- Kartik R, Sriram S, Chacko J, Chacko B, Narahari D L, Veerendra H H, et al. Clinical Profile and Predictors of Mortality of Severe Pandemic (H1N1) 2009 Virus Infection Needing Intensive Care: A Multi-Centre Prospective Study from South India. *J Glob Infect Dis*. 2012 Jul-Sep; 4(3): 145-152.
- Denholm Jt, Gordon Cl, Johnson Pd, Hewagama Ss, Stuart RI, Aboltins C, et al. Hospitalised adult patients with pandemic (H1N1) 2009 influenza in Melbourne, Australia. *MJA* 2010 Jan 18;192(2) :84-6.
- Lenzi L, Wiens A, Grochocki Mhc, Pontarolo R. Study of the relationship between socio-demographic characteristics and new influenza A (H1N1). *Braz J Infect Dis*. 2011Sep-Oct; 15(5):457-461. PubMed PMID 22230852.
- Kumar A, Zarychanski R, Pinto R, Cook Dj, Marshall J, Lacroix J, et al. Critically ill patients with 2009 influenza A(H1N1) infection in Canada. *JAMA*. 2009 Nov 4;302(17):1872-9. doi: 10.1001/jama.2009.1496. PubMed PMID 19822627.
- Sloan C, Moore MI, Hartert T. Impact of pollution, climate, and sociodemographic factors on spatiotemporal dynamics of seasonal respiratory viruses. *Clin Transl Sci*. 2011 Feb; 4(1): 48-54. doi: 10.1111/j.1752-8062.2010.00257.x. PubMed PMID 21348956.
- Lenzi, L. Avaliação da efetividade do Oseltamivir no tratamento da nova influenza A(H1N1). [dissertação]. Curitiba (PR): Universidade Federal do Paraná; 2010.

## 84 Fatores associados à gravidade e óbito por influenza A no Brasil

- 19 Albano L, Matuozzo A, Marinelli P, Di Giuseppe G. Knowledge, attitudes and behaviour of hospital health-care workers regarding influenza A/H1N1: a cross sectional survey. *BMC Infect Dis.* 2014 Apr 16;14:208. doi: 10.1186/1471-2334-14-208. PubMed PMID 24739890.
- 20 Domínguez-Cherit G, Lapinsky SE, Macias AE, Pinto R, Espinosa-Perez L, De La Torre A, et al. Critically ill patients with 2009 influenza A(H1N1) in Mexico. *JAMA* 2009 Nov 4; 302(17):1880-7. doi: 10.1001/jama.2009.1536. PubMed PMID 19822626.
- 21 Perez-Padilla R, de la Rosa-Zamboni D, Ponce de Leon S, Hernandez M, Quiñones-Falconi F, Bautista E, et al. Pneumonia and respiratory failure from swine-origin influenza A (H1N1) in Mexico. *N Engl J Med.* 2009 Aug 13;361(7):680-9. doi: 10.1056/NEJMoa0904252. PubMed PMID 19564631.
- 22 Estenssoro E, Rios Fg, Apezteguia C, Reina R, Neira J, Ceraso Dh, et al. Pandemic 2009 influenza A (H1N1) in Argentina: A study of 337 patients on mechanical ventilation. *Am J Respir Crit Care Med* 2010 Jul 1;182(1):41-8. doi: 10.1164/201001-0037OC. PubMed PMID 20203241.
- 23 Louie Jk, Acosta M, Winter K, Jean C, Gavali S, Schechter R, et al. Factors associated with death or hospitalization due to pandemic 2009 influenza A(H1N1) infection in California. *JAMA* 2009 Nov 4;302(17):1896-902. doi: 10.1001/jama.2009.1583. PubMed PMID 19887665.
- 24 Anzic Influenza Investigators, Webb As, Pettilä V, Seppelt I, Bellomo R, Bailey M, et al. Critical care services and 2009 H1N1 influenza in Australia and New Zealand. *N Engl J Med.* 2009 Nov 12; 361(20):1925-34. doi: 10.1056/NEJMoa0908481. PubMed PMID 19815860.
- 25 Kaufman MA, Duke GJ, Mcginn F, French C, Aboltins C, Lane G, Gutteridge GA. Life-threatening respiratory failure from H1N1 influenza 09 (human swine influenza). *Med J Aust.* 2009 Aug 3;191(3):154-6. PubMed PMID 19645645.
- 26 Rothberg MB, Haessler SD. Complications of seasonal and pandemic influenza. *Crit Care Med.* 2010 Apr; 38(4 Suppl):e91-7. doi: 10.1097/CCM.0b013e3181c92eeb. PubMed PMID 19935413.
- 27 Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Vigilância em Saúde: Panoramas, conjuntura, cartografias: gestão 2009-2010. Brasília: Ministério da Saúde; 2010. 376p. (Série C. Projetos, Programas e Relatórios).
- 28 Hui DS, Lee N, Chan PK. Clinical management of pandemic 2009 influenza A (H1N1) infection. *Chest* 2010 Apr; 137(4):916-25. doi: 10.1378/chest.09-2344. PubMed PMID 20022969.
- 29 Nassar Júnior AP, Mocelin A O, Nunes A L B, Brauer L. Apresentação clínica e evolução de pacientes com infecção por Influenza A (H1N1) que necessitaram de terapia intensiva durante a pandemia de 2009. *Rev bras ter intensiva.* 2010 Oct-Dec; 22(4):333-338. doi: <http://dx.doi.org/10.1590/S0103-507X2010000400004>.
- 30 Saraceni V, Nicolai CCA, Toschi WDM, Caridade MC, Azevedo MB, Rocha PMM et al. Desfecho dos casos de Influenza Pandêmica (H1N1) 2009 em mulheres em idade fértil durante a pandemia, no Município do Rio de Janeiro. *Epidemiol. Serv. Saúde.* 2010 Dez [acesso 2015 Maio 27]; 19(4): 339-346. Disponível em: [http://scielo.iec.pa.gov.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1679-49742010000400004&lng=pt](http://scielo.iec.pa.gov.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1679-49742010000400004&lng=pt). <http://dx.doi.org/10.5123/S1679-49742010000400004>.
- 31 Miller RR, Markewitz BA, Rolfs RT, Brown SM, Dascomb KK, Grissom CK, et al. Clinical findings and demographic factors associated with ICU admission in Utah due to novel 2009 influenza A(H1N1) infection. *Chest.* 2010 Apr;137(4):752-8. doi: 10.1378/chest.09-2517. PubMed PMID 19933372.
- 32 Duarte PAD, Venazzi A, Youssef NCM, Oliveira MC, Tannous LA, Duarte CB, et al. Pacientes com infecção por vírus A (H1N1) admitidos em unidades de terapia intensiva do Estado do Paraná, Brasil. *Rev Bras Ter Intensiva.* 2009 Jul-Ago [acesso 2013 Abr 21]; 21(3):231-6. Disponível em: [http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0103-507X2009000300001&lng=en&nrm=iso](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0103-507X2009000300001&lng=en&nrm=iso). doi: <http://dx.doi.org/10.1590/S0103-507X2009000300001>.
- 33 Centers For Disease Control And Prevention [Internet]. Atlanta: CDC; 2009 [Acesso 2012 Maio 11]. Interim recommendations for clinical use of influenza diagnostics tests during the 2009-2010 influenza Season. Disponível em: [http://www.cdc.gov/h1n1flu/guidance/diagnostic\\_tests.htm](http://www.cdc.gov/h1n1flu/guidance/diagnostic_tests.htm).
- 34 Morgan OW, Bramley A, Fowlkes A, Freedman DS, Taylor TH, et al. Morbid Obesity as a Risk Factor for Hospitalization and Death Due to 2009 Pandemic Influenza A(H1N1) disease. *PLoS ONE.* 2010 Mar; 5(3): e9694. doi:10.1371/journal.pone.0009694. PubMed PMID 20300571.
- 35 Creanga AS, Johnson TF, Graitcer SB, Hartman LK, Al-Samarrai T, Schwarz AG, et al. Severity of 2009 pandemic influenza A (H1N1) virus infection in pregnant women. *Obstet Gynecol* 2010 Apr;115(4) :717-26. doi: 10.1097/AOG.0b013e3181d57947. PubMed PMID: 20308830.
- 36 ANZIC Influenza Investigators and Australasian Maternity Outcomes Surveillance System. Critical illness due to 2009 A/H1N1 influenza in pregnant and postpartum women: population based cohort study. *BMJ* 2010 Mar;340:c1279. doi: 10.1136/bmj.c1279. PubMed PMID 20299694.
- 37 Carneiro M, Trench F.J.P., Waib L. F., Lopes F. P., Motta F. Influenza H1N1 2009: revisão da primeira pandemia do século XXI. *Revista da AMRIGS [Internet]* 2010 Abr-Jun [acesso 2013 Mar 20];, 54(2): 206-213. Disponível em: [http://www.amrigs.com.br/revista/54-02/18-637\\_influenza.pdf](http://www.amrigs.com.br/revista/54-02/18-637_influenza.pdf).
- 38 Jain S, Kamimoto L, Bramley AM, Schmitz AM, Benoit SR, Louie J, et al. Hospitalized patients with 2009 H1N1 influenza in the United States, April-June 2009. *N Engl J Med.* 2009Nov 12; 361(20):1935-44. doi: 10.1056/NEJMoa0906695. PubMed PMID 19815859.
- 39 Ugarte S, Arancibia F, Soto R. Influenza A pandemics: clinical and organizational aspects: the experience in Chile. *Crit Care Med.* 2010 Apr; 38(4 Suppl):e133-7. doi: 10.1097/CCM.0b013e3181c87716. PubMed PMID 19935412.
- 40 do Carmo Debur M, Raboni SM, Flizikowski FB, Chong DC, Persicote AP, Nogueira MB, et al. Immunohistochemical assessment of respiratory viruses in necropsy samples from lethal non-pandemic seasonal respiratory infections. *J Clin Pathol.* 2010 Oct; 63(10): 930-4. doi: 10.1136/jcp.2010.077867. PubMed PMID 20876328
- 41 Lee EH, Wu C, Lee EU, Stoute A, Hanson H, Cook HA, et al. Fatalities associated with the 2009 H1N1 influenza A virus in New York city. *Clin Infect Dis.* 2010 Jun 1;50(11):1498-504. doi: 10.1086/652446. PubMed PMID 20420514.
- 42 Mikić D, Nozić D, Kojić M, Popović S, Hristović D, Dimitrijević Rr, et al. Clinical manifestations, therapy and outcome of pandemic influenza A (H1N1) 2009 in hospitalized patients. *Vojnosanit Pregl.* 2011 Mar; 68(3):248-56. PubMed PMID 21524006.
- 43 Bautista E, Chotpitayasunondh T, GAO Z, Harper SA, Shaw M, Uyeki TM, et al. Clinical aspects of pandemic 2009 influenza A (H1N1) virus infection. *N Engl J Med,* 2010 May; 362 (18): 1708-19. doi: 10.1056/NEJMra1000449.
- 44 Louie JK, Acosta M, Jamieson DJ, Honein MA. Severe 2009 H1N1 influenza in pregnant and postpartum women in California. *N Engl J Med* 2010 Jan 7; 362(1):27-35. doi: 10.1056/NEJMoa0910444. PubMed PMID 20032319.
- 45 Cutler J, Schleihauf E, Hatchette TF, Billard B, Watson-Creed G, Davidson R, et al. Investigation of the first cases of human-to-human infection with the new swine-origin influenza A (H1N1) virus in Canada. *CMAJ.* 2009 Aug 4; 181(3- 4): 159-63. doi: 10.1503/cmaj.090859. PubMed PMID 19620268.
- 46 Jamieson Dj, Honein Ma, Rasmussen Sa, Williams JI, Swerdlow DI, Biggerstaff Ms, et al. H1N1 2009 influenza virus infection during pregnancy in the USA. *Lancet* 2009; 374:451-458. (b) <http://www.thelancet.com/journals/lancet/article/PIIS0140-6736%2809%2961304-0/abstract>.
- 47 Knaus WA, Droper EA, Wagner DP et al. APACHE II: A severity of disease classification system. *Crit. Care Med.* 1985 Oct 13; (10):818-29. PubMed PMID 3928249.
- 48 Novel Swine-Origin Influenza A (H1N1) Virus Investigation Team, Dawood

FS, Jain S, Finelli L, Shaw MW, Lindstrom S, et al. Novel Swine-Origin Influenza A (H1N1) Virus Investigation. Emergence of a novel swine-origin influenza A (H1N1) virus in humans. *N Engl J Med*. 2009 Jun 18; 360(25):2605-15. doi: 10.1056/NEJMoa0903810. PubMed PMID 19423869.

49 World Health Organization. Pandemic Influenza Preparedness and Response: a WHO guidance document [Internet]. Geneva: WHO; 2011 [acesso 2012 03 05]. Disponível em: <http://www.who.int/csr/disease/influenza/PIPGuidance09.pdf>.

**Como citar este artigo/How to cite this article:**

Lemos DRQ, Pires Neto RJ, Perdigão ACB, Guedes IF, Araujo FMC, Freitas GE, Oliveira FR, Cavalcanti LPG. Fatores de risco associados à gravidade e óbitos por influenza durante a Pandemia de Influenza A (H1N1) 2009 em região tropical/semiárida do Brasil. *J Health Biol Sci*. 2015Abr-Jun; 3(2):77-85.

*J. Health Biol Sci*. 2015; 3(2):77-85