



**Profilaxia e tratamento, convencional e através de plantas do género *Echinacea*, da gripe e constipação**

Marco Alexandre Dâmaso Serrão

Dissertação

Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas

Trabalho efetuado sobre orientação da  
Professora Doutora Maria da Graça Miguel

2016

Profilaxia e tratamento, convencional e através de plantas do género *Echinacea*, da gripe e constipação

**Título** | Profilaxia e tratamento, convencional e através de plantas do género *Echinacea*, da gripe e constipação

**Aluno** | Marco Alexandre Dâmaso Serrão

**Orientador** | Professora Doutora Maria da Graça Miguel

Dissertação de mestrado para a obtenção do grau de mestre em Ciências Farmacêuticas

Faculdade de Ciências e Tecnologias da Universidade do Algarve

Faro, setembro 2016

## **DECLARAÇÃO DE AUTORIA DE TRABALHO**

Declaro ser o autor deste trabalho, que é original e inédito.

Autores e trabalhos consultados estão devidamente citados no texto e constam da listagem de referências incluída.

### Copyright

A Universidade do Algarve tem o direito, perpétuo e sem limites geográficos, de arquivar e publicitar este trabalho através de exemplares impressos reproduzidos em papel ou de forma digital, ou por qualquer outro meio conhecido ou que venha a ser inventado, de o divulgar através de repositórios científicos e de admitir a sua cópia e distribuição com objetivos educacionais ou de investigação, não comerciais, desde que seja dado crédito ao autor e editor.

## **Agradecimentos**

À Prof<sup>ª</sup> Dr<sup>ª</sup> Maria da Graça Costa Miguel, por ter aceite com prontidão ser minha orientadora nesta dissertação e claro, por todo o apoio, conselhos e ajuda prestada na realização da mesma.

À professora Dr<sup>ª</sup> Isabel Ramalinho pelos conselhos e ensinamentos transmitidos a todos nós que, sem dúvida, foram úteis na realização da dissertação e serão úteis no desenrolar do nosso trajeto profissional.

Ao grupo de professores deste Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas, os quais foram responsáveis pela nossa formação académica nesta instituição de ensino, da qual tanto me orgulho.

Sem menos importância, quero agradecer a toda a minha família e especialmente aos meus pais, por todos os esforços realizados e apoio, fundamental para que conseguisse chegar ao fim desta etapa.

À Daiana, por ter sido um apoio e companhia essencial ao longo deste trabalho e claro, a todos os amigos que, ao longo destes 5 anos, se cruzaram na minha vida e lhe deram um toque especial.

Epígrafe:

*“Na vida existem três elementos fundamentais: saúde, sorte e orientação.”*

António Maria dos Santos, meu avô

## Índice

|  |     |
|--|-----|
| Lista de Abreviaturas  | vii |
| Índice de Tabelas  | ix  |
| Índice de Figuras  | x   |
| Resumo/Abstract  | xi  |
| <b>1. Introdução</b>   | 1   |
| <b>2. Constipação</b>  | 5   |
| 2.1. Rinovírus   |     |
| 2.1.1. Classificação   | 5   |
| 2.1.2. Estrutura e Organização Genómica                                      | 6   |
| 2.1.3. Recetores utilizados para entrada nas células                         | 7   |
| 2.1.4. Replicação do Vírus   | 7   |
| 2.1.5. Patogenicidade  | 8   |
| 2.2. Manifestações Clínicas  | 8   |
| 2.3. Complicações  | 9   |
| 2.4. Tratamento  | 9   |
| 2.4.1. Analgésicos, antipiréticos e anti-inflamatórios não esteroides        | 9   |
| 2.4.2. Descongestionantes nasais   | 10  |
| 2.4.3. Anti-histamínicos   | 10  |
| 2.4.4. Antitússicos e expetorantes   | 10  |
| <b>3. Gripe</b>  |     |
| 3.1. Vírus Influenza   |     |
| 3.1.1. Classificação   | 11  |
| 3.1.2. Estrutura e Organização Genómica                                      | 11  |
| 3.1.3. Replicação do Vírus   | 13  |
| 3.1.4. Variabilidade Viral   | 14  |
| 3.1.5. Patogenicidade  | 14  |
| 3.2. Manifestações Clínicas  | 15  |
| 3.3. Complicações  | 16  |
| 3.4. Tratamento  | 17  |
| 3.4.1. Inibidores da replicação viral  | 17  |
| 3.4.2. Inibidores das neuraminidases   | 18  |
| 3.5. Profilaxia  | 18  |
| <b>4. Suplementos Alimentares</b>  | 19  |
| 4.1. Definição e enquadramento legal dos suplementos alimentares em Portugal | 19  |
| 4.2. Introdução no mercado   | 20  |
| 4.3. Rotulagem   | 20  |
| 4.4. Autoridade competente e fiscalização                                    | 20  |
| 4.5. Suplementos alimentares na constipação e gripe                          | 21  |
| <b>5. <i>Echinacea</i></b>   | 22  |
| 5.1. Composição química  | 23  |

|   |    |
|---|----|
| 5.2. Compostos com atividade biológica                                | 23 |
| 5.2.1. Atividade imunomoduladora e anti-inflamatória das alquilamidas | 23 |
| 5.2.2. Atividade imunomoduladora dos polissacáridos                   | 25 |
| 5.2.3. Atividade imunomoduladora dos derivados do ácido cafeico       | 26 |
| 5.3. Atividade antiviral  | 27 |
| 5.4. Inibição da produção de muco                                     | 28 |
| 5.5. Atividade antibacteriana   | 29 |
| 5.6. Ensaio clínico   | 30 |
| 5.6.1. Ensaio clínico preventivo                                      | 31 |
| 5.6.2. Ensaio clínico de tratamento                                   | 35 |
| 6. Conclusão  | 38 |
| 7. Bibliografia   | 40 |

## **Lista de Abreviaturas**

- AINEs – Anti-inflamatórios não esteroides
- ASAE - Autoridade de Segurança Alimentar e Económica
- CD86 - Cluster of differentiation 86
- CD54 - Cluster of differentiation 54
- CDHR3 - Cadherin-related family member 3
- DAH – Divisão de Alimentação Humana
- DGAV – Direção-Geral de Alimentação e Veterinária
- DGS – Direção-Geral de Saúde
- HA – Hemaglutinina
- ICAM-1 - Intercellular adhesion molecule 1
- IG-A – Imunoglobulina A
- IL -1 – Interleucina 1
- IL -8 – Interleucina 8
- IL -1 $\beta$  – Interleucina 1 $\beta$
- IMC – Índice de massa corporal
- LDLR - Low-density lipoprotein receptor
- M1 – Matrix protein 1
- M2 – Matrix protein 2
- mRNA – Messenger RNA
- MHC – II – Major histocompatibility complex class II
- MUC5A – Mucin-5AC
- NA – Neuroaminidase
- NP – Nucleoproteína
- NS1 – Non-structural protein 1
- NEP – Nuclear export protein
- OMS – Organização Mundial de Saúde
- ORF – Open reading frame
- PA – Polymerase acidic protein
- PB1 - Polymerase basic protein 1

PB2 - Polymerase basic protein 2

PGE<sub>2</sub> – Prostaglandina E2

PNVG – Programa Nacional de Vigilância da Gripe

RNA – Ribonucleic acid

TNF- $\alpha$  – Tumor necrose factor  $\alpha$

UTR – Untranslated region

VP – Viral protein

## Índice de Tabelas

|   |    |
|---|----|
| <b>Tabela 3.2.1.</b> Principais diferenças sintomáticas entre constipação e gripe                                 | 15 |
| <b>Tabela 3.3.1.</b> Grupos com maior risco de complicações após infeção pelo vírus Influenza                     | 16 |
| <b>Tabela 5.6.1.1</b> Ensaio clínico preventivo realizado com extratos de espécies do género <i>Echinacea</i>     | 34 |
| <b>Tabela 5.6.2.1.</b> Ensaio clínico de tratamento realizado com extratos de espécies do género <i>Echinacea</i> | 37 |

## Índice de Figuras

|  |    |
|--|----|
| <b>Figura 2.1.1.1.</b> Cápside do Rinovírus Humano – 14  | 5  |
| <b>Figura 2.1.2.1</b> Organização esquemática do genoma do Rinovírus Humano                                | 6  |
| <b>Figura 3.1.2.1.</b> Representação esquemática da estrutura genómica do vírus Influenza A                | 12 |
| <b>Figura 3.1.2.1.</b> Representação esquemática da estrutura do vírus Influenza A                         | 13 |
| <b>Figura 5.2.1.1.</b> Estrutura química de alquilamidas identificadas em <i>E. purpurea</i>               | 24 |
| <b>Figura 5.2.3.1.</b> Estrutura química de derivados do ácido cafeico identificados em <i>E. purpurea</i> | 27 |

## Resumo

As infeções virais agudas do trato respiratório superior, nomeadamente a constipação e a gripe, continuam a ser das causas de doença mais comuns na população, tendo deste modo um grande impacto na saúde pública (Eccles, 2005). Estas doenças têm um impacto relativamente elevado quer em termos económicos quer em termos sociais devido às quantias despendidas em medicação, na qualidade de vida do doente e família e no absentismo laboral e escolar (Azevedo et al, 2016; Bramley et al, 2002).

Existe uma grande variedade de agentes infecciosos que podem provocar infeções agudas do trato respiratório superior, no entanto considera-se o Rinovírus como o principal agente viral responsável pela constipação e o vírus Influenza o agente responsável pela gripe (Clark & Lynch, 2011; Rubin et al, 2015).

Estas infeções são, em indivíduos não pertencentes a grupos de risco, geralmente autolimitadas. O quadro de sintomas provocado apresenta algumas semelhanças, apesar de com diferentes níveis de gravidade. De indivíduo para indivíduo ocorre variabilidade nos sintomas, não se desenvolvendo geralmente o quadro completo (Rubin et al, 2015).

O tratamento farmacológico prende-se essencialmente no alívio dos sintomas (Allan & Arroll, 2014), no entanto, especificamente para a gripe, está disponível uma vacina como medida profilática e fármacos antivirais que são administrados mediante decisão clínica particular (Orientação nº 007/2015).

Com o crescimento da oferta de suplementos alimentares para o tratamento e prevenção de diversas patologias, a procura da população por alternativas tem aumentado bastante, sendo a farmácia comunitária o local de eleição para solicitar informações e adquirir os produtos (Raposo & Caetano, 2011).

Perante a realidade apresentada, a presente dissertação tem o intuito de, além de rever as possibilidades de quimioprofilaxia e tratamento farmacológico da gripe e constipação, analisar os estudos que avaliam a validade *in vitro*, *in vivo* e clínica da utilização da *Echinacea* na prevenção e tratamento da gripe e constipação e assim inferir se o farmacêutico comunitário, no desempenho da sua atividade profissional, dispõe ou não de evidência científica suficiente que justifique o aconselhamento de tais suplementos alimentares.

Palavras chave: Constipação, *Echinacea*, Gripe, Influenza, Rinovírus

## Abstract

The acute upper respiratory tract viral infections, like common cold and flu, remains to be one of the most common causes of disease in the population, leading to a major impact in public health (Eccles, 2005). These diseases have a significant impact in both economic and social aspects because of the amounts expended in medication, in the patient's and family quality of life and in the lost work and school days (Azevedo et al, 2016; Bramley et al, 2002).

There are a huge variety of infections agents that could lead to upper respiratory tract viral infections, however Rhinovirus is classified as the principal agent responsible for the common cold and the Influenza virus for the flu (Clark e Lynch, 2011) (Rubin et al, 2015).

These infections are usually self-limited in people who don't belong to risk groups. The set of symptoms shows some similarities, however with different severity levels. Symptoms variability occurs from individual to individual and they usually don't develop the full picture (Rubin et al, 2015).

The pharmacological approach is based on a symptom relief treatment (Allan e Arroll, 2014), however there is a vaccine used as prophylactic measure against the flu, and anti-viral medication for the treatment that could be used after an individual medical decision (Orientação nº 007/2015).

With the growth of supply of dietary supplements for the treatment and prevention of several diseases, the demand of the population for alternatives has greatly increased and the community pharmacy is the place of choice for information requests and to get the products (Raposos & Caetano, 2011).

Faced with the presented reality, this dissertation aims to, in addition to reviewing the possibilities for chemoprophylaxis and pharmacological treatment of cold and flu, analyze studies that assess the *in vitro*, *in vivo* and clinical validity of the *Echinacea* uses in cold and flu prevention and treatment and so understand whether community

Profilaxia e tratamento, convencional e através de plantas do género *Echinacea*, da gripe e constipação

pharmacist, in the performance of their professional activity, has or not enough scientific evidence to justify the advice of such dietary supplements.

Key-words: Common cold, Echinacea, Flu, Influenza, Rhinovirus

## 1. Introdução

Num enquadramento histórico, é relevante mencionar que o vírus responsável pela Gripe, o vírus Influenza, foi a causa de diversas pandemias que assolaram a humanidade. Só no século XX ocorrem três, a pandemia de 1918 pelo subtipo viral A(H1N1), também conhecida por Gripe Espanhola, a pandemia Asiática de 1957 pelo A(H2N2) e a pandemia de Hong Kong, em 1968, pelo subtipo viral A(H3N2) (Cox & Subbarao, 2000). Importa destacar a pandemia de 1918, Gripe Espanhola, que foi considerada, a par da Praga de Justiniano e da Peste Negra como uma das três mais destrutivas epidemias que afetaram a humanidade (Starr, 1976; Potter, 2001), tendo causado mais de 20 milhões de mortes (Crosby, 2003).

No entanto, e graças à evolução da epidemiologia, microbiologia, imunologia (desenvolvimento das vacinas) e ao desenvolvimento de fármacos antivirais e antimicrobianos foi possível o controlo e, em alguns casos a erradicação de doenças infecciosas que, em termos históricos foram consideradas uma das mais relevantes causas de morbidade e mortalidade no Mundo (Halloran & Longini, 2014; Medina & García-Sastre, 2011).

Deste modo, segundo a Organização Mundial de Saúde (OMS), doenças infecciosas são definidas como as doenças causadas por microrganismos patogénicos, como bactérias, vírus, parasitas ou fungos e que se transmitem, de forma direta ou indireta, de uma pessoa para outra (WHO, 2016). Posto isto, a gripe e a constipação encontram-se agrupadas nesta classificação, sendo consideradas doenças infecciosas virais (WHO, 2016; Rubin et al, 2015).

Os sintomas destas infeções virais variam de indivíduo para indivíduo e, em adultos não pertencentes a grupos de risco, estas infeções são geralmente autolimitadas e com duração média de uma semana (Rubin et al, 2015). Os grupos de risco incluem, entre outros, as crianças com idade inferior a 5 anos e, especialmente, com idade inferior a 2 anos de idade, idosos com 65 anos ou mais anos de idade, grávidas, imunodeprimidos, indivíduos de idade igual ou inferior a 18 anos sob terapêutica de longa duração com salicilatos, indivíduos portadores de doenças crónicas (principalmente se grave e/ou descompensada), indivíduos com obesidade mórbida e profissionais de saúde que estejam

em contacto direto com os grupos referenciados acima (Orientação nº 009/2015). Para estes grupos é necessário um maior cuidado e a adoção de medidas profiláticas adicionais uma vez que a probabilidade de ocorrerem complicações, principalmente face à gripe, é elevada podendo levar a hospitalizações e, em alguns casos, à morte (Fiore et al, 2008). De acordo com a OMS, o vírus Influenza é responsável por 250 000 a 500 000 mortes por ano, em todo o Mundo (WHO, 2014).

Em termos de dados epidemiológicos europeus relativos à gripe sazonal causada pelo vírus influenza, na época 2014-2015 (a época teve início na semana 50 de 2014 e findou na semana 20 de 2015), foram reportados pela Rede de Médicos-Sentinela 12798 casos positivos, sendo que 8950 correspondiam ao vírus Influenza do tipo A e 3848 casos ao do tipo B (ECDC, 2015).

Em Portugal, segundo os dados provenientes do Programa Nacional de Vigilância da Gripe (PNVG), para a época de 2014/2015 obteve-se um valor máximo de 175,3 casos de síndrome gripal por 100 000 habitantes, considerando-se a atividade gripal de intensidade elevada (Guiomar et al, 2015).

Relativamente à constipação, pode ser causada por uma grande variedade de agentes virais, no entanto, estima-se que aproximadamente 30-40% dos casos são causados por Rinovírus (Rubin et al, 2015). A incidência desta infeção viral é, em média, de dois a quatro episódios por ano, em adultos, e de quatro a seis episódios anuais, em crianças previamente saudáveis (Gwaltney, 2002).

O número elevado de pessoas infetadas tanto pelo vírus Influenza como pelos vírus responsáveis pela constipação deve-se à grande facilidade que existe na sua transmissão, podendo esta ser na forma de partículas de aerossol expelidas ao tossir, falar ou espirrar, pelo contato direto entre pessoas ou pelo contacto com objetos contaminados (WHO, 2014; Thomas et al, 2014; L'Huillier et al, 2015).

Do exposto e com base nas formas de transmissão dos vírus acima referidas, é possível inferir que a adoção de medidas preventivas por parte da população toma um papel de grande relevo. As medidas preventivas têm dois objetivos, por um lado evitar a contaminação da população, em geral, e, por outro, instruir os indivíduos contaminados a adotarem comportamentos que possibilitem minimizar ao máximo a transmissão a indivíduos saudáveis. Sendo assim, a 1) Lavagem de mãos frequente ou utilização de toalhetas de base alcoólica, a 2) utilização de um lenço descartável para cobrir a boca e

nariz aquando de um espirro ou tosse, o 3) evitar tocar os olhos, nariz ou boca sem antes desinfetar as mãos, o 4) evitar o contacto próximo com indivíduos que estejam doentes e 5) quando doente, ficar em casa, são medidas que ajudam a prevenir estas infeções respiratórias e a propagação dos vírus (CDC, 2016). Porém, e exclusivamente para a gripe, a vacinação é a medida profilática que, acima de todas as mencionadas, previne a infeção com maior efetividade e/ou o agravamento dos sintomas associados à doença (WHO, 2014). É importante também referir que são utilizados fármacos antivirais, em determinadas situações devidamente descritas, como quimioprofilaxia pós-exposição (Sweetman, 2009b).

A abordagem farmacológica da gripe e constipação é essencialmente sintomática devido ao facto de serem, de um modo geral, infeções virais autolimitadas. Sendo assim, para o alívio dos sintomas, as classes farmacológicas mais utilizadas são os analgésicos e antipiréticos, os anti-inflamatórios não esteroides, os anti-histamínicos, os descongestionantes e os antitússicos e expetorantes (Sweetman, 2009a). Na abordagem farmacológica da gripe são também utilizados, mediante decisão clínica individualizada, fármacos antivirais (Sweetman, 2009b) (Orientação nº 007/2015). O uso de antibióticos, a menos que exista evidência clínica de uma infeção bacteriana secundária, está desaconselhado (Sweetman, 2009a), uma vez que, por se tratar de infeções provocadas por vírus, o seu uso apenas leva ao aparecimento de resistências antimicrobianas (Rubin et al, 2015).

Para além do recurso a fármacos, cada vez mais a população tende à utilização de suplementos alimentares com o objetivo de alcançar um estado de saúde ideal e/ou prevenir ou curar doenças (McCormick, 2010). A crescente utilização destes produtos deve-se em grande parte à sua interpretação, pela população em geral, como “natural” e deste modo, como produtos seguros para a saúde e ausentes de efeitos secundários, o que não corresponde à realidade (Dennehy & Tsourounis, 2012).

Em Portugal, o consumo de suplementos alimentares é considerável, sendo as vitaminas, seguidas dos minerais e dos extratos de plantas, os tipos de suplementos mais consumidos. A farmácia é o local de eleição por parte da população Portuguesa para a obtenção de suplementos (Felicio, 2006) devendo-se isto à sua proximidade à comunidade e ao facto de ser reconhecida pela população como um espaço de referência dedicado à venda de produtos terapêuticos como os dispositivos médicos e à dispensa de medicamentos, submetidos a elevado grau de exigências legais, sendo todos estes

serviços acompanhados de um aconselhamento por parte de profissionais credenciados. Deste modo, os profissionais de saúde, em particular os farmacêuticos são confrontados cada vez mais com suplementos alimentares e assumem um papel de grande relevância no processo de aconselhamento e decisão acerca da necessidade ou não da toma de um determinado suplemento por parte do utente, o que se torna difícil, uma vez que a instrução farmacêutica a nível dos suplementos alimentares é bastante reduzida e estes, na sua grande maioria, não são acompanhados de evidências científicas que expliquem o seu modo de atuação e comprovem a sua eficácia (Raposo & Caetano, 2011).

A presente dissertação tem o intuito de, além de rever as possibilidades de quimioprofilaxia e tratamento farmacológico da gripe e constipação, analisar os estudos que avaliam a validade *in vitro*, *in vivo* e clínica da utilização de espécies do género *Echinacea* na prevenção e tratamento da gripe e constipação e assim inferir se o farmacêutico comunitário, no desempenho da sua atividade profissional, dispõe ou não de evidência científica suficiente que justifique o aconselhamento de tais suplementos alimentares.

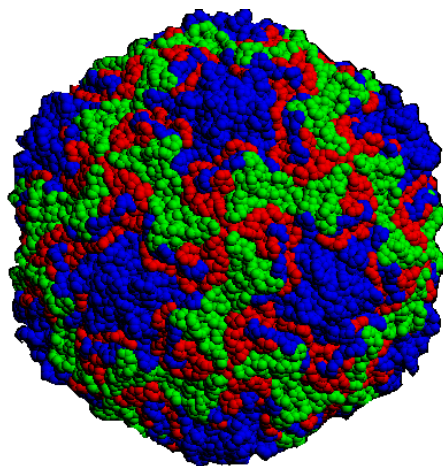
## 2. Constipação

A constipação pode ser provocada por diversos agentes virais, nomeadamente por Rinovírus (Rinovírus Humano), Adenovírus, vírus Parainfluenza, vírus Sincicial Respiratório, vírus Influenza e Coronavírus Humano (Arruda et al, 1997; Mäkelä et al, 1998). No entanto, e como já referido anteriormente, o Rinovírus Humano é o agente viral responsável por 30 – 40% dos casos de constipação (Rubin et al, 2015). Sendo assim, é o agente que ocupa um lugar de maior relevância nesta doença e é sujeito a uma descrição detalhada das suas características nesta dissertação.

### 2.1. Rinovírus Humano

#### 2.1.1. Classificação

No que respeita à sua classificação taxonómica atual, o *Rinovírus Humano* pertence à família *Picornaviridae* e ao género *Enterovirus*. Este género encontra-se dividido em 12 espécies diferentes, dentro das quais importa mencionar, para este efeito, o Rinovírus Humano A, Rinovírus Humano B e Rinovírus Humano C. Consequentemente, cada uma destas três espécies engloba um vasto número de serotipos (McIntyre et al, 2013).

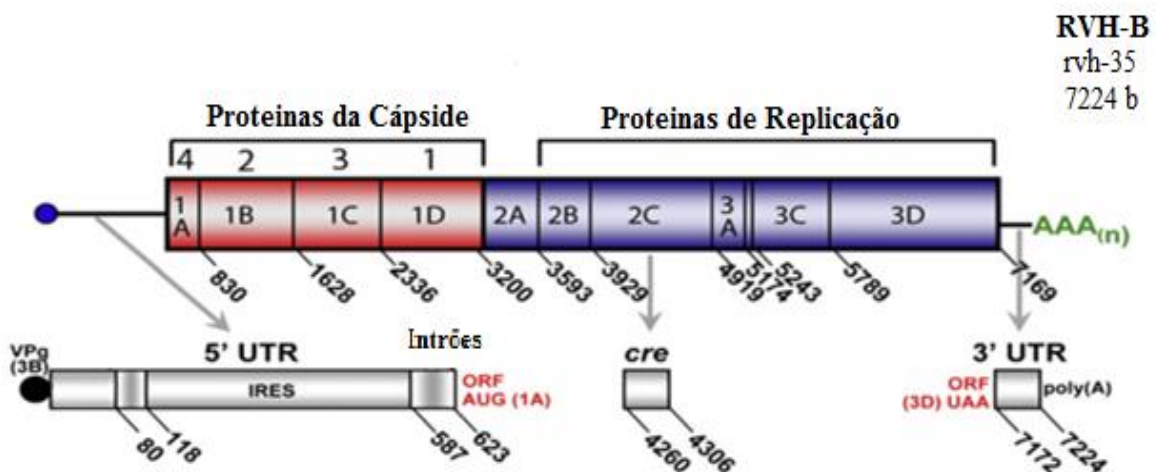


**Figura 2.1.1.1.** Cápside do Rinovirus Humano – 14 (imagem criada por computador). São visíveis 3 proteínas estruturais diferentes. A azul VP1, a verde VP2 e a vermelho VP3. Imagem adaptada de: (Institute for Molecular Virology, 2011)

### 2.1.2. Estrutura e Organização Genómica

Em relação à estrutura e organização genómica, o Rinovírus Humano é um vírus constituído por uma cadeia simples de ácido ribonucleico (RNA), de polaridade positiva, com aproximadamente 7200 par de bases. Possui uma região não transcrita 5' (5' UTR) com aproximadamente 650 bases, uma única região aberta de leitura (ORF) com aproximadamente 6500 bases, uma região não transcrita 3' (3' UTR) com aproximadamente 50 bases e uma extremidade Poly(A) (Palmenberg et al, 2010).

O genoma é constituído por um único gene cuja proteína traduzida é clivada por proteases virais, originando 11 proteínas diferentes. Quatro delas (VP1, VP2, VP3, VP4) são responsáveis pela parte estrutural e as restantes pela replicação do genoma viral e montagem. Das proteínas estruturais, a VP1, VP2 e VP3 intervêm na “diversidade antigénica” do vírus, enquanto a VP4 liga o RNA à cápside. A cápside é constituída por 60 cópias de cada uma destas quatro proteínas estruturais que lhe atribuem uma estrutura icosaédrica, sem envelope (Palmenberg et al, 2010). A Figura 2.1.2.1. representa a organização esquemática do genoma do Rinovírus Humano.



**Figura 2.1.2.1** Organização esquemática do genoma do Rinovírus Humano (Palmenberg et al, 2010)

### **2.1.3. Recetores utilizados para entrada nas células**

O Rinovírus Humano infeta maioritariamente células epiteliais respiratórias, nomeadamente células do epitélio nasal, sendo conhecidas, até ao momento, três formas distintas de entrada do vírus nas células. A espécie Rinovírus Humano B e a maioria dos serotipos de Rinovírus Humano A (cerca de 90% da totalidade dos serotipos) procedem à entrada nas células a partir da ligação à proteína conhecida como ICAM-1 (molécula de adesão intracelular-1), enquanto os restantes pertencentes a esta espécie utilizam um recetor lipoproteico de baixa densidade (LDLR). No que respeita à espécie Rinovírus Humano C, o vírus interatua com proteínas de adesão celular denominadas caderinas (CDHR3), no entanto o seu mecanismo de entrada ainda não é totalmente conhecido (Bochkov & Gern, 2016).

### **2.1.4. Replicação do Vírus**

A entrada do vírus na célula pode ocorrer por endocitose dependente ou independente de clatrina ou por macropinocitose, consoante o tipo de recetor utilizado pela partícula viral, como referidos anteriormente. Após a entrada, as ICAM-1 e/ou o pH baixo presente nos endossomas iniciam um processo de alterações conformacionais nos viriões que leva à produção de partículas subvirais hidrofóbicas. De seguida, através da rotura da membrana do endossoma ou da abertura de um poro na mesma, pelas proteínas virais, o genoma de RNA desloca-se para o citoplasma da célula. No citoplasma, por um lado, ocorre a síntese de uma cadeia de RNA mensageiro (mRNA) de polaridade negativa para que seja utilizada como molde para a produção de diversas cadeias de mRNA mensageiro positivas, que irão incorporar os viriões e, por outro lado, o ribossoma da célula hospedeira traduz a cadeia de RNA viral de polaridade positiva numa poliproteína, que, por sua vez, vai ser clivada em diversas proteínas mais pequenas, permitindo assim a montagem e replicação dos novos vírus (Fuchs & Blaas, 2010; Dimmock et al, 2007a).

### **2.1.5. Patogenicidade**

O período de incubação do Rinovírus varia geralmente entre 1 a 2 dias (Dolin, 2015), no entanto em estudos realizados, foi possível detetar novos vírus replicados ao fim de 8 a 10 horas após a inoculação intranasal do vírus (Harris & Gwaltney, 1996).

Na mucosa nasal, a infeção viral leva a um aumento da permeabilidade vascular, vasodilatação e a uma hiperprodução de muco (Dolin, 2015).

Em termos histopatológicos, não são detetadas alterações nem destruição das células do epitélio nasal infetadas (Winther et al, 1986), levando este fato a colocar em dúvida que as manifestações clínicas da infeção se devam apenas ao efeito citopático do vírus, sendo deste modo relacionadas também e maioritariamente com a resposta inflamatória do organismo infetado. Esta relação é suportada pela deteção de concentrações mais elevadas de diversos mediadores inflamatórios, como por exemplo bradicinina, lisil-bradicinina, prostaglandinas, leucotrienos, interleucinas 1 $\beta$ , 6 e 8; factor de necrose tumoral alfa (TNF- $\alpha$ ), nas secreções nasais de doentes inoculados com rinovírus (Kennedy et al, 2012; Subauste et al, 1995; Volovitz et al, 1988; Noah et al, 1995).

## **2.2. Manifestações Clínicas**

As manifestações clínicas da constipação duram em média entre 3 a 10 dias, no entanto, este período pode alargar-se e chegar às duas semanas em alguns doentes, nomeadamente fumadores (Turner, 1997).

Os sintomas iniciais prendem-se com obstrução nasal, descarga nasal, irritação da garganta e espirros, ocorrendo também, por vezes o aparecimento de tosse. O desenvolvimento de um estado febril é pouco frequente nos adultos, no entanto, este é comum nas crianças, apesar de geralmente não ultrapassar os 38°C. Para além da febre, sintomas como cefaleia ou mal-estar-geral são, geralmente, leves ou inexistentes (Dolin, 2015; Eccles, 2005).

### **2.3. Complicações**

Importa referir que, principalmente nas crianças, alguns casos de infeção viral podem ser acompanhadas por infeções secundárias bacterianas, nomeadamente otite média aguda, sinusite ou pneumonia (Dolin, 2015; Juvén et al, 2000).

A exacerbação dos episódios de asma é também uma complicação da infeção viral que tem sido verificada tanto em crianças como em adultos (Dolin, 2015; Khetsuriani et al, 2007).

### **2.4. Tratamento**

Tal como referido anteriormente, a constipação pode ser causada por uma grande variedade de vírus o que leva a que a infeção se possa desenvolver por mecanismos patogénicos diferentes (Mäkelä et al, 1998).

Apesar de já terem sido realizados diversos estudos e ensaios clínicos que procuram uma terapêutica eficaz e universal contra a constipação, até ao momento, a abordagem farmacológica da mesma limita-se ao alívio dos sintomas, não interferindo assim na duração da infeção viral, sendo portanto considerada como um tratamento paliativo (Pinto, 2002).

Deste modo, existem diversos grupos de fármacos que podem ser utilizados para o alívio dos sintomas, dependendo a sua utilização de quais os sintomas que se manifestam com maior gravidade em cada indivíduo, em particular (Pinto, 2002).

#### **2.4.1. Analgésicos, antipiréticos e anti-inflamatórios não esteroides**

Os analgésicos e antipiréticos, como é o caso do paracetamol, são indicados para o alívio da dor ligeira e da febre, sendo portanto uma opção no alívio destes sintomas, quando presentes (Pinto, 2002).

Os anti-inflamatórios não esteroides (AINEs) como o ácido acetilsalicílico e o ibuprofeno são indicados para os mesmos fins, tendo ainda uma componente anti-inflamatória através da inibição da formação de prostaglandinas, levando a que sejam

uma opção viável para o alívio de alguns sintomas da constipação (Sweetman, 2009a; Kim et al, 2015).

#### **2.4.2. Descongestionantes nasais**

A congestão nasal é um sintoma bastante frequente da constipação e para tal são utilizadas aminas com atividade simpaticomimética como é o caso da pseudoefedrina. Através do seu efeito alfa-adrenérgico levam à vasoconstrição, reduzindo assim o edema na mucosa nasal (Sweetman, 2009c; Westfall & Westfall, 2011).

É importante referir que os descongestionantes nasais se dividem em sistémicos e tópicos, apresentando os últimos um quadro de interações com outros fármacos e um quadro de efeitos secundários menor (Sweetman, 2009c; Taverner & Latte, 2009).

#### **2.4.3. Anti-histamínicos**

Apesar deste grupo de fármacos ter sido aconselhado e utilizado para o tratamento sintomático da gripe e constipação durante muitos anos (alívio da congestão nasal, rinorreia e espirros), a sua verdadeira utilidade é controversa porque os estudos indicam que apenas existe um ligeiro benefício na utilização de anti-histamínicos sedativos no alívio dos sintomas durante o primeiro e segundo dia de tratamento, não sendo encontrado qualquer benefício quando são utilizados anti-histamínicos de 2ª geração (De Sutter et al, 2015; Pinto, 2002).

#### **2.4.4. Antitússicos e expetorantes**

Para o alívio da tosse não produtiva são utilizados antitússicos de ação central como é o caso do dextrometorfano e da codeína (Sweetman, 2009c) e da tosse produtiva agentes com ação expetorante ou mucolítica, no entanto estes são acompanhados de baixa evidência científica no que diz respeito à diminuição da tosse durante a constipação (Smith et al, 2014).

## 3. Gripe

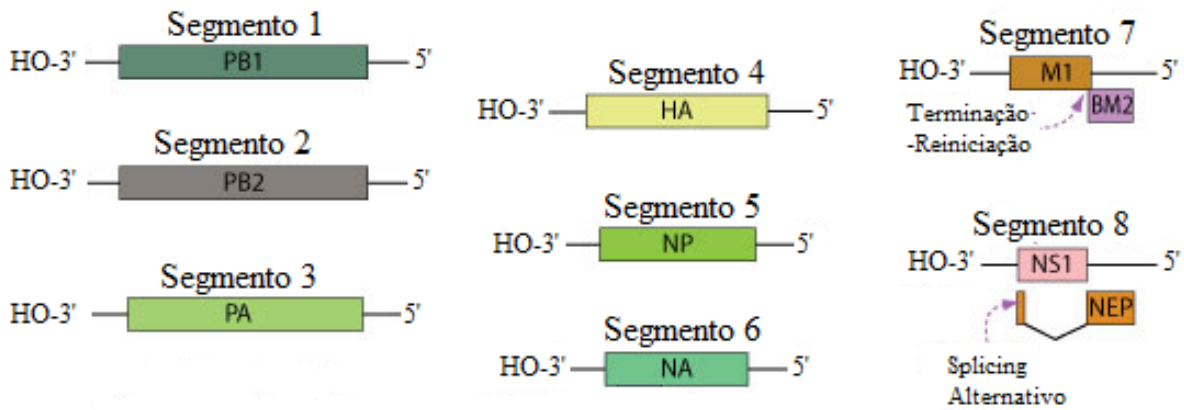
### 3.1. Vírus Influenza

#### 3.1.1. Classificação

A gripe é provocada pelo vírus Influenza (Vírus da gripe), da família *Orthomixoviridae* (ICTV, 2015). A classificação deste vírus subdivide-se em três tipos diferentes: Influenza A, Influenza B e Influenza C. O vírus Influenza A ainda se ramifica em vários subtipos, consoante a diferente combinação de proteínas de superfície (Hemaglutinina e Neuraminidase) (Kapoor & Dhama, 2014). É importante realçar que o grau de infeção provocado nos humanos pelo vírus do tipo C é bastante ligeiro, pelo que apenas o tipo A e o tipo B assumem relevância em Saúde Pública. O vírus do tipo A é o responsável pelas pandemias, uma vez que infeta uma grande variedade de seres vivos, nomeadamente as aves, ao contrário do vírus do tipo B que apenas infeta humanos (George, 2014).

#### 3.1.2. Estrutura e Organização Genómica

No que diz respeito à organização genómica, o vírus Influenza é constituído por oito segmentos separados de RNA (Fig.3.1.2.1) (sete segmentos no vírus do tipo C), de cadeia simples, polaridade negativa e com uma totalidade aproximada de 14000 nucleótidos. Todos os segmentos apresentam uma sequência terminal de nucleótidos igual (Medina & García-Sastre, 2011), no entanto, codificam diferentes proteínas e consoante o segmento em questão, estes podem ser constituídos por um ou dois genes (George, 2014). No caso do vírus Influenza A, os segmentos 1, 2 e 3 incorporam os genes que codificam proteínas que constituem diferentes subunidades da RNA polimerase (PB1, PB2 e PA, respetivamente); o segmento 4 codifica a hemaglutinina (HA); o segmento 5 incorpora o gene que codifica a nucleoproteína (NP) enquanto o segmento 6 o gene para a neuraminidase (NA); os segmentos 7 e 8 codificam 2 proteínas cada um, o primeiro integra os genes que codificam duas proteínas da matriz (M1, M2) e o segundo codifica as proteínas não estruturais (NS1, NEP) (Medina & García-Sastre, 2011).

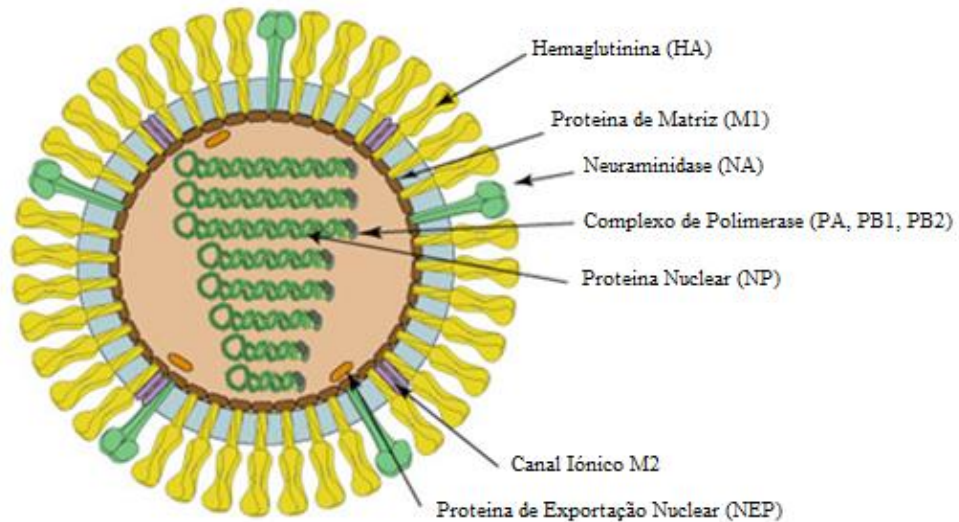


**Figura 3.1.2.1.** Representação esquemática da estrutura genômica do vírus Influenza A (SIB, 2016)

Em relação à sua estrutura, é uma partícula esférica ou filamentososa, com envelope lipídico, possuindo um diâmetro interno que varia entre 80 e 120nm e um núcleo central de 70 nm. (George, 2014; Kapoor & Dhama, 2014).

Por toda a sua superfície, na membrana lipídica do envelope, encontram-se duas glicoproteínas, Hemaglutinina (HA) e Neuraminidase (NA), que têm funções cruciais para o vírus e apresentam as principais propriedades antigénicas do mesmo. A hemaglutinina é a glicoproteína responsável pela ligação do vírus às células e pela entrada do genoma viral nas mesmas e a neuraminidase é responsável pela libertação dos novos vírus da célula infetada (George, 2014; Dimmock, 2007b). A Figura 3.1.2.2. representa esquematicamente a estrutura do vírus Influenza A.

Até ao momento são conhecidas dezoito hemaglutininas e onze neuraminidasas diferentes (Kapoor & Dhama, 2014).



**Figura 3.1.2.2.** Representação esquemática da estrutura do vírus Influenza A (SIB, 2016)

### 3.1.3. Replicação do Vírus

O vírus Influenza, nos seres humanos, infeta principalmente as células epiteliais das vias respiratórias e dos pulmões. O primeiro contacto entre o vírus e as células alvo inicia-se pela interação entre as hemaglutininas do vírus e os resíduos de ácido siálico presentes no recetor mucoproteico da superfície das células, resultando esta interação numa endocitose do vírus, mediada por clatrin. A acidificação do endossoma permite a fusão do envelope viral com a membrana do endossoma, permitindo a libertação e migração dos segmentos de RNA encapsidados para o núcleo da célula. Aqui, são feitas cópias de polaridade positiva do RNA viral (uma vez que é um vírus de RNA de polaridade negativa) que migram para o citoplasma, onde a maquinaria da célula infetada faz a sua tradução e origina assim cópias das proteínas virais. Simultaneamente, outras cadeias de RNA viral de polaridade positiva são utilizadas como modelo para a síntese de cadeias de RNA viral de polaridade negativa. Após a sua síntese, os novos segmentos migram para o citoplasma da célula infetada onde já se encontram as novas cópias de proteínas virais produzidas. A montagem dos novos vírus ocorre no interior da membrana celular e, quando este processo se encontra concluído, dá-se a saída dos vírus da célula através do processo de “budding” (Samji, 2009; Mikulášová et al, 2000; Fodor, 2013).

### **3.1.4. Variabilidade Viral**

O vírus Influenza sofre constantemente diversas alterações genéticas e antigénicas, apresentando conseqüentemente uma grande variabilidade, devendo-se este fenómeno ao seu genoma de RNA segmentado (McDonald et al, 2016).

Por um lado, a variabilidade do vírus pode dever-se ao chamado “drift” antigénico, afetando este o tipo A e tipo B do vírus. Traduz-se em alterações sucessivas nas proteínas de superfície, neuroaminidase e hemaglutinina, o que leva ao aparecimento de novas estirpes virais (George, 2014; Treanor, 2004).

Por outro lado, o antigénio “shift” é um processo de variabilidade que, apesar de ocorrer com muito menos frequência que o antigénio “drift”, leva à formação de um novo subtipo viral, e, conseqüentemente, à possibilidade de pandemias. Este fenómeno afeta apenas o vírus do tipo A, e o aparecimento do novo subtipo viral deve-se a uma nova combinação de proteínas de superfície (nova hemaglutinina e/ou nova hemaglutinina e neuroaminidase) para as quais o ser humano não possui anticorpos (George, 2014; Treanor, 2004).

### **3.1.5. Patogenicidade**

O vírus tem um período de incubação médio de 2 dias (varia entre 1 a 4 dias). O período de contágio começa cerca de 1 dia antes do início dos sintomas e termina após 5 a 7 dias do seu início (Fiore et al, 2008; Lessler et al, 2009).

Ao contrário do que acontece com as infeções por Rinovírus, o vírus Influenza leva a diversas alterações degenerativas nas células do epitélio respiratório (Taubenberger & Morens, 2008).

Deste modo, a patogenicidade que advém desta doença infecciosa viral e as conseqüentes manifestações clínicas dependem de um conjunto de variáveis: virulência do vírus, resposta inflamatória do hospedeiro a partir do aumento da concentração de diversas citocinas, o estado do seu sistema imunitário e, ainda, a possibilidade de ocorrerem infeções bacterianas secundárias (George, 2014).

### 3.2. Manifestações Clínicas

As manifestações clínicas da gripe duram, em média, uma semana, e, por norma, iniciam-se de forma abrupta com o aparecimento de sintomas sistémicos como cefaleias, mialgias, febre e sinais e sintomas associados ao trato respiratório, como tosse não produtiva, dores de garganta e congestão nasal. A febre varia entre os 38° e 40°C, sendo geralmente mais elevada nas crianças face aos adultos e, por norma, após o seu pico, decresce ao longo de 2 a 3 dias (Cohen & Dolin, 2015; Hoffmann & Kamps, 2006).

Nas crianças também é possível o aparecimento de sintomas e sinais gastrointestinais, tais como vómitos e diarreia, sendo estes pouco comuns nos adultos (Minodier et al, 2015; Chan et al, 2009).

Nos idosos importa referir que o quadro de sintomas pode variar dos restantes, sendo a adinamia, astenia, vertigens e anorexia os mais frequentes, enquanto odinofagia, mialgia e febre podem ser leves ou até ausentes (Cohen & Dolin, 2015).

A Tabela 3.2.1. destaca as diferenças sintomáticas entre constipação e gripe.

**Tabela 3.2.1.** Principais diferenças sintomáticas entre constipação e gripe (Hoffmann & Kamps, 2006)

| <b>Sintomas</b>            | <b>Gripe</b>                      | <b>Constipação</b> |
|----------------------------|-----------------------------------|--------------------|
| <b>Febre</b>               | Geralmente alta                   | Pouco Frequente    |
| <b>Cefaleias</b>           | Moderada                          | Ligeira ou Ausente |
| <b>Mialgias</b>            | Frequente                         | Ligeira            |
| <b>Fadiga e Fraqueza</b>   | Extrema, pode durar 2 a 3 semanas | Ligeira            |
| <b>Exaustão</b>            | Intensa (fase inicial)            | Ausente            |
| <b>Nariz Congestionado</b> | Por vezes                         | Frequente          |
| <b>Tosse</b>               | Frequente, pode tornar-se grave   | Pouco Frequente    |
| <b>Dor de Garganta</b>     | Por vezes                         | Frequente          |

### 3.3. Complicações

São diversas as complicações que podem estar associadas à infeção por parte do vírus Influenza e estas afetam principalmente os grupos de risco à frente mencionados (Orientação nº 009/2015; Cohen & Dolin, 2015).

A tabela 3.3.1. refere os grupos com maior risco de complicações após infeção pelo vírus Influenza.

A principal complicação associada a esta infeção é o aparecimento de pneumonia, podendo esta ser de origem viral, estando apenas associada ao vírus Influenza ou resultar de uma infeção secundária bacteriana, sendo o *Streptococcus pneumoniae*, o *Staphylococcus aureus* e *Haemophilus influenzae* os principais agentes patogénicos responsáveis pela infeção (Cohen & Dolin, 2015; Kallen et al, 2009; CDC, 2007).

**Tabela 3.3.1.** Grupos com maior risco de complicações após infeção pelo vírus Influenza (Orientação nº 009/2015; Cohen & Dolin, 2015)

| <b>Grupos com maior risco de complicações após infeção pelo vírus Influenza</b> | <b>Especificação</b>  |
|---|---|
| Crianças  | Idade inferior a 5 e especialmente inferior a 2 anos  |
| Crianças e Adolescentes   | Entre os 6 meses e os 18 anos de idade, que tenham sido submetidos a terapêutica de longa duração com salicilatos (Risco de Síndrome de Reye)                                 |
| Adultos e crianças com doença crónica   | Pulmonar (incluindo asma); Cardiovascular (excluindo hipertensão arterial isolada); hematológica; hepática; renal; metabólica (diabetes mellitus); neuromuscular; neurológica |
| Grávidas  |   |
| Idosos  | Idade $\geq$ 65 anos  |
| Imunodeprimidos   | Incluindo imunossupressão induzida por medicamentos ou infeção por VIH  |
| Obesidade Mórbida   | IMC (Índice de Massa Corporal) $>$ 40 Kg/m <sup>2</sup> (adultos)   |
| Profissionais de Saúde  | Que se encontrem em contacto direto com os grupos mencionados acima.  |

Para além das complicações pulmonares, miosite (em crianças), síndrome do choque tóxico, complicações do foro cardíaco como miocardite e pericardite (Agyeman et al, 2004; Estabragh & Mamas, 2013) e complicações ao nível do sistema nervoso central como encefalopatia (Lee et al, 2010), encefalite e Síndrome de Guillain-Barré (Studahl, 2003; Toovey, 2008) são outras complicações associadas à infeção viral (Cohen & Dolin, 2015).

### **3.4. Tratamento**

À semelhança do que acontece na abordagem terapêutica da constipação, o tratamento da gripe é também, de um modo geral, paliativo, baseando-se assim no alívio dos sintomas com recurso aos grupos de fármacos mencionados no capítulo da constipação (Pinto, 2002). Quer para os grupos que estão mais predispostos a sofrerem complicações provocadas pelo vírus Influenza, grupos de risco, e também para aqueles que, apesar de não se encontrarem em nenhum destes grupos, apresentam complicações associadas à gripe, estão disponíveis fármacos antivirais que, mediante decisão individualizada do médico, podem ser prescritos (Orientação nº 007/2015; Pinto, 2002; Parry-Ford et al, 2015).

#### **3.4.1. Inibidores da replicação viral**

A amantadina e a rimantadina são dois antivíricos ativos apenas contra o vírus do tipo A e cujo mecanismo de atuação se prende pela inibição de um dos primeiros passos da replicação do vírus, interferindo no normal funcionamento da proteína M2 que funciona como um canal de iões. Ao interferir com o seu normal funcionamento, o processo de acidificação necessário para a libertação do ácido nucleico viral na célula infetada fica comprometido (Acosta & Flexner, 2011; Stiver, 2003).

Apenas a amantadina está disponível em Portugal (Parkadina<sup>®</sup>) e o seu uso é praticamente nulo devido às resistências virais criadas (Santos et al, 2011).

### **3.4.2. Inibidores das neuraminidases**

O oseltamivir (Tamiflu®) e o zanamivir (Relenza®) são os dois inibidores seletivos das neuraminidases do vírus Influenza A e B utilizados na profilaxia e no tratamento da gripe. No que respeita ao tratamento, uma vez que atuam na fase de replicação viral, impedindo a libertação de novos viriões e, conseqüentemente, a sua disseminação pelo trato respiratório, e o pico máximo de replicação do vírus ocorrer entre 48 a 72 h após o início dos sintomas, estes fármacos só são eficazes se administrados até no máximo 48 horas após o início dos mesmos (Acosta & Flexner, 2011b; Fiore et al, 2011; Anónimo, 2016).

### **3.5. Profilaxia**

Apesar de, como referido anteriormente, o oseltamivir e o zanamivir também serem utilizados para a profilaxia da gripe em determinadas situações (Fiore et al, 2011), a vacinação é a medida de eleição para o efeito, sendo recomendada para todos os indivíduos com mais de 6 meses de idade (Grohskopf et al, 2015). No entanto, como a produção da vacina é limitada, tendo cada país direito a uma determinada quota anual, o seu uso é prioritário para as pessoas pertencentes aos grupos de risco indicados pela Direção-Geral de Saúde (DGS) (Orientação nº 009/2015; George, 2014).

Importa referir que a vacinação é anual, devendo a sua administração ser iniciada a partir do mês de Outubro (George, 2014).

As regulares alterações antigénicas que o vírus da gripe sofre impossibilitam a vacina de conferir uma proteção a longo prazo, sendo necessário alterar e modificar a sua composição consoante as estirpes virais dominantes nesse ano (Bhattacharyya et al, 2015).

A vacina mais utilizada na Europa é trivalente, e a sua composição para o Hemisfério Norte para a época de 2015-2016, de acordo com as recomendações da OMS (WHO, 2015), é a seguinte:

- Uma estirpe viral A(H1N1) idêntica a A/California/7/2009
- Uma estirpe viral A(H3N2) idêntica a A/Switzerland/9715293/2013
- Uma estirpe viral B (linhagem Yamagata) idêntica a B/Phuket/3073/2013

## 4. Suplementos Alimentares

Considera-se que a manutenção de um bom estado de saúde é conseguida, em contextos normais, através de um regime alimentar apropriado e diversificado onde se procede ao aporte de todos os nutrientes e substâncias necessários, nas quantidades recomendadas e definidas pelo suporte científico. Contudo, e derivado de diversos fatores como, por exemplo, o estilo de vida, o aporte ideal de nutrientes e substâncias não está a ser conseguido por todos os grupos populacionais (DL-136/2003).

De acordo com esta realidade, e na procura de um estado ótimo de saúde, passando pela tentativa de prevenção ou mesmo de cura de doenças, a população tende cada vez mais à utilização de suplementos alimentares (McCormick, 2010).

### 4.1. Definição e enquadramento legal dos suplementos alimentares em Portugal

Suplementos alimentares são definidos como *“géneros alimentícios que se destinam a complementar e/ou suplementar o regime alimentar normal, e que constituem fontes concentradas de determinadas substâncias nutrientes ou outras com efeito nutricional ou fisiológico, estemes ou combinadas, comercializadas em forma doseada, tais como cápsulas, pastilhas, comprimidos, pílulas e outras formas semelhantes, saquetas de pó, ampolas de líquido, frascos com conta-gotas e outras formas similares de líquidos ou pós que se destinam a ser tomados em unidades medidas de quantidade reduzida.”*. Esta definição encontra-se regulada no Decreto-Lei 136/2003 de 28 de Junho, que transpõe a Diretiva nº2002/46/CE, do Parlamento Europeu e do Conselho, de 10 de Junho de 2002, com a primeira alteração imposta no Decreto-Lei nº269/2007 de 22 de Agosto e a segunda alteração imposta no Decreto-Lei nº118/2015 de 23 de Junho (DL-136/2003; DL-269/2007; DL-118/2015). Importa definir também o conceito de “substâncias nutrientes”, sendo este relativo a vitaminas e minerais (DL-136/2003).

Deste modo, e perante as definições apresentadas, os suplementos alimentares podem conter, para além de vitaminas e minerais, um elevado número de outros compostos com efeito nutricional ou fisiológico, tais como ácidos gordos essenciais, fibras, várias plantas, extratos de plantas e aminoácidos (DL-136/2003), levando conseqüentemente à não existência de discriminação nas substâncias utilizadas.

#### **4.2. Introdução no mercado**

Relativamente à introdução no mercado e, uma vez que os suplementos alimentares são regulados pela legislação alimentar, não é necessário proceder a um processo de autorização de comercialização, sendo apenas requerido, antes do início da comercialização, o envio de um rótulo, relativo ao novo produto, por parte do fabricante às entidades responsáveis (DL-136/2003).

#### **4.3. Rotulagem**

Os suplementos alimentares, para além de cumprirem a legislação referente à rotulagem geral dos alimentos (DL-560/99; DL-167/2004), devem também cumprir a legislação específica referente à rotulagem dos suplementos alimentares, sendo obrigados a conter diversas informações, tais como: todos os produtos têm que conter, em destaque, a referência “Suplemento Alimentar”; a quantidade de nutrientes ou substâncias com efeito nutricional ou fisiológico presentes no produto deve ser declarada no rótulo sob forma numérica e referente à Toma Diária Recomendada pelo fabricante; a designação das categorias de nutrientes ou substâncias que caracterizam o produto ou uma referência específica à sua natureza; a indicação de que os suplementos alimentares não são substitutos de um regime alimentar variado; as advertências de que não deve ser excedida a dose diária recomendada assim como os produtos devem ser mantidos fora do alcance das crianças (DL-136/2003; DL-269/2007; DL-118/2015).

Devem ainda não incluir na rotulagem, apresentação ou publicidade referências que lhes atribuam propriedades profiláticas, de tratamento ou curativas de doenças assim como referências que façam alusão a que um regime alimentar equilibrado e variado não constitui uma fonte suficiente de nutrientes (DL-136/2003; DL-269/2007; DL-118/2015).

#### **4.4. Autoridade competente e fiscalização**

Os suplementos alimentares encontram-se sobre a tutela do Ministério da Agricultura e Mar (DL-118/2015), no qual a autoridade competente é a Direção-Geral de Alimentação e Veterinária (DGAV) e conseqüentemente a divisão responsável pelos mesmos é a Divisão de Alimentação Humana (DAH) da Direção de Serviços de Nutrição e Alimentação (Despacho nº15262/2012).

No que respeita à fiscalização dos suplementos alimentares, esta compete à Autoridade de Segurança Alimentar e Económica (ASAE) (DL-118/2015).

#### **4.5. Suplementos alimentares na constipação e gripe**

Associado o facto da procura por suplementos alimentares pela população ser cada vez maior (McCormick, 2010), ao número de pessoas que sofrem de constipação e gripe por ano, diversos estudos têm sido realizados no âmbito de tentar compreender qual o verdadeiro efeito dos vários compostos utilizados em suplementos alimentares indicados para a prevenção e/ou tratamento destas infeções, especialmente no que respeita ao fortalecimento do sistema imunitário (Allan & Arroll, 2014).

Deste modo, têm sido estudados diversos extratos de plantas, como é o caso da *Echinacea* (Karsch-Völk et al, 2014), *Allium sativa* (Lissiman et al, 2014), *Panax quinquefolius* e *Panax ginseng* (Seida et al, 2011); vitaminas, onde a principal estudada é a Vitamina C (Hemilä & Chalker, 2013) e minerais, destacando-se o Zinco (Eby, 2010; Science et al, 2012; D’Cruze et al, 2009).

Nesta dissertação foram escolhidas algumas espécies do género *Echinacea*. O próximo capítulo é integralmente dedicado a estas espécies, começando por uma muito breve abordagem histórica no que diz respeito às suas utilizações ao longo do tempo, uma referência à composição química assim como uma revisão breve aos estudos *in vitro* e *in vivo* efetuados com estas plantas e, ainda, ensaios clínicos a partir dos quais se pretende avaliar a eficácia da planta na prevenção e/ou tratamento da constipação e gripe.

## 5. *Echinacea*

O género *Echinacea* engloba um reduzido conjunto de espécies originárias da América do Norte. Destas espécies, a *Echinacea angustifolia* DC, a *Echinacea pallida* (Nutt.) Nutt. e a *Echinacea purpurea* (L.) Moench destacam-se pela sua longa e tradicional história de utilização em medicina, nomeadamente no tratamento de infeções virais e bacterianas, na sua utilização como antídoto para alguns venenos de cobras e também para o tratamento de lesões ao nível da pele. Atualmente, estas espécies destacam-se pela sua capacidade imunomoduladora e, assim, utilizadas por vários países desenvolvidos na prevenção e tratamento de constipações, gripes e outras infeções do trato respiratório superior (Barnes et al, 2005).

Apesar de serem bastante conhecidas e populares, a sua utilização não é acompanhada de um forte suporte científico. Com base na literatura existente, não é possível identificar quais as espécies mais indicadas para utilização e, por consequência, quais são exatamente os compostos responsáveis pelas diferentes atividades da planta, não sendo claro se as mesmas se devem a uma ação sinérgica de vários compostos ou à ação de um composto isolado. Deste modo, não é também possível identificar quais as partes da planta mais apropriadas e quais as doses que poderiam vir a ter o efeito pretendido (Mitscher, 2004; Hudson, 2012).

Apesar de alguns estudos revelarem como benéfica a utilização de *Echinacea* (Schapowal et al, 2015), a existência de um fraco suporte científico deve-se a inúmeras razões, nomeadamente ao facto de a maioria dos ensaios clínicos não serem bem conduzidos utilizando, muitas vezes, apenas pequenos grupos de indivíduos, passando por administração de misturas constituídas por mais de uma espécie, ou de extratos não padronizados, entre outros fatores que dificultam obter resultados e conclusões comparáveis entre os vários grupos de investigadores que estudam os mesmos assuntos (Karsch-Völk et al, 2014).

## **5.1. Composição química**

Os principais constituintes do género *Echinacea* têm sido identificados, apesar da variabilidade nas suas concentrações, que depende de diversos fatores (a espécie, a idade, a parte da planta, a localização geográfica, as condições de cultura, o ano em que a cultura é realizada e os métodos de extração) (Perry et al, 2001; Aiello et al, 2015).

De entre vários constituintes, destacam-se mais de 20 alquilamidas diferentes (Bauer et al, 1989; Lienert et al, 1998; Sloley et al, 2001), derivados do ácido cafeico (equinacósido, ácido chicórico, ácido caftárico, ácido clorogénico e isoclorogénico, cinarina, entre outros) (Pietta et al, 1998), polissacáridos (como, por exemplo, o ácido arabinogalactano) (Bergeron & Gafner, 2007; Classen et al, 2000), poliacetilenos (Negri, 2015) e compostos voláteis, incluindo terpenos (Mazza & Cottrell, 1999), flavonoides (como quercetina e canferol) e alcaloides (tussilagina e isotussilagina) (Barnes et al, 2005).

## **5.2. Compostos com atividade biológica**

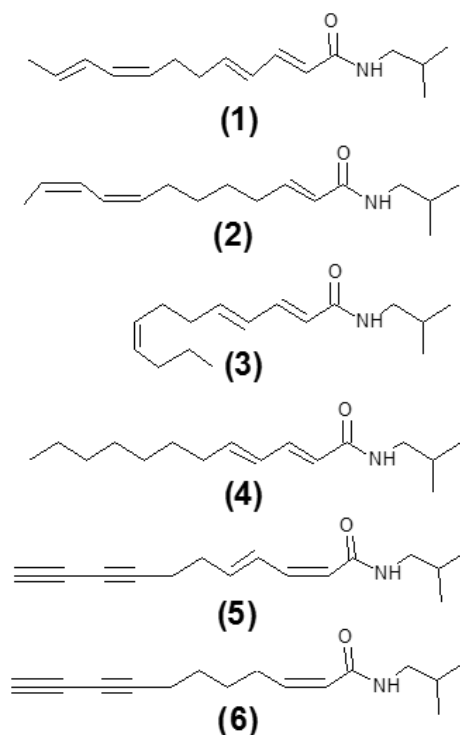
Apesar da complexidade de compostos que fazem parte das espécies do género *Echinacea* e de uma grande maioria contribuir para a atividade biológica da planta, os compostos aos quais é atribuída uma maior importância e considerados os principais responsáveis pela atividade biológica da planta são as alquilamidas e poliacetilenos (compostos lipofílicos), polissacáridos (Ferreira et al, 2015), derivados do ácido cafeico e glicoproteínas (compostos hidrofílicos) (Mistríková & Vaverková, 2006; Ardjomand-Woelkart & Bauer, 2016).

### **5.2.1. Atividade imunomoduladora e anti-inflamatória das alquilamidas**

Como referido anteriormente, no género *Echinacea* encontram-se mais de 20 alquilamidas diferentes (Bauer et al, 1989; Lienert et al, 1998; Sloley et al, 2001), atribuindo-se a algumas delas, atividades biológicas.

Foi avaliada a resposta ao nível da estimulação da fagocitose dos macrófagos alveolares num estudo realizado *in vivo* em ratos, aos quais foi administrado, por via oral, durante 4 dias, uma preparação purificada de alquilamidas extraída da espécie *E. purpurea*. Verificou-se um aumento significativo da atividade fagocitária dos macrófagos alveolares assim como um aumento da produção de TNF- $\alpha$  e de monóxido de azoto pelos mesmos (Goel et al, 2002).

Estudos posteriores realizados com a espécie *E. purpurea* identificaram as alquilamidas como os principais compostos responsáveis pela atividade imunomoduladora da planta, mostrando que as isobutilamidas dos ácidos dodeca-2*E*,4*E*,8*Z*,10*E*/*Z*-tetraenóico (**1/2**) (um par de isómeros não separados pelos autores), dodeca-2*E*,4*E*,8*Z* trienóico (**3**) dodeca-2*E*,4*E* dienóico (**4**) e derivados induziam a síntese de novo mRNA TNF- $\alpha$  em monócitos/macrófagos humanos, mediada pelos recetores canabinóides do tipo 2 (recetores CB2) onde as alquilamidas se ligavam, contudo, inibiam a expressão de TNF- $\alpha$  estimulado pelos lipopolissacáridos (LPS). Esta dualidade pode explicar também, em parte, o efeito anti-inflamatório da planta (Gertsch et al, 2004; Raduner et al, 2006).



**Figura 5.2.1.1.** Estrutura química de alquilamidas identificadas em *E. purpurea*

No entanto, um estudo que também utilizou alquilamidas isoladas de *E. purpurea* analisou o seu efeito em macrófagos (murine RAW 264.7 macrophage-like) infetados com o vírus Influenza A (H1N1). Observou-se uma supressão da produção dos mediadores pró-inflamatórios nas células infetadas, assim como uma inibição na produção de TNF- $\alpha$  e PGE<sub>2</sub> por parte das alquilamidas testadas: isobutilamidas dos ácidos undeca-2Z,4E-dieno-8,10-dinóico (5), dodeca-2E,4E,8Z,10E/Z-tetraenóico (1/2), dodeca-2E,4E-dienóico (4) e undeca-2E-ene-8,10-dinóico (6). Este estudo revelou principalmente uma atividade anti-inflamatória sobre as células infetadas, permitindo inferir um potencial uso de extratos ricos em alquilamidas no alívio dos sintomas provocados pelo vírus Influenza (Cech et al, 2010).

Estudos *in vitro* com recurso a preparações isoladas de alquilamidas da espécie *E. purpurea* e *E. angustifolia* revelaram a capacidade de inibição das enzimas ciclooxigenase e 5-lipoxigenase, levando deste modo a uma diminuição da síntese de mediadores pró-inflamatórios, o que se traduz numa atividade anti-inflamatória (Müller-Jakic et al, 1994; Clifford et al, 2002; Cech et al, 2010).

### 5.2.2. Atividade imunomoduladora dos polissacáridos

A utilização de uma preparação purificada de polissacáridos extraída da espécie *E. purpurea* em culturas *in vitro* de macrófagos da medula óssea de ratinhos revelou a ativação dos mesmos, assim como a produção de IL-1 e radicais de oxigénio (Stimpel et al, 1984).

Num outro estudo, em que foi testada uma preparação purificada de um dos polissacáridos constituintes da espécie *E. purpurea*, o ácido arabinogalactano, em culturas de macrófagos de ratinhos, registou-se também uma ativação dos macrófagos e um aumento na produção de IL-1, interferão- $\beta$ 2 e TNF- $\alpha$  (Luettig et al, 1989).

Em ratinhos imunodeprimidos, após tratamento com ciclosporina ou ciclofosfamida, foi administrada uma preparação purificada de polissacáridos extraída da espécie *E. purpurea*, verificando-se também uma ativação dos macrófagos assim como uma maior produção de TNF- $\alpha$  (Steinmüller et al, 1993).

Num estudo mais recente em que foi utilizado como amostra um extrato de raiz, rico em polissacáridos de *E. purpurea*, os autores avaliaram qual a resposta ao nível das

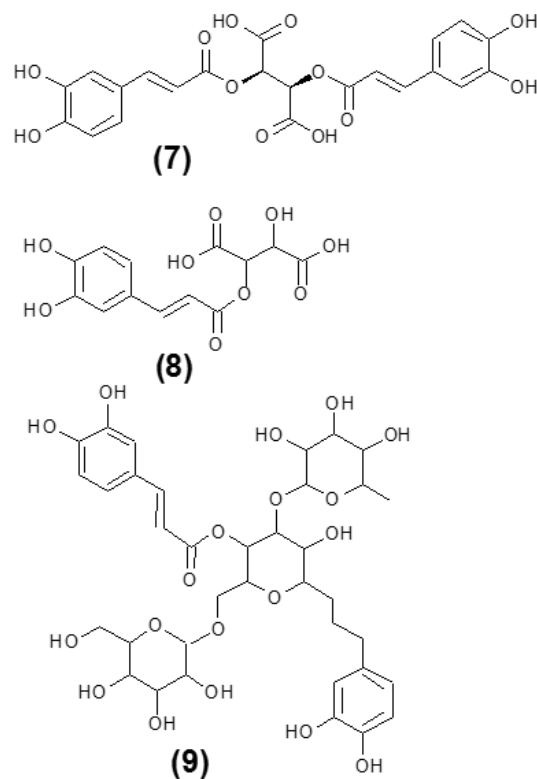
células dendríticas derivadas da medula óssea de ratinhos na presença de tal extrato, verificando um aumento da expressão do complexo major de histocompatibilidade classe II (MHC – II), assim como de marcadores co-estimuladores como o CD86 e CD54 (Benson et al, 2010).

### **5.2.3. Atividade imunomoduladora dos derivados do ácido cafeico**

Um extrato butanólico, obtido a partir de caules e folhas de *E. purpurea* cujos compostos bioativos foram determinados, e sendo o ácido chicórico (**7**) o seu principal constituinte, foi utilizado para avaliar o seu efeito sobre a regulação da expressão genética em células dendríticas humanas imaturas, tendo-se verificado um aumento na expressão de genes relativos a diversos mediadores químicos como IL-8, IL-1 $\beta$ , IL-18, CXCL 2 e assim concluindo um efeito imunomodulador da mistura utilizada (Wang et al, 2008).

Está descrito que a atividade da planta não se deve unicamente a um dos compostos, mas sim à combinação de vários. No entanto, segundo alguns estudos, foi mostrado que, ao contrário das alquilamidas, os derivados do ácido cafeico quando administrados por via oral apresentam uma muito fraca biodisponibilidade, fazendo com que este grupo de compostos não contribua para a atividade da planta (Matthias et al, 2004, Matthias et al, 2005).

Num estudo em que se utilizou como amostra uma preparação resultante da mistura de extratos da raiz de *E. purpurea* e *E. angustifolia*, concluiu-se que, ao contrário das alquilamidas, os derivados do ácido cafeico como é o caso ácido caftárico (**8**), do ácido chicórico (**7**) e do equinacósido (**9**) são fracamente absorvidos ao nível intestinal, e, portanto, com uma baixa biodisponibilidade (Matthias et al, 2004).



**Figura 5.2.3.1.** Estrutura química de derivados do ácido cafeico identificados em *E. purpurea*

Um outro estudo analisou amostras de plasma de 9 voluntários ao longo de 12 horas após a ingestão de quatro comprimidos constituídos pelo equivalente a um extrato de 675 mg de raiz de *E. purpurea* e de 600 mg de raiz de *E. angustifolia*. Em nenhuma das análises foram detetadas concentrações significativas de derivados do ácido cafeico, levando a concluir que este grupo de compostos não é biodisponível quando administrado por via oral (Matthias et al, 2005).

### 5.3. Atividade antiviral

Não existe uma relação direta entre a atividade antiviral verificada em determinados extratos de *Echinacea* e a sua composição, não sendo deste modo possível identificar qual ou quais os compostos responsáveis por essa ação (Hudson, 2012). Contudo, estudos mostram que extratos de raízes de *E. purpurea* apresentam um composto hidrofílico com capacidade de inativar o vírus Influenza e extratos de raízes de

*E. pallida* e *E. angustifolia* exibem atividade significativa contra o Rinovírus (Hudson, 2012; Taylor et al, 2005).

A utilização de um extrato estandardizado de *E. purpurea* (extrato de base alcoólica, 95% de partes aéreas e 5% de raízes) mostrou uma potente atividade antiviral contra o vírus Influenza do tipo A (H1N1), revelando uma interação da *E. purpurea* com as fases iniciais de ligação do vírus aos recetores das células a infetar, impedindo desta forma a entrada do vírus nas células. Foi também demonstrado o não aparecimento de vírus Influenza A resistentes à *E. purpurea* após a passagem sucessiva do vírus em culturas de células onde o extrato da planta em estudo estava presente (Pleschka et al, 2009).

As infeções do trato respiratório provocadas por vírus como o Rinovírus e o vírus Influenza levam a um aumento da produção de diversos mediadores pró-inflamatórios por parte das células infetadas (Volovitz et al, 1988; Noah et al, 1995). Deste modo, para além da atividade antiviral direta, a atividade anti-inflamatória associada da planta torna-se bastante importante no combate a estas infeções virais (Hudson, 2012). Tem sido demonstrado, utilizando diferentes extratos de *E. angustifolia*, *E. pallida* e principalmente de *E. purpurea* uma reversão significativa da produção de citocinas pró-inflamatórias em células epiteliais brônquicas infetadas com Rinovírus tipo-14 (Vimalanathan et al, 2009; Sharma et al, 2006).

#### **5.4. Inibição da produção de muco**

Foi avaliada a eficácia de um extrato estandardizado de *E. purpurea* num modelo intacto de células epiteliais da via respiratória aérea de humanos infetados com Rinovírus tipo 1A, revelando-se uma reversão da indução da secreção de mucina (Sharma et al, 2010), através da quantificação de MUC5A (mucina que forma um gel e é secretada a partir das células mucosa da superfície, podendo ser utilizada como marcador para avaliar a produção de muco nas vias respiratórias) (Zhu et al, 2009).

Deste modo, e dado o fato da produção excessiva de muco estar associada a um dos sintomas das infeções respiratórias, a reversão desta hipersecreção é um efeito benéfico associado à atividade da planta (Hudson, 2012; Sharma et al, 2010a).

### **5.5. Atividade antibacteriana**

As infeções respiratórias virais como é o caso da constipação e gripe podem, por sua vez, dar origem a complicações, nomeadamente ao aparecimento de infeções secundárias bacterianas, tais como otites e pneumonias (Dolin, 2015; Juvén et al, 2000).

Para além da atividade antiviral e anti-inflamatória da planta já descritas, foi verificado através da utilização de um extrato estandardizado de *E. purpurea* (extrato de base alcoólica, 95% de partes aéreas e 5% de raízes) uma atividade bactericida perante bactérias que provocam infeções do trato respiratório: *Streptococcus pyogenes*, *Hemophilus influenzae* e *Legionella pneumophila* (Sharma et al, 2010b), estando descrito uma inativação das mesmas assim como uma inibição na produção dos mediadores pró-inflamatórios (Sharma et al, 2010b; Sharma et al, 2008).

## 5.6. Ensaio clínicos

Existem inúmeras publicações que descrevem ensaios clínicos realizados com preparações de espécies do género *Echinacea* (individualizada ou em combinação com outros extratos de plantas) em humanos, no entanto na presente dissertação apenas são analisados ensaios clínicos controlados por placebo nos quais se utiliza unicamente preparações de espécies do género *Echinacea* e se encontra descrita qual a preparação analisada e/ou a composição química da mesma.

É possível dividir os ensaios clínicos estudados em ensaios clínicos preventivos, nos quais se analisa a eficácia de diversas preparações de espécies do género *Echinacea* na prevenção de gripe ou constipações e em ensaios clínicos de tratamento, nos quais a toma das preparações de espécies do género *Echinacea* é feita após a deteção do início dos sintomas.

Importa referir que, ao invés dos ensaios clínicos de prevenção onde resultados obtidos resultam da análise de variáveis semelhantes entre si como o número de voluntários que experienciou pelo menos um ou mais episódios de infeção do trato respiratório e a severidade e duração dos sintomas, os ensaios clínicos de tratamento utilizam métodos para a avaliação dos resultados que variam consideravelmente entre cada ensaio (Karsch-Völk et al, 2014).

De acordo com as diferentes atividades dos compostos da *Echinacea* que foram referidos neste capítulo, importa que os ensaios clínicos tenham em conta o tipo de extrato da planta que pretendem analisar, quer se trate de um ensaio de prevenção ou de tratamento. Por exemplo, extratos alcoólicos possuirão predominantemente alquilamidas e derivados do ácido cafeico, no entanto terão uma concentração quase nula de polissacáridos. Já os polissacáridos serão os principais constituintes nos extratos aquosos (Vohra et al, 2009).

### 5.6.1. Ensaios clínicos preventivos

Num ensaio clínico randomizado, duplamente cego e controlado por placebo, foi analisada a imunidade na mucosa oral com base na concentração de s-IgA na saliva e a incidência e duração de infeções do trato respiratório superior em 32 adultos (19-46 anos), não fumadores, que foram submetidos a um protocolo de exercício físico pré-estabelecido onde a saliva foi colhida antes e 5 minutos após o exercício. Posto isto, ao grupo de controlo é atribuído um placebo e ao grupo em análise um suplemento de *Echinacea purpurea* padronizado (Nature's Way®, Springville, UT, USA) na forma de cápsulas, para tomar 8 vezes por dia, ao longo de 4 semanas. No final das 4 semanas foram repetidas as análises à saliva e concluiu-se, com significado estatístico, que o grupo submetido ao suplemento de *E. purpurea* sofreu um menor efeito imunossupressor causado pelo exercício físico assim como uma menor duração das infeções do trato respiratório superior (Hall et al, 2007).

Durante 12 semanas, num ensaio clínico, duplamente cego e controlado por placebo, foram administradas por via oral preparações de extratos alcoólicos das raízes de *E. purpurea*, *E. angustifolia* ou placebo a 302 voluntários nos quais se avaliou o tempo que decorria até à ocorrência espontânea da primeira infeção do trato respiratório superior. Em comparação com o placebo, verificou-se uma diferença de 1 e 4 dias até ao aparecimento da primeira infeção do trato respiratório não tendo as diferenças encontradas, relevância estatística ( $p = 0,49$ ) e rejeitando-se desta forma o efeito profilático das preparações de Equinácea (Melchart et al, 1998).

Um estudo analisou a eficácia de uma preparação de *E. purpurea* contendo 0,16% de ácido chicórico e percentagem quase nula de alquilamidas e equinacósido na prevenção da constipação em 92 voluntários, inoculados com rinovírus tipo-23 após duas semanas de tratamento. Os resultados, face ao grupo de controlo, não apresentaram diferenças com relevância estatística no que diz respeito ao desenvolvimento da infeção nem à gravidade dos sintomas registados (Turner et al, 2000).

Foi testada a eficácia de uma preparação de *E. purpurea* (22% de base alcoólica) na prevenção da constipação, num ensaio clínico randomizado, duplamente cego e controlado por placebo, em 48 voluntários, durante 14 dias, 7 dias antes e 7 dias após a sua inoculação intranasal com Rinovírus tipo-39. Os resultados mostraram que a eficácia da preparação na prevenção da infeção não foi efetiva ( $p = 0,114$ ) nem apresentou

diferenças estatisticamente relevantes no grau de severidade dos sintomas face ao grupo placebo (Sperber et al, 2004).

Três preparações extraídas das raízes da espécie *Echinacea angustifolia* (um extrato continha 73,8% de alquilamidas; o segundo extrato alcoólico (60%) continha 48,9% de polissacáridos, 2,3% de alquilamidas e 0,16 mg/mL de cinarina; o terceiro extrato com 20% de base alcoólica continha 42,1% de polissacáridos e 1% de alquilamidas) foram utilizadas num estudo que envolveu 399 voluntários, sendo estes submetidos a tratamento com uma das preparações ou placebo durante 7 dias antes e 5 dias após a inoculação com Rinovírus tipo-39. Concluiu-se que nenhuma das preparações apresentou resultados clinicamente significativos no que diz respeito ao não desenvolvimento da infeção e gravidade dos sintomas observados (Turner et al, 2005).

Num ensaio clínico randomizado, duplamente cego e controlado por placebo foi analisada a profilaxia de infeções do trato respiratório superior em 58 voluntários submetidos a um tratamento com cápsulas contendo extrato de *E. purpurea* ou placebo, durante 8 semanas, não se obtendo resultados clinicamente significativos no que diz respeito às frequências de infeções do trato respiratório superior e severidade dos sintomas face ao grupo de controlo (O’Neil et al, 2008).

Ao longo de 4 meses, um ensaio clínico também randomizado, duplamente cego e controlado por placebo avaliou a capacidade profilática de um extrato de *E. purpurea* (extrato de base alcoólica, 95% de partes aéreas e 5% de raízes) na constipação em 755 voluntários saudáveis. Neste ensaio, para além do registo dos sintomas, foram recolhidas amostras das secreções nasais dos intervenientes que consideravam estar a sofrer de sintomas relacionados com uma infeção do trato respiratório superior, de modo a poder ser confirmada a infeção viral. Obteve-se uma diferença positiva estatisticamente significativa face ao grupo de controlo, verificando-se uma diferença de 53% ( $p < 0,0001$ ) no que respeita ao número total acumulado de dias com episódio de infeção respiratória, concluindo-se deste estudo que um tratamento profilático de longo termo com o extrato estandardizado de *E. purpurea* analisado pode ser recomendado (Jawad et al, 2012).

A Tabela 5.6.1.1. sumariza os ensaios clínicos de prevenção efetuados com extratos de espécies do género *Echinacea*. É possível verificar que dos ensaios referidos no presente trabalho apenas um deles apresentou diferenças significativas entre o grupo controlo e o grupo que tomou extrato de *Echinacea*.

**Tabela 5.6.1.1.** Ensaios clínicos preventivos realizados com extratos de espécies do género *Echinacea*

| <b>Espécie Utilizada</b>                       | <b>Método de extração</b>  | <b>Duração do ensaio clínico</b> | <b>Número de voluntários</b> | <b>Variáveis analisadas</b>   | <b>Conclusão</b>  | <b>Ensaio Clínico</b>  |
|--|--|----------------------------------|------------------------------|---|---|------------------------|
| <i>E. purpurea</i><br><i>E. angustifolia</i>   | Extração alcoólica   | 3 Meses                          | 302                          | - Tempo até aparecimento da 1ª infeção respiratória<br>- Nº de participantes com pelo menos 1 infeção respiratória  | Não foram obtidos resultados estatisticamente significativos        | (Melchart et al, 1998) |
| <i>E. purpurea</i><br>+ <i>E. angustifolia</i> | Extração alcoólica   | 2 Semanas                        | 92                           | - Participantes infetados com rinovírus<br>- Severidade dos sintomas  | Não foram obtidos resultados estatisticamente significativos        | (Turner et al, 2000)   |
| <i>E. purpurea</i>                             | Extração alcoólica (22%) por prensagem                             | 14 Dias                          | 48                           | - Participantes infetados com rinovírus<br>- Severidade dos sintomas<br>- Sintomas individuais  | Não foram obtidos resultados estatisticamente significativos        | (Sperber et al, 2004)  |
| <i>E. angustifolia</i>                         | - Extração com CO <sub>2</sub><br>- Extração alcoólica a 60% e 20% | 5 Dias                           | 399                          | - Participantes infetados com rinovírus<br>- Severidade dos sintomas<br>- Marcadores pró-inflamatórios  | Não foram obtidos resultados estatisticamente significativos        | (Turner et al, 2005)   |
| <i>E. purpurea</i>                             | Não mencionado   | 8 Semanas                        | 58                           | - Nº de dias com sintomas<br>- Sintomas individuais   | Não foram obtidos resultados estatisticamente significativos        | (O'Neil et al, 2008)   |
| <i>E. purpurea</i>                             | Extração alcoólica   | 4 Meses                          | 755                          | - Nº de episódios de infeção respiratória;<br>- Utilização de medicação no tratamento das infeções;<br>- Presença de vírus respiratório confirmada laboratorialmente; | Foram obtidos resultados positivos, estatisticamente significativos | (Jawad et al, 2012)    |

### 5.6.2. Ensaio clínico de tratamento

Resultados clinicamente significativos e favoráveis para a utilização de uma preparação estandardizada de *E. purpurea* no alívio dos sintomas da constipação foram obtidos num ensaio clínico randomizado, duplamente cego e controlado por placebo, obtendo-se uma duração média dos sintomas para o grupo tratado com *E. purpurea* de 6 dias face a 9 dias para o grupo placebo ( $p = 0.0112$ ). Neste ensaio foram selecionados 80 voluntários adultos que, no momento da seleção, manifestavam os primeiros sintomas de infeção do trato respiratório superior e aos quais foi administrada a preparação em estudo durante 10 dias (Schulten et al, 2001).

Um ensaio clínico randomizado, duplamente cego e controlado por placebo do qual fizeram parte 407 crianças (2 - 11 anos de idade) analisou a eficácia de uma preparação estandardizada de *E. purpurea* na duração e gravidade dos sintomas provocados por infeções do trato respiratório superior, sendo a toma da preparação iniciada com os primeiros sintomas e com duração máxima de 10 dias. Verificou-se que, em comparação com o grupo de controlo, não foram obtidas diferenças significativas entre os grupos. É de salientar que 7,1% das crianças tratadas com a preparação de *E. purpurea* sofreu de erupções cutâneas face aos 2,1% das crianças tratadas com placebo que sofreram do mesmo efeito ( $p = 0,008$ ) (Taylor et al, 2003).

Dois ensaios clínicos, com 128 (Goel et al, 2004) e 62 voluntários (Goel et al, 2005), randomizados, duplamente cegos e controlados por placebo utilizaram a mesma preparação estandardizada de *E. purpurea* (extrato alcoólico 40%, composto por 0,25 mg/mL de alquilamidas, 2,5mg/mL de ácido chicórico e 25,5 mg/mL de polissacáridos) para avaliar a diminuição da severidade e sintomas provocados pela constipação. Nos dois ensaios foram obtidos resultados estatisticamente significativos, concluindo-se um efeito positivo na redução da gravidade dos sintomas nos grupos aos quais foi administrada a preparação face ao placebo.

Não foram obtidos resultados estatisticamente relevantes no que respeita à severidade dos sintomas e ao tempo necessário até à sua resolução ( $p = 0,73$ ) num ensaio clínico randomizado, duplamente cego e controlado por placebo que utilizou uma preparação estandardizada de *E. purpurea* cujo extrato foi obtido das partes aéreas da planta. Neste ensaio, foram selecionados 128 voluntários que tinham iniciado os primeiros sintomas de gripe com menos de 24 horas e aos quais foi dado o extrato em estudo ou o placebo para ser administrado até ao final dos sintomas ou até um máximo de 14 dias (Yale & Liu, 2004).

Uma preparação (comprimidos) contendo o equivalente a um extrato de 675 mg de raiz de *E. purpurea* e 600 mg de raiz de *E. angustifolia* e estandardizada para 2,1 mg de alquilamidas foi testada no tratamento dos sintomas da constipação num ensaio clínico randomizado, duplamente cego e controlado por placebo, onde participaram 719 voluntários (12 – 80 anos de idade) cujos primeiros sintomas de infeção do trato respiratório superior se manifestavam com menos de 24 horas. A toma dos comprimidos com o extrato ou placebo iniciou-se no primeiro dia em que se registaram os sintomas e prolongou-se durante 4 dias. Não foram obtidos resultados clinicamente relevantes face aos grupos de controlo no que diz respeito à duração e severidade dos sintomas, assim como não se registou alterações estatisticamente significativas nos níveis de IL-8 e no número de neutrófilos (Barrett et al, 2010).

A Tabela 5.6.2.1. sumariza os ensaios clínicos de tratamento efetuados com extratos de espécies do género *Echinacea*. É possível verificar que dos ensaios referidos no presente trabalho três deles apresentaram diferenças significativas entre o grupo controlo e o grupo que tomou o extrato de *Echinacea* em estudo.

**Tabela 5.6.2.1.** Ensaios clínicos de tratamento realizados com extratos de espécies do género *Echinacea*

| <b>Espécie Utilizada</b>                       | <b>Método de extração</b>              | <b>Duração do ensaio clínico</b> | <b>Número de voluntários</b> | <b>Variáveis analisadas</b>  | <b>Conclusão</b>  | <b>Ensaio Clínico</b>  |
|--|--|----------------------------------|------------------------------|--|---|------------------------|
| <i>E. purpurea</i>                             | Extrato alcoólico obtido por prensagem | 10 Dias                          | 80                           | Número de dias, duração, dos sintomas  | Foram obtidos resultados positivos, estatisticamente significativos | (Schulten et al, 2001) |
| <i>E. purpurea</i>                             | Extrato alcoólico obtido por prensagem | 4 Meses                          | 407                          | - Duração e severidade dos sintomas;<br>- Efeitos adversos;                                  | Não foram obtidos resultados estatisticamente significativos        | (Taylor et al, 2003)   |
| <i>E. purpurea</i>                             | Extrato alcoólico obtido por prensagem | Máximo de 14 dias                | 128                          | - Severidade dos sintomas;<br>- Sintomas individuais;<br>- Duração dos sintomas;             | Não foram obtidos resultados estatisticamente significativos        | (Yale & Liu, 2004)     |
| <i>E. purpurea</i>                             | Extração alcoólica                     | 7 Dias                           | 128                          | - Severidade e duração dos sintomas;   | Foram obtidos resultados positivos, estatisticamente significativos | (Goel et al, 2004)     |
| <i>E. purpurea</i>                             | Extração alcoólica                     | 7 Dias                           | 62                           | - Severidade dos sintomas;<br>- Contagem de leucócitos, neutrófilos, monócitos e células NK; | Foram obtidos resultados positivos, estatisticamente significativos | (Goel et al, 2005)     |
| <i>E. purpurea</i> +<br><i>E. angustifolia</i> | Não mencionado                         | 4 Dias                           | 719                          | - Severidade dos sintomas;<br>- Níveis de IL-8;<br>- Contagem de neutrófilos;                | Não foram obtidos resultados estatisticamente significativos        | (Barrett et al, 2010)  |

## 6. Conclusão

As espécies do género *Echinacea*, com base nos estudos *in vitro* e *in vivo* analisados, revela potencial para ser utilizada na prevenção e tratamento da constipação e gripe, uma vez que, por um lado, apresenta atividade imunomoduladora e, por outro, atividade anti-inflamatória, antiviral e bactericida. No entanto, apesar dos resultados destes estudos serem animadores, o mesmo não se verifica na maioria dos ensaios clínicos realizados. Este facto não deve ser considerado como desencorajador no que diz respeito ao potencial da planta, contudo é necessário que, em primeiro lugar sejam realizados mais estudos onde seja possível compreender quais são realmente o(s) composto(s) responsáveis por cada uma das atividades da planta e qual o seu mecanismo de atuação. Com base no conhecimento do(s) composto(s) responsáveis pelas diferentes atividades, importa verificar qual a espécie do género *Echinacea*, e conseqüentemente, quais a(s) parte(s) da planta que apresentam um melhor perfil para serem utilizadas. Relativamente aos ensaios clínicos, para que se consiga avaliar a real eficácia da planta e comparar com outros trabalhos realizados por diferentes grupos de investigadores, é de grande importância que sejam utilizadas preparações estandardizadas de Equinácea onde a sua composição química seja bem conhecida. Importa também que o número de voluntários intervenientes nos ensaios seja superior, pois esta é uma limitação presente na grande maioria dos ensaios clínicos realizados até à atualidade.

O farmacêutico, como profissional de saúde e interveniente ativo na saúde da população, tem um papel bastante importante no que respeita ao aconselhamento de medidas, tanto não farmacológicas como farmacológicas que permitam o alívio dos sintomas durante uma constipação ou gripe. Ademais, o farmacêutico deve estar atento a se os utentes pertencem ou não aos grupos de risco, devendo questionar também acerca de quais os sintomas realmente sentidos, permitindo diferenciar se existem ou não complicações associadas à infeção respiratória viral, nomeadamente uma infeção bacteriana secundária, sendo assim necessária intervenção médica.

Apesar de existirem à venda, nas farmácias, suplementos alimentares cujo principal constituinte é a Equinácea, indicados para uma potencialização do sistema imunitário, com base na revisão realizada nesta dissertação o farmacêutico ainda não

Profilaxia e tratamento, convencional e através de plantas do género *Echinacea*, da gripe e constipação

dispõe de suporte clínico suficiente que lhe permita aconselhar, com garantias de eficácia, estes suplementos.

## 7. Bibliografia

- Acosta, E. P., Flexner, C., (2011) Goodman & Gilman's: The Pharmacological Basics of Therapeutics, 12<sup>a</sup>ed., Antiviral Agents (Nonretroviral), pp. 1606-1610.
- Agyeman, P., Duppenhaler, A., Heininger, U., & Aebi, C. (2004). Influenza-associated myositis in children. *Infection*, 32(4), 199–203.
- Aiello, N., Carlini, A., Scartezzini, F., Fusani, P., Berto, C., & Dall'Acqua, S. (2015). Harvest in different years of growth influences chemical composition of *Echinacea angustifolia* roots. *Industrial Crops and Products*, 76, 1164–1168.
- Allan, G. M., & Arroll, B. (2014). Prevention and treatment of the common cold: making sense of the evidence. *CMAJ: Canadian Medical Association Journal = Journal de l'Association Medicale Canadienne*, 186(3), 190–9.
- Anónimo (2016) Infarmed - Autoridade Nacional do Medicamento e Produtos de Saúde I. P.; (2016) Prontuário Terapêutico on-line. Acedido em: 20/09/2016. Disponível em: <http://www.infarmed.pt/portal/page/portal/INFARMED/PUBLICACOES/PRONTUARIO>.
- Ardjomand-Woelkart, K., & Bauer, R. (2016). Review and Assessment of Medicinal Safety Data of Orally Used *Echinacea* Preparations. *Planta Medica*, 82(1–2), 17–31.
- Arruda, E., Pitkäranta, A., Witek, T. J., Doyle, C. A., & Hayden, F. G. (1997). Frequency and natural history of rhinovirus infections in adults during autumn. *Journal of Clinical Microbiology*, 35(11), 2864–8.
- Azevedo, A., Oliveira, A., & Fernandes, R. M. (2016). Combinações de Anti-Histamínico - Descongestionante Analgésico para a Constipação Comum. *Acta Pediátrica Portuguesa*, 47, 203–206.
- Barnes, J., Anderson, L. A., Gibbons, S., & Phillipson, J. D. (2005). *Echinacea* species (*Echinacea angustifolia* (DC.) Hell., *Echinacea pallida* (Nutt.) Nutt., *Echinacea purpurea* (L.) Moench): a review of their chemistry, pharmacology and clinical properties. *The Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 57(8), 929–54.
- Barrett, B., Brown, R., Rakel, D., Mundt, M., Bone, K., Barlow, S., & Ewers, T. (2010). *Echinacea* for Treating the Common Cold. *Annals of Internal Medicine*, 153(12), 769.
- Bauer, R., Remiger, P., & Wagner, H. (1989). Alkamides from the roots of *Echinacea angustifolia*. *Phytochemistry*, 28(2), 505–508.
- Benson, J. M., Pokorny, A. J., Rhule, A., Wenner, C. A., Kandhi, V., Cech, N. B., & Shepherd, D. M. (2010). *Echinacea purpurea* extracts modulate murine dendritic cell fate and function. *Food and Chemical Toxicology: An International Journal Published for the British Industrial Biological Research Association*, 48(5), 1170–7.
- Bergeron, C., & Gafner, S. (2007). Quantitative analysis of the polysaccharide and glycoprotein fractions in *Echinacea purpurea* and *Echinacea angustifolia*. by HPLC-ELSD for quality control of raw material. *Pharmaceutical Biology*, 45(2), 98–105.
- Bhattacharyya, R. P., Grad, Y. H., Hung, D. T. (2015). Harrison's Principles of Internal Medicine, 19<sup>a</sup>ed., Longo D. L., Fauci A. S., Kasper D. L., Hauser S. L., Jameson J., Loscalzo J. (Eds.). Genomics and Infectious Disease, pp. 778.

- Bochkov, Y. A., & Gern, J. E. (2016). Rhinoviruses and their receptors: implications for allergic disease. *Current Allergy and Asthma Reports*, 16(4), 30.
- Bramley, T. J., Lerner, D., & Sames, M. (2002). Productivity losses related to the common cold. *Journal of Occupational and Environmental Medicine / American College of Occupational and Environmental Medicine*, 44(9), 822–9.
- Cech, N. B., Kandhi, V., Davis, J. M., Hamilton, A., Eads, D., & Laster, S. M. (2010). Echinacea and its alkylamides: Effects on the influenza A-induced secretion of cytokines, chemokines, and PGE2 from RAW 264.7 macrophage-like cells. *International Immunopharmacology*, 10(10), 1268–1278.
- Centers for Disease Control and Prevention (CDC) (2016). People at High Risk of Developing Flu-Related Complications. Acedido a: 14/09/2016. Disponível em: [http://www.cdc.gov/flu/about/disease/high\\_risk.htm](http://www.cdc.gov/flu/about/disease/high_risk.htm)
- Centers for Disease Control and Prevention (CDC). (2007). Severe methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* community-acquired pneumonia associated with influenza--Louisiana and Georgia, December 2006-January 2007. *MMWR. Morbidity and Mortality Weekly Report*, 56(14), 325–9.
- Chan, M. C. W., Lee, N., Chan, P. K. S., Leung, T. F., & Sung, J. J. Y. (2009). Fecal detection of influenza A virus in patients with concurrent respiratory and gastrointestinal symptoms. *Journal of Clinical Virology*, 45(3), 208–211.
- Clark, N. M., & Lynch, J. P. (2011). Influenza: epidemiology, clinical features, therapy, and prevention. *Seminars in Respiratory and Critical Care Medicine*, 32(4), 373–92.
- Classen, B., Witthohn, K., & Blaschek, W. (2000). Characterization of an arabinogalactan-protein isolated from pressed juice of *Echinacea purpurea* by precipitation with the beta-glucosyl Yariv reagent. *Carbohydrate Research*, 327(4), 497–504.
- Clifford, L. J., Nair, M. G., Rana, J., & Dewitt, D. L. (2002). Bioactivity of alkamides isolated from *Echinacea purpurea* (L.) Moench. *Phytomedicine*, 9(3), 249–253.
- Cohen, Y. Z., Dolin, R. (2015). Harrison's Principles of Internal Medicine, 19<sup>a</sup>ed., Longo D. L., Fauci A. S., Kasper D. L., Hauser S. L., Jameson J., Loscalzo J. (Eds.). Influenza, pp. 1211-1213.
- Cox, N. J., & Subbarao, K. (2000). Global Epidemiology of Influenza: Past and Present. *Annual Review of Medicine*, 51(1), 407–421.
- Crosby, A. W. (2003). America's Forgotten Pandemic. The Influenza of 1918, 2<sup>a</sup> ed, Cambridge: Cambridge University Press.
- D'Cruze, H., Arroll, B., & Kenealy, T. (2009). Is intranasal zinc effective and safe for the common cold? A systematic review and meta-analysis. *Journal of Primary Health Care*, 1(2), 134–9.
- Decreto-Lei n.º. 560/99 de 18 de Dezembro, Diário da República (1<sup>a</sup> Série - A, n.º 293, de 18 de Dezembro de 1999), Portugal.
- Decreto-Lei n.º. 136/2003 de 28 de Junho, Diário da República (1<sup>a</sup> Série - A, n.º 147, de 28 de Junho de 2003), Portugal.
- Decreto-Lei n.º. 167/2004 de 7 de Julho, Diário da República (1<sup>a</sup> Série - A, n.º 158, de 7 de Julho de 2004), Portugal.

- Decreto-Lei n.º 296/2007 de 22 de Agosto, Diário da República (1.ª série - n.º 161, de 22 de Agosto de 2007), Portugal.
- Decreto-Lei n.º 118/2015 de 23 de junho, Diário da República (1.ª série - N.º 120 - 23 de Junho de 2015), Portugal.
- Despacho n.º 15262/2012 da Direção-Geral de Alimentação e Veterinária (DGAV), Diário da República (2ª Série, n.º 230, de 28 de Novembro de 2012), Portugal.
- De Sutter, A. I. M., Saraswat, A., & van Driel, M. L. (2015). Antihistamines for the common cold. *The Cochrane Database of Systematic Reviews*, (11).
- Dennehy, C. E., Tsourounis, C. (2012). *Basic & Clinical Pharmacology*, 12ªed., Katzung B. G. (Ed). *Dietary Supplements & Herbal Medications*, pp.1126.
- Dimmock, N. J., Easton, A. J., Leppard, K. N. (2007a) *Introduction to Modern Virology*, 7ªed., *The process of infection: IIB. Genome replication in RNA viruses*, pp. 105-106
- Dolin, R. (2015). *Harrison's Principles of Internal Medicine*, 19ªed., Longo D. L., Fauci A. S., Kasper D. L., Hauser S. L., Jameson J., Loscalzo J. (Eds.). *Common Viral Respiratory Infections*, pp. 1203.
- Eby, G. A. (2010). Zinc lozenges as cure for the common cold--a review and hypothesis. *Medical Hypotheses*, 74(3), 482–92.
- Eccles, R. (2005). Understanding the symptoms of the common cold and influenza. *The Lancet Infectious Diseases*, 5(11), 718–725.
- European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC). (2015). *Seasonal Influenza*. Acedido a: 14/09/2016. Disponível em: [http://ecdc.europa.eu/en/healthtopics/seasonal\\_influenza/Documents/aer-seasonal\\_influenza-2016.pdf](http://ecdc.europa.eu/en/healthtopics/seasonal_influenza/Documents/aer-seasonal_influenza-2016.pdf)
- Estabragh, Z. R., & Mamas, M. A. (2013). The cardiovascular manifestations of influenza: a systematic review. *International Journal of Cardiology*, 167(6), 2397–403.
- Felício, J. A.; *Estudo de mercado: Consumo de suplementos alimentares em Portugal*, Centro de Estudos de Gestão do ISEG; Lisboa; 2006.
- Ferreira, S. S., Passos, C. P., Madureira, P., Vilanova, M., & Coimbra, M. A. (2015). Structure-function relationships of immunostimulatory polysaccharides: A review. *Carbohydrate Polymers*, 132, 378–96.
- Fiore, A. E., Shay, D. K., Broder, K., Iskander, J. K., Uyeki, T. M., Mootrey, G., Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP). (2008). Prevention and control of influenza: recommendations of the Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP), 2008. *MMWR. Recommendations and Reports : Morbidity and Mortality Weekly Report. Recommendations and Reports / Centers for Disease Control*, 57(RR-7), 1–60.
- Fiore, A. E., Fry, A., Shay, D., Gubareva, L., Bresee, J. S., & Uyeki, T. M. (2011). *Antiviral Agents for the Treatment and Chemoprophylaxis of Influenza: Recommendations of the Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP) (Vol. 60)*. Atlanta.
- Fodor, E. (2013). The RNA polymerase of influenza a virus: mechanisms of viral transcription and replication. *Acta Virologica*, 57(2), 113–22.

- Fuchs, R., & Blaas, D. (2010). Uncoating of human rhinoviruses. *Reviews in Medical Virology*, 20(5), 281–297.
- George, F. (2014). História da Gripe. Ministério da Saúde - Direcção-Geral da Saúde.
- Gertsch, J., Schoop, R., Kuenzle, U., & Suter, A. (2004). Echinacea alkylamides modulate TNF-alpha gene expression via cannabinoid receptor CB2 and multiple signal transduction pathways. *FEBS Letters*, 577(3), 563–9.
- Goel, V., Chang, C., Slama, J. V., Barton, R., Bauer, R., Gahler, R., & Basu, T. K. (2002). Alkylamides of *Echinacea purpurea* stimulate alveolar macrophage function in normal rats. *International Immunopharmacology*, 2(2), 381–387.
- Goel, V., Lovlin, R., Barton, R., Lyon, M. R., Bauer, R., Lee, T. D. G., & Basu, T. K. (2004). Efficacy of a standardized echinacea preparation (Echinilin<sup>TM</sup>) for the treatment of the common cold: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Journal of Clinical Pharmacy and Therapeutics*, 29(1), 75–83.
- Goel, V., Lovlin, R., Chang, C., Slama, J. V., Barton, R., Gahler, R., ... Basu, T. K. (2005). A proprietary extract from the echinacea plant (*Echinacea purpurea*) enhances systemic immune response during a common cold. *Phytotherapy Research*, 19(8), 689–694.
- Grohskopf, L. A., Sokolow, L. Z., Olsen, S. J., Bresee, J. S., Broder, K. R., & Karron, R. A. (2015). Prevention and control of influenza with vaccines: recommendations of the advisory committee on immunization practices, United States, 2015-16 Influenza season. *MMWR. Morbidity and Mortality Weekly Report*, 64(30), 818–25.
- Guiomar, R., Costa, I., Cristóvão, P., Pechirra, P., Rodrigues, A. P., & Nunes, B. (2015). Programa Nacional de Vigilância da Gripe: relatório da época 2014/2015. Lisboa: Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge, IP.
- Gwaltney, J. M. (2002). Clinical significance and pathogenesis of viral respiratory infections. *The American Journal of Medicine*, 112(6A), 13S–18S.
- Hall, H., Fahlman, M. M., & Engels, H. J. (2007). *Echinacea purpurea* and mucosal immunity. *International Journal of Sports Medicine*, 28(9), 792–7.
- Halloran, M. E., & Longini, I. M. J. (2014). Emerging, evolving, and established infectious diseases and interventions. *Science (New York, N.Y.)*, 345(6202), 1292–4.
- Harris, J. M., & Gwaltney, J. M. (1996). Incubation periods of experimental rhinovirus infection and illness. *Clinical Infectious Diseases: An Official Publication of the Infectious Diseases Society of America*, 23(6), 1287–90.
- Hemilä, H., & Chalker, E. (2013). Vitamin C for preventing and treating the common cold. *The Cochrane Database of Systematic Reviews*, (1).
- Hudson, J. B. (2012). Applications of the phytomedicine *Echinacea purpurea* (purple coneflower) in infectious diseases. *Journal of Biomedicine and Biotechnology*, 2012, 1–16.
- International Committee on Taxonomy of Viruses (ICTV). (2015). Master Species List 2015. Acedido a: 14/09/2016. Disponível em: <https://talk.ictvonline.org/files/master-species-lists/m/msl/5945>
- Institute for Molecular Virology. (2011). Human Rhinovirus 14. Acedido a: 14/09/2016. Disponível em: [http://www.virology.wisc.edu/virusworld/images/r14\\_rgb.GIF](http://www.virology.wisc.edu/virusworld/images/r14_rgb.GIF)

- Jawad, M., Schoop, R., Suter, A., Klein, P., Eccles, R., Jawad, M., Eccles, R. (2012). Safety and efficacy profile of *Echinacea purpurea* to prevent common cold episodes: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2012, 1–7.
- Juvén, T., Mertsola, J., Waris, M., Leinonen, M., Meurman, O., Roivainen, M., Ruuskanen, O. (2000). Etiology of community-acquired pneumonia in 254 hospitalized children. *The Pediatric Infectious Disease Journal*, 19(4), 293–8.
- Kallen, A. J., Brunkard, J., Moore, Z., Budge, P., Arnold, K. E., Fosheim, G., Hageman, J. (2009). *Staphylococcus aureus* community-acquired pneumonia during the 2006 to 2007 influenza season. *Annals of Emergency Medicine*, 53(3), 358–65.
- Kapoor, S., Dhama, K., eds. (2014) *Insight into Influenza Viruses of Animals and Humans. Properties of Influenza Viruses*, pp. 7-11
- Karsch-Völk, M., Barrett, B., Kiefer, D., Bauer, R., Ardjomand-Woelkart, K., & Linde, K. (2014). *Echinacea* for preventing and treating the common cold. *The Cochrane Database of Systematic Reviews*, 2.
- Kennedy, J. L., Turner, R. B., Braciale, T., Heymann, P. W., & Borish, L. (2012). Pathogenesis of rhinovirus infection. *Current Opinion in Virology*, 2(3), 287–93.
- Khetsuriani, N., Kazerouni, N. N., Erdman, D. D., Lu, X., Redd, S. C., Anderson, L. J., & Teague, W. G. (2007). Prevalence of viral respiratory tract infections in children with asthma. *The Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 119(2), 314–21.
- Kim, S. Y., Chang, Y.-J., Cho, H. M., Hwang, Y.-W., & Moon, Y. S. (2015). Non-steroidal anti-inflammatory drugs for the common cold. *The Cochrane Database of Systematic Reviews*, (9).
- L’Huillier, A. G., Tapparel, C., Turin, L., Boquete-Suter, P., Thomas, Y., & Kaiser, L. (2015). Survival of rhinoviruses on human fingers. *Clinical Microbiology and Infection: The Official Publication of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*, 21(4)
- Lee, N., Wong, C. K., Chan, P. K. S., Lindegardh, N., White, N. J., Hayden, F. G., Hui, D. S. C. (2010). Acute encephalopathy associated with Influenza A infection in adults. *Emerging Infectious Diseases*, 16(1), 139–42.
- Lessler, J., Reich, N. G., Brookmeyer, R., Perl, T. M., Nelson, K. E., & Cummings, D. A. T. (2009). Incubation periods of acute respiratory viral infections: a systematic review. *The Lancet Infectious Diseases*, 9(5), 291–300.
- Lienert, D., Anklam, E., Panne, U. (1998). Gas-chromatography-mass spectral analysis of roots of *Echinacea* species and classification by multivariate data analysis, 9(2), 88–98.
- Lissiman, E., Bhasale, A. L., & Cohen, M. (2014). Garlic for the common cold. *The Cochrane Database of Systematic Reviews*, 11.
- Luettig, B., Steinmüller, C., Gifford, G. E., Wagner, H., & Lohmann-Matthes, M. L. (1989). Macrophage activation by the polysaccharide arabinogalactan isolated from plant cell cultures of *Echinacea purpurea*. *Journal of the National Cancer Institute*, 81(9), 669–75.
- Mäkelä, M. J., Puhakka, T., Ruuskanen, O., Leinonen, M., Saikku, P., Kimpimäki, M., Arstila, P. (1998). Viruses and bacteria in the etiology of the common cold. *Journal of Clinical Microbiology*, 36(2), 539–42.

- Matthias, A., Addison, R. S., Penman, K. G., Dickinson, R. G., Bone, K. M., & Lehmann, R. P. (2005). *Echinacea* alkamide disposition and pharmacokinetics in humans after tablet ingestion. *Life Sciences*, 77(16), 2018–2029.
- Matthias, A., Blanchfield, J. T., Penman, K. G., Toth, I., Lang, C.-S., Voss, J. J., & Lehmann, R. P. (2004). Permeability studies of alkylamides and caffeic acid conjugates from *Echinacea* using a Caco-2 cell monolayer model. *Journal of Clinical Pharmacy and Therapeutics*, 29(1), 7–13.
- Mazza, G., & Cottrell, T. (1999). Volatile components of roots, stems, leaves, and flowers of *Echinacea* species. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47(8), 3081–5.
- McCormick, D. B. (2010). Vitamin/mineral supplements: of questionable benefit for the general population. *Nutrition Reviews*, 68(4), 207–13.
- McDonald, S. M., Nelson, M. I., Turner, P. E., & Patton, J. T. (2016). Reassortment in segmented RNA viruses: mechanisms and outcomes. *Nature Reviews. Microbiology*, 14(7), 448–60.
- McIntyre, C. L., Knowles, N. J., & Simmonds, P. (2013). Proposals for the classification of human rhinovirus species A, B and C into genotypically assigned types. *Journal of General Virology*, 94(8), 1791–1806.
- Medina, R. A., & García-Sastre, A. (2011). Influenza A viruses: new research developments. *Nature Reviews Microbiology*, 9(8), 590–603.
- Melchart, D., Walther, E., Linde, K., Brandmaier, R., & Lersch, C. (1998). *Echinacea* root extracts for the prevention of upper respiratory tract infections: a double-blind, placebo-controlled randomized trial. *Archives of Family Medicine*, 7(6), 541–5.
- Mikulášová, A., Varecková, E., & Fodor, E. (2000). Transcription and replication of the influenza A virus genome. *Acta Virologica*, 44(5), 273–82.
- Minodier, L., Charrel, R. N., Ceccaldi, P.-E., van der Werf, S., Blanchon, T., Hanslik, T., Rahman, S. (2015). Prevalence of gastrointestinal symptoms in patients with influenza, clinical significance, and pathophysiology of human influenza viruses in faecal samples: what do we know? *Virology Journal*, 12(1), 215.
- Mistríková, I., & Vaverková, Š. (2006). *Echinacea* - chemical composition, immunostimulatory activities and use. *Journal of Botany*, 16(16), 11–26.
- Mitscher, L. A., (2004) *Herbal and Traditional Medicine Molecular Aspects of Health* (1<sup>st</sup>ed), Packer, L., Ong, C N., Halliwell, B., (Eds), *Echinacea and Immunoestimulation*, pp. 723-724
- Müller-Jakic, B., Breu, W., Pröbstle, A., Redl, K., Greger, H., & Bauer, R. (1994). In vitro inhibition of cyclooxygenase and 5-lipoxygenase by alkamides from *Echinacea* and *Achillea* species. *Planta Medica*, 60(1), 37–40.
- Negri, R. (2015). Polyacetylenes from terrestrial plants and fungi: Recent phytochemical and biological advances. *Fitoterapia*, 106, 92–109.
- Noah, T. L., Henderson, F. W., Wortman, I. A., Devlin, R. B., Handy, J., Koren, H. S., & Becker, S. (1995). Nasal cytokine production in viral acute upper respiratory infection of childhood. *The Journal of Infectious Diseases*, 171(3), 584–92.
- O’Neil, J., Hughes, S., Lourie, A., & Zweifler, J. (2008). Effects of echinacea on the frequency of upper respiratory tract symptoms: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Annals of Allergy, Asthma & Immunology : Official Publication of the American College of Allergy, Asthma, & Immunology*, 100(4), 384–8.

- Orientação nº 007/2015 de 26 de Janeiro da Direção-Geral da Saúde. Gripe sazonal, terapêutica, quimioprofilaxia, (2015).
- Orientação nº 009/2015 de 25 de Setembro da Direção-Geral da Saúde. Vacinação contra a gripe com a vacina trivalente para a época 2015/2016, (2015).
- Palmenberg, A. C., Rathe, J. A., & Liggett, S. B. (2010). Analysis of the complete genome sequences of human rhinovirus. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 125(6), 1190–1199.
- Parry-Ford, F., Zambon, M.; Pebody, R.; Dabrera, G.; Cleary, P.; Ellis, J., et al. (2015) PHE guidance on use of antiviral agents for the treatment and prophylaxis of influenza (2015-16). Version 6.0 Public Health England. August 2015. Acedido em: 20/09/2016. Disponível em: [https://www.gov.uk/government/uploads/system/uploads/attachment\\_data/file/457735/PHE\\_guidance\\_antivirals\\_influenza\\_2015\\_to\\_2016.pdf](https://www.gov.uk/government/uploads/system/uploads/attachment_data/file/457735/PHE_guidance_antivirals_influenza_2015_to_2016.pdf)
- Perry, N. B., Burgess, E. J., & Glennie, V. L. (2001). *Echinacea* standardization: analytical methods for phenolic compounds and typical levels in medicinal species. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49(4), 1702–6.
- Pietta, P., Mauri, P., & Bauer, R. (1998). MEKC analysis of different *Echinacea* species. *Planta Medica*, 64(7), 649–52.
- Pinto, L. M., (2002) Medicamentos não Prescritos. Aconselhamento Farmacêutico, 2ªed., Associação Nacional de Farmácia (Eds) Constipação e Gripe, pp. 199-207.
- Pleschka, S., Stein, M., Schoop, R., & Hudson, J. B. (2009). Anti-viral properties and mode of action of standardized *Echinacea purpurea* extract against highly pathogenic avian influenza virus (H5N1, H7N7) and swine-origin H1N1 (S-OIV). *Virology Journal*, 6, 197.
- Potter, C. W. (2001). A history of influenza. *Journal of Applied Microbiology*, 91(4), 572–579.
- Raduner, S., Majewska, A., Chen, J.-Z., Xie, X.-Q., Hamon, J., Faller, B., ... Gertsch, J. (2006). Alkylamides from *Echinacea* are a new class of cannabinomimetics. Cannabinoid type 2 receptor-dependent and -independent immunomodulatory effects. *The Journal of Biological Chemistry*, 281(20), 14192–206.
- Raposo, H. A. S. N., & Caetano, L. A. (2011). Um olhar interdisciplinar sobre os suplementos alimentares: reconfiguração dos papéis profissionais no contexto das novas tendências de consumo terapêutico. *Saúde E Transformação Social*, 1(3), 12–22.
- Rubin, M. A., Ford, L. C., Gonzales, R. (2015). Harrison's Principles of Internal Medicine, 19ªed., Longo D. L., Fauci A. S., Kasper D. L., Hauser S. L., Jameson J., Loscalzo J. (Eds.). Sore Throat, Earache, and Upper Respiratory Symptoms, pp. 225.
- Samji, T. (2009). Influenza A: understanding the viral life cycle. *The Yale Journal of Biology and Medicine*, 82(4), 153–9.
- Santos, LA, Correia, V., Giria, M., Pedro, S., MM, S., ... Rebelo-de-Andrade, H. (2011). Genetic and antiviral drug susceptibility profiles of pandemic A(H1N1)v Influenza virus circulating in Portugal. *Influenza and Other Respiratory Viruses*, 5(Suppl.1), 294–300.
- Schapowal, A., Klein, P., & Johnston, S. L. (2015). Echinacea reduces the risk of recurrent respiratory tract infections and complications: A meta-analysis of randomized controlled trials. *Advances in Therapy*, 32(3), 187–200.

- Schulten, B., Bulitta, M., Ballering-Brühl, B., Köster, U., & Schäfer, M. (2001). Efficacy of *Echinacea purpurea* in patients with a common cold. A placebo-controlled, randomised, double-blind clinical trial. *Arzneimittel-Forschung*, 51(7), 563–8.
- Science, M., Johnstone, J., Roth, D. E., Guyatt, G., & Loeb, M. (2012). Zinc for the treatment of the common cold: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *CMAJ : Canadian Medical Association Journal = Journal de l'Association Medicale Canadienne*, 184(10), E551-61.
- Seida, J. K., Durec, T., & Kuhle, S. (2011). North American (*Panax quinquefolius*) and Asian Ginseng (*Panax ginseng*) Preparations for prevention of the common cold in healthy adults: A systematic review. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine : eCAM*, 2011.
- Sharma, M., Arnason, J. T., & Hudson, J. B. (2006). *Echinacea* extracts modulate the production of multiple transcription factors in uninfected cells and rhinovirus-infected cells. *Phytotherapy Research*, 20(12), 1074–1079.
- Sharma, M., Schoop, R., & Hudson, J. B. (2010a). The efficacy of *Echinacea* in a 3-D tissue model of human airway epithelium. *Phytotherapy Research : PTR*, 24(6), 900–4.
- Sharma, M., Vohra, S., Arnason, J. T., & Hudson, J. B. (2008). *Echinacea* extracts contain significant and selective activities against human pathogenic bacteria. *Pharmaceutical Biology*, 46(1–2), 111–116.
- Sharma, S. M., Anderson, M., Schoop, S. R., & Hudson, J. B. (2010b). Bactericidal and anti-inflammatory properties of a standardized *Echinacea* extract (Echinaforce®): Dual actions against respiratory bacteria. *Phytomedicine*, 17(8–9), 563–568.
- Swiss Institute of Bioinformatics (SIB). (2016). Influenza Virus A. Acedido a: 14/09/2016. Disponível em: [http://viralzone.expasy.org/all\\_by\\_species/6.html](http://viralzone.expasy.org/all_by_species/6.html)
- Sloley, B. D., Urichuk, L. J., Tywin, C., Coutts, R. T., Pang, P. K., & Shan, J. J. (2001). Comparison of chemical components and antioxidants capacity of different *Echinacea* species. *The Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 53(6), 849–57.
- Smith, S. M., Schroeder, K., & Fahey, T. (2014). Over-the-counter (OTC) medications for acute cough in children and adults in community settings. *The Cochrane Database of Systematic Reviews*, (11).
- Sperber, S. J., Shah, L. P., Gilbert, R. D., Ritchey, T. W., & Monto, A. S. (2004). *Echinacea purpurea* for prevention of experimental rhinovirus colds. *Clinical Infectious Diseases : An Official Publication of the Infectious Diseases Society of America*, 38(10), 1367–71.
- STARR, I. (1976). Influenza in 1918: Recollections of the epidemic in Philadelphia. *Annals of Internal Medicine*, 85(4), 516–518.
- Steinmüller, C., Roesler, J., Gröttrup, E., Franke, G., Wagner, H., & Lohmann-Matthes, M. L. (1993). Polysaccharides isolated from plant cell cultures of *Echinacea purpurea* enhance the resistance of immunosuppressed mice against systemic infections with *Candida albicans* and *Listeria monocytogenes*. *International Journal of Immunopharmacology*, 15(5), 605–14.
- Stimpel, M., Proksch, A., Wagner, H., & Lohmann-Matthes, M. L. (1984). Macrophage activation and induction of macrophage cytotoxicity by purified polysaccharide fractions from the plant *Echinacea purpurea*. *Infection and Immunity*, 46(3), 845–9.
- Stiver, G. (2003). The treatment of influenza with antiviral drugs. *CMAJ : Canadian Medical Association Journal = Journal de l'Association Medicale Canadienne*, 168(1), 49–56.

- Studahl, M. (2003). Influenza virus and CNS manifestations. *Journal of Clinical Virology : The Official Publication of the Pan American Society for Clinical Virology*, 28(3), 225–32.
- Sweetman, S. C., ed. (2009a). *Martindale: The Complete Drug Reference* (36th ed). Analgesics Anti-inflammatory Drugs and Antipyretics, pp. 23.
- Sweetman, S. C., ed. (2009b). *Martindale: The Complete Drug Reference* (36th ed). Antivirals, pp. 850-860.
- Sweetman, Sean C, ed. (2009c). *Martindale: The Complete Drug Reference* (36th ed). Cough Suppressants Expectorants Mucolytics and Nasal Decongestants, pp.1548.
- Taubenberger, J. K., & Morens, D. M. (2008). The pathology of influenza virus infections. *Annual Review of Pathology*, 3, 499–522.
- Taverner, D., & Latte, G. J. (2009). Nasal decongestants for the common cold. *The Cochrane Database of Systematic Reviews*, (2).
- Taylor, I., Taylor, F., Croup, F., Hudson, J., Vitnalanathan, S., Kang, L., Arnason, J. T. (2005). characterization of antiviral activities in *Echinacea* root preparations. *Pharmaceutical Biology*, 43(9), 790–796.
- Taylor, J. A., Weber, W., Standish, L., Quinn, H., Goesling, J., McGann, M., & Calabrese, C. (2003). Efficacy and safety of *Echinacea* in treating upper respiratory tract infections in children: a randomized controlled trial. *JAMA*, 290(21), 2824–30.
- Thomas, Y., Boquete-Suter, P., Koch, D., Pittet, D., & Kaiser, L. (2014). Survival of influenza virus on human fingers. *Clinical Microbiology and Infection : The Official Publication of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*, 20(1), O58-64.
- Toovey, S. (2008). Influenza-associated central nervous system dysfunction: a literature review. *Travel Medicine and Infectious Disease*, 6(3), 114–24.
- Treanor, J. (2004). Influenza vaccine - outmaneuvering antigenic shift and drift. *New England Journal of Medicine*, 350(3), 218–220.
- Trivedi, R., & Salvo, M. C. (2016). Utilization and safety of common over-the-counter dietary/nutritional supplements, herbal agents, and homeopathic compounds for disease prevention. *The Medical Clinics of North America*, 100(5), 1089–99.
- Turner, R. B. (1997). Epidemiology, pathogenesis, and treatment of the common cold. *Annals of Allergy, Asthma & Immunology : Official Publication of the American College of Allergy, Asthma, & Immunology*, 78(6), 531-9-40.
- Turner, R. B., Bauer, R., Woelkart, K., Hulsey, T. C., & Gangemi, J. D. (2005). An evaluation of *Echinacea angustifolia* in experimental rhinovirus infections. *The New England Journal of Medicine*, 353(4), 341–8.
- Turner, R. B., Riker, D. K., & Gangemi, J. D. (2000). Ineffectiveness of *echinacea* for prevention of experimental rhinovirus colds. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 44(6), 1708–9.
- Vimalanathan, S., Arnason, J. T., & Hudson, J. B. (2009). Anti-inflammatory activities of *Echinacea* extracts do not correlate with traditional marker components. *Pharmaceutical Biology*, 47(5), 430–435.

- Vohra, S. ., Adams, D. ., Hudson, J. B. ., Moore, J. A. ., Vimalanathan, S. ., Sharma, M. ., Lee, T. D. G. (2009). Selection of natural health products for clinical trials: a preclinical template. *Canadian Journal of Physiology and Pharmacology*, 87, 371–378.
- Volovitz, B., Faden, H., & Ogra, P. L. (1988). Release of leukotriene C4 in respiratory tract during acute viral infection. *The Journal of Pediatrics*, 112(2), 218–22.
- Wang, C.-Y., Staniforth, V., Chiao, M.-T., Hou, C.-C., Wu, H.-M., Yeh, K.-C., Yang, N. (2008). Genomics and proteomics of immune modulatory effects of a butanol fraction of *Echinacea purpurea* in human dendritic cells. *BMC Genomics*, 9(1), 479.
- Westfall, T. C., Westfall, D. P., (2011) Goodman & Gilman's: The Pharmacological Basics of Therapeutics, 12ªed., Adrenergic Agonists and Antagonist, pp. 302.
- World Health Organization (WHO). (2014). Influenza (Seasonal). Acedido a: 14/09/2016. Disponível em: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs211/en/>
- World Health Organization (WHO). (2015). Recommended composition of influenza virus vaccines for use in the 2015-2016 northern hemisphere influenza season. Acedido a: 14/09/2016. Disponível em: [http://www.who.int/influenza/vaccines/virus/recommendations/2015\\_16\\_north/en/](http://www.who.int/influenza/vaccines/virus/recommendations/2015_16_north/en/)
- World Health Organization (WHO). (2016). Infectious diseases. Acedido a: 14/09/2016. Disponível em: [http://www.who.int/topics/infectious\\_diseases/en/](http://www.who.int/topics/infectious_diseases/en/)
- Winther, B., Gwaltney, J. M., Mygind, N., Turner, R. B., Hendley, J. O., Turner RB, Winther B, Hendley JO, et al, ... P, B. (1986). Sites of rhinovirus recovery after point inoculation of the upper airway. *JAMA: The Journal of the American Medical Association*, 256(13), 1763–1767.
- Yale, S. H., & Liu, K. (2004). *Echinacea purpurea* therapy for the treatment of the common cold: a randomized, double-blind, placebo-controlled clinical trial. *Archives of Internal Medicine*, 164(11), 1237–41.
- Zhu, L., Lee, P.-K., Lee, W.-M., Zhao, Y., Yu, D., & Chen, Y. (2009). Rhinovirus-induced major airway mucin production involves a novel TLR3-EGFR-dependent pathway. *American Journal of Respiratory Cell and Molecular Biology*, 40(5), 610–9.