

Mauro José Costa Salles

**VACINAÇÃO CONTRA OS VÍRUS INFLUENZA A E B EM
RECEPTORES DE TRANSPLANTE RENAL. ESTUDO DA
RESPOSTA HUMORAL E DA VIGILÂNCIA DE OUTRAS
VIROSES RESPIRATÓRIAS.**

Tese apresentada ao Curso de Pós-Graduação da Faculdade de
Ciências Médicas da Santa Casa de São Paulo para a obtenção do
título de Doutor em Medicina

São Paulo
2008

Livros Grátis

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

FICHA CATALOGRÁFICA

Preparada pela Biblioteca Central da
Faculdade de Ciências Médicas da Santa Casa de São Paulo

Salles, Mauro José Costa

Vacinação contra o vírus influenza A e B em receptores de transplante renal: estudo da resposta humoral e da vigilância de outras viroses respiratórias./ Mauro José Costa Salles. São Paulo, 2008.

Tese de Doutorado. Faculdade de Ciências Médicas da Santa Casa de São Paulo – Curso de pós-graduação em Medicina.

Área de Concentração: Ciências da Saúde

Orientador: Yvoty Alves dos Santos Sens

Co-Orientador: Clarisse Martins Machado

1. Influenza humana 2. Vacinação 3. Transplante de rim 4. Formação de anticorpos 5. Infecções respiratórias/diagnóstico 6. Viroses

BC-FCMSCSP/16-2008

Mauro José Costa Salles

**VACINAÇÃO CONTRA OS VÍRUS INFLUENZA A E B EM
RECEPTORES DE TRANSPLANTE RENAL: ESTUDO DA
RESPOSTA HUMORAL E DA VIGILÂNCIA DE OUTRAS
VIROSES RESPIRATÓRIAS.**

Tese apresentada ao Curso de Pós-Graduação da Faculdade de
Ciências Médicas da Santa Casa de São Paulo para a obtenção do
título de Doutor em Medicina

Área de concentração: Ciências da Saúde
Orientadora: Prof^aDr^a Yvoty Alves dos Santos Sens
Co-orientadora: Prof^aDr^a Clarisse Martins Machado

São Paulo
2008

DEDICATÓRIA

Aos meus pais, e meus irmãos
especialmente meu pai, Prof.Dr. José Maria Cardoso Salles
autodidata, estudioso, grande educador,
pelo apoio e estímulos inesgotáveis

À Universidade Estadual do Pará.

À Irmandade da Santa Casa de Misericórdia de São Paulo.

À Faculdade de Ciências Médicas da Santa Casa de São Paulo.

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. Ernani Geraldo Rolim,
Diretor da Faculdade de Ciências Médicas da Santa Casa de São Paulo, pelo incentivo para o desenvolvimento científico e acadêmico.

Ao Prof. Dr. Osmar Pedro Arbix de Camargo,
Diretor do Curso de Graduação em Medicina da Faculdade de Ciências Médicas da Santa Casa de São Paulo, pelo estímulo e pela confiança.

À Profa. Dra. Yvoty Alves dos Santos Sens,
que com sensibilidade e competência me orientou no desenvolvimento desse trabalho, criando uma relação acadêmica e pessoal irretocável.

Ao Prof. Dr. Valdir Golin,
Diretor do Departamento de Medicina da Santa Casa de São Paulo, por ter aberto os caminhos na Santa Casa, por ter acreditado em nosso potencial e pelo exemplo de profissional competente e verdadeiro. Meu respeito é incondicional.

Ao Profa. Dra. Sandra Regina S. Sprovieri,
minha gratidão pelo carinho, acolhida e por ter me permitido fortalecer uma relação de respeito e admiração desde os primeiros dias de Santa Casa, no Pronto Socorro Central.

Aos amigos do Pronto-socorro Central da Santa Casa onde tudo começou, e minha segunda casa:

Dr. Afonso Celso Pereira e Dr. Paulo Roberto Cavallaro de Azevedo, pelo apoio, amizade e todos esses anos de convivência maravilhosa.

Aos amigos do Departamento de Medicina,

Dr. José Flávio Castteluccio, Prof. Dr. Raimundo Raffaelli Filho, Prof. Dr. Renato Moraes Alves Fabbri, e Dr. Zied Rasslan, que sempre me receberam com extrema cortesia e pelo apreço e amizade que se fundaram maiores.

Ao Prof. Dr. Carlos Sérgio Chiattonne,
e todos os meus amigos da Hematologia, por terem sempre estimulado e valorizado a nossa força de trabalho, estreitando nossa amizade e aumentando minha admiração, e permitido repartir a condução dos difíceis casos clínicos de infecções em imunossuprimidos.

A Profa. Dra. Clarisse Martins Machado,
Do Instituto de Medicina Tropical, da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, pela competência com que me ajudou na realização deste estudo, fazendo o complexo parecer tão simples com extrema cortesia.

À Dra. Lucy Villas Boas,
pela valiosa ajuda na organização e realização da complexa rotina da virologia. Teria sido impossível realizar este estudo sem seus conhecimentos e ferramentas.

À amiga Regina Castro Reis,
Pela ajuda inestimável, confiança, organização, lealdade, amizade, presteza e inteligência. Sem sua ajuda não teria sido possível a realização deste trabalho.

À Giselle,
nossa amizade é um exemplo de relação humana sincera, leal. Somos uma família, que foi construída há muitos anos e se solidifica no dia a dia. Tê-la presente é fundamental.

Ao Rodrigo Contrera,

pela construção de uma relação de amizade e confiança.

Ao Laboratório Central do Hospital Central da Irmandade Santa Casa de Misericórdia de São Paulo, especialmente o Dr. Stanley Nigro, construindo cedo um caminho competente e sólido.

À Ting Hui Ching, pela incrível e difícil capacidade de transformar a estatística em um assunto apaixonante. Somente uma pessoa extremamente inteligente e de grande poder didático consegue ensinar assuntos difíceis.

Aos funcionários da Pós-Graduação da Santa Casa especialmente a, Sra Rita e a Mirtes, pela disponibilidade e competência.

À Renata Santos Albuquerque, secretária do Departamento de Medicina da Santa Casa, pela atenção e competência com que realiza seu trabalho sempre disposta a ajudar.

À bibliotecária Sadia Hussein Mustafá pela atenção e auxílio na revisão de referências.

Aos funcionários do ambulatório de Nefrologia da Santa casa de São Paulo, pelo auxílio diário no atendimento competente dos pacientes, que só é possível com uma equipe multidisciplinar.

Ao estatístico Isac, pela paciência interminável em explicar-me as análises estatísticas, sempre com um sorriso a cada retorno.

Aos pacientes que concordaram em participar deste estudo, ensinando-me que é possível ser feliz apesar da vida difícil das pessoas imunossuprimidas.

ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

ACIP: ADVISORY COMMITTEE ON IMMUNIZATION PRACTICES

ANTI-HA: ANTICORPOS ANTI-HEMAGLUTININA

AZA: AZATIOPRINA

CDC: CENTER FOR DISEASES CONTROL AND PREVENTION

CSA: CICLOSPORINA A

ELISA: ENSAIO IMUNOENZIMÁTICO

HA: HEMAGLUTININA

IFD: IMUNOFLUORESCÊNCIA DIRETA

IFN- γ : INTERFERON GAMA

IH: INIBIÇÃO DA HEMAGLUTINAÇÃO

MMF: MICOFENOLATO DE MOFETIL

NA: NEURAMINIDASE

OMS: ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE

PCR: REAÇÃO EM CADEIA DA POLIMERASE

ROC: *RECEIVER OPERATOR CHARACTERISTICS*

TAC: TACROLIMO

TMG: TÍTULO MÉDIO GEOMÉTRICO

VHB: VÍRUS DA HEPATITE B

VHC: VÍRUS DA HEPATITE C

VSR: VÍRUS SINCICIAL RESPIRATÓRIO

SUMÁRIO

1	1
INTRODUÇÃO.....	4
1.1 Revisão Bibliográfica.....	4
1.1.1 Transplante Renal e as Infecções.....	5
1.1.1.1 Epidemiologia das Infecções após o transplante.....	6
1.1.2 Viroses Respiratórias em Transplantados.....	7
1.1.3 Gripe/Influenza.....	7
1.1.3.1 Vírus influenza.....	8
1.1.3.2 Variação antigênica do vírus influenza.....	9
1.1.3.3 A doença gripe ou influenza.....	11
1.1.3.4 A gripe em imunossuprimidos.....	12
1.1.3.5 Diagnóstico laboratorial do vírus influenza.....	14
1.1.3.6 Situação epidemiológica da gripe em 2005.....	16
1.1.4 Vacinação Contra Influenza.....	16

3.2 Critérios de Inclusão e Exclusão.....	25
3.3 Dados Clínicos e Laboratoriais.....	26
3.4 Vigilância das Infecções Virais do Trato Respiratório.....	27
3.4.1 Coleta de secreções nasofaríngeas.....	27
3.4.2 Processamento das amostras de secreções respiratórias	27
3.4.3 Imunofluorescência Direta.....	28
3.5 Vacina Anti-Influenza.....	28
3.6 Avaliação da Resposta Humoral à Vacina.....	29
3.6.1 Reação de Inibição da Hemaglutinação (IH).....	30
3.7 Determinação das Taxas de Proteção e Soroconversão.....	34
3.8 Questionário de Satisfação.....	34
3.9 Análise Estatística.....	34
4	36
RESULTADOS.....	39
4.1 Resposta Sorológica à Vacina.....	39
4.1.1 Quantificação do Título Máximo Geométrico (TMG)	41

6 CONCLUSÕES.....	67
7 ANEXOS.....	68
8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	74
FONTES CONSULTADAS.....	84
RESUMO.....	85
ABSTRACT.....	86
LISTAS E APÊNDICES.....	87

1 INTRODUÇÃO

A sobrevivência de pacientes submetidos a transplantes de órgãos sólidos tem melhorado significativamente nos últimos 15 anos através da adoção de medidas preventivas, especialmente contra a rejeição do órgão enxertado. O uso de medicações imunossupressoras objetivando a prevenção de rejeição expõe os transplantados às infecções causadas por agentes endógenos e/ou exógenos (Avery, 2001). Utilizada como estratégia para a redução das complicações infecciosas, a vacinação tem o objetivo não somente de prevenir as infecções, mas também de reduzir a replicação e disseminação de patógenos. A eficácia de vacinas com vírus inativados utilizadas na fase pós-transplante, todavia é questionada, já que a concentração de anticorpos séricos induzidos pela vacina nos indivíduos transplantados é inferior à concentração de anticorpos induzidos em pessoas com o sistema imune humoral e celular normais (Rubin, 2002).

Nos transplantados, a incidência das infecções respiratórias parece estar aumentando e o espectro de agentes causadores destas doenças é amplo, tais como o vírus influenza A e B, vírus parainfluenza, adenovírus, vírus sincicial respiratório, e outros (Batiuk et al, 2002).

O quadro clínico da influenza é muitas vezes confundido com outras infecções virais respiratórias, também chamadas de resfriado comum.

Para a gripe, a vacinação, é a forma mais eficaz de prevenção. A vacina de vírus inativados contendo antígenos de influenza A e B é recomendada anualmente em decorrência da variação antigênica sofrida frequentemente pelas glicoproteínas de superfície **hemaglutinina (HA) e neuraminidase (NA)**, sendo esta a característica mais relevante dos vírus influenza. Este fato pode causar epidemias, justificando a vacinação anual contra a gripe.

No Brasil, desde 1999, as campanhas nacionais de vacinação contra a influenza são direcionadas às pessoas com mais de 60 anos de idade. Nesta época, no Estado de São Paulo, cerca de 84% das pessoas com 60 anos ou mais foram vacinadas. Houve, entretanto, redução nos índices de cobertura vacinal nos anos

posteriores. Pesquisa realizada pela Secretaria de Saúde de São Paulo revelou que a redução da adesão à vacina ocorreu principalmente pelo receio de reação à vacina e a falta de preocupação com a gripe (Moura, Silva, 2004).

Nos transplantados, a vacina de vírus inativados para influenza mostra resultados conflitantes com respeito à eficácia, já que a capacidade de induzir concentração eficiente de anticorpos séricos específicos, nem sempre é alcançada (Cavdar et al, 2003; Duchini et al, 2003). É sabido que a proteção contra as formas sintomáticas de influenza está relacionada com títulos séricos de anticorpos inibidores da hemaglutinina (HA) $\geq 1:40$. Existe uma grande variação nas taxas de resposta à vacina nos transplantados, porém, esta taxa é sempre inferior quando comparada com os indivíduos saudáveis (Vilchez et al, 2002a). Esta diferença pode estar relacionada a fatores como o uso de diferentes regimes de imunossupressão ou ao tipo de órgão transplantado (Wenting et al, 1986; Burroughs, Moscona, 2000; Rubin, 2002; *Community-acquired respiratory viruses*, 2004).

Entretanto, estudos comparativos mostram que mesmo utilizando vacinas menos antigênicas que as atuais, os transplantados renais respondem com alguma produção de anticorpos específicos e apresentam a mesma incidência de doença se comparados com a população sem imunossupressão (Alpalsch et al, 1995; Sanchez-Fructuoso et al, 2000).

Outro fato importante é a dificuldade de distinguir a gripe de outras infecções respiratórias, como o resfriado comum. Atualmente, no Brasil, não existem campanhas que informem as diferenças entre a gripe e os resfriados comuns. Não obstante, existe na população, a falsa idéia de que após a vacinação “do idoso”, estes podem evoluir com sintomas de gripe, e por isso há rejeição à vacinação. A causa da redução da adesão às campanhas de vacinação pode estar no desconhecimento do fato da vacina proteger somente contra o vírus influenza, que é o verdadeiro causador da gripe, e que outros vírus causadores de resfriado comum podem estar circulando conjuntamente com os vírus influenza, além disso que o indivíduo possa estar previamente contaminado com outros vírus no ato da vacinação.

O acompanhamento dos transplantados de rim vacinados contra influenza constitui oportunidade de se verificar a resposta à vacinação, através da produção de anticorpos e da ocorrência de episódios de gripe ou resfriado após a vacinação. A observação sistemática e estruturada destes resultados é importante considerando o crescente número de transplantes no Brasil e a limitada experiência no assunto.

Com base nos aspectos acima mencionados, este estudo se propõe a avaliar prospectivamente em pacientes transplantados renais a resposta imune humoral à vacinação contra a gripe, e realizar vigilância das infecções respiratórias com a identificação dos vírus causadores da gripe e também do resfriado comum após a imunização.

1.1 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

1.1.1 TRANSPLANTE RENAL E INFECÇÕES

O transplante de rim tornou-se o tratamento de escolha para a maioria das doenças renais avançadas, aumentando a qualidade e expectativa de vida dos pacientes na medida em que novas drogas imunossupressoras foram desenvolvidas com maior capacidade para evitar rejeições e conseqüente maior proteção ao enxerto. Porém, com a imunidade humoral e celular suprimidas de forma crônica, as infecções causadas por patógenos endógenos e exógenos tornaram-se causas frequentes de morbidade e mortalidade (Wolfe et al, 1999).

A indução farmacológica de imunossupressão aguda na fase inicial dos transplantes vem sofrendo mudanças, e a maioria dos esquemas de imunossupressão atualmente utilizados para manutenção compreende a combinação dos inibidores de calcineurina – Ciclosporina A (CsA) ou Tacrolimo (TAC), corticosteróides, e os inibidores da síntese de purinas - Micofenolato de mofetil (MMF) ou os antimetabólitos

- Azatioprina (AZA). Sob a pressão seletiva destas drogas a resposta imunológica induzida pelos linfócitos B e T estará reduzida pelo bloqueio da proliferação celular após estimulação antigênica e pela inibição da produção de citocinas inflamatórias (Halloran, 2004, Meier-Kriesche et al, 2006).

TAC parece ser superior à CsA na prevenção de rejeição, e apesar da frequência e o espectro das infecções nos transplantados não terem sofrido mudanças com a troca na prescrição continuada de CsA para o TAC, a potente imunossupressão induzida pela associação do TAC com o MMF parece estar associado ao aumento de infecções virais nos transplantados renais, especialmente a nefropatia induzida pelo poliomavírus (Binet et al, 1999; Hirsch, 2002; Halloran, 2004; Singh, 2005).

Em virtude do uso continuado destas medicações, é frequente o aparecimento de infecções causadas por diversos patógenos mesmo em fases tardias após o transplante (Duchini et al, 2003).

1.1.1.1 Epidemiologia das Infecções após o transplante

O aparecimento de infecções após o transplante de órgãos geralmente depende do grau de imunodepressão, da exposição a agentes infecciosos e dos aspectos técnicos de cada tipo de transplante. O estado global de imunodeficiência é determinado pelos esquemas de imunossupressão, pela presença de leucopenia, quebra de barreira mucosa ou cutânea, presença de coleções não drenadas, alterações metabólicas e infecções virais imunomoduladoras. A exposição às infecções, pode ser hospitalar e comunitária (Rubin et al, 2001).

Os efeitos das infecções podem ser divididos em diretos e indiretos. Os diretos são as manifestações clínicas das doenças decorrentes da invasão do microorganismo e do efeito citopático direto do patógeno. Os efeitos indiretos das infecções são múltiplos e caracterizados pela imunomodulação, pelo desencadeamento de outras infecções oportunistas, pela indução de doenças malignas, pela disseminação da resposta inflamatória e, de maneira mais evidente, pelas lesões agudas e crônicas do enxerto – incluindo os processos de rejeição. Já está demonstrada a relação entre infecção pelo citomegavírus e rejeição (Lautenschlager, 2003).

A ocorrência de infecções é classicamente dividida em três períodos distintos. Esta divisão, ainda que atualmente venha sofrendo alterações e, não possa ser analisada de forma isolada, mantém-se útil para um raciocínio clínico frente a uma doença desconhecida, assim como para a adoção de algumas medidas preventivas (Snydman, 2001).

No primeiro mês a maior parte das infecções está relacionada às complicações cirúrgicas. Os agentes mais comuns são as bactérias hospitalares e os vírus como o herpes simples do tipo I ou II.

Entre o segundo e o sexto mês ocorrem infecções mais diretamente relacionadas à imunossupressão medicamentosa. São as denominadas infecções oportunistas (*Citomegalovírus*, *Aspergillus spp*, *Pneumocystis jirovecii*). Nesta fase detecta-se as reativações de infecções latentes, como tuberculose e outras doenças regionais.

Após o sexto mês, a maioria dos pacientes apresenta-se com redução do grau de imunossupressão, e está submetido aos riscos das mesmas infecções da população geral como a gripe e os resfriados comuns. Alguns pacientes podem apresentar manifestações de infecções crônicas, como os vírus das hepatites B (VHB) e C (VHC). Outros podem ainda evoluir com processos de rejeição crônica ou episódios repetidos de rejeição aguda, necessitando aumento da imunossupressão e, desta forma, mantendo-se sob o risco de infecções oportunistas. A detecção destes casos é importante para que se mantenham ou se reiniciem as medidas profiláticas adotadas até o sexto mês (Sayegh et al, 2004).

Nos casos de retransplante, infecções características de todos os períodos podem ocorrer simultaneamente, pois o indivíduo é submetido ao procedimento cirúrgico em uso prévio do esquema imunossupressor. Na verdade o retransplante é, por si, um dos mais importantes fatores de risco para diversos tipos de infecções graves.

1.1.2 VIROSES RESPIRATÓRIAS EM TRANSPLANTADOS

Dentre inúmeras doenças infecciosas que acometem pacientes transplantados, são comuns as viroses respiratórias, causadoras de doenças como gripe e resfriado. A

incidência de infecções virais produzidas pelo vírus influenza A e B e outros vírus como o parainfluenza 1, 2 e 3, adenovírus, o vírus sincicial respiratório, pode ser subestimada, já que o diagnóstico etiológico é muitas vezes difícil de ser realizado (Vilchez et al, 2002b; Pohl et al, 1992). O diagnóstico destas infecções deve ser realizado o mais precocemente possível, sob o risco de baixa detecção se a pesquisa for realizada mais de quatro ou cinco dias após o início dos sintomas (Humar et al, 2004; Ison, 2005; Machado et al, 2003).

O quadro clínico é variado e às vezes atípico, com sintomas de infecção respiratória alta ou baixa e até dor abdominal, náuseas, vômitos e diarreia.

1.1.3 GRIPE/INFLUENZA

1.1.3.1 Vírus Influenza

O vírus influenza é envelopado, apresenta genoma com RNA de hélice única e é classificado taxonomicamente como *Orthomyxovirus*. É subdividido em três tipos maiores, tipos A, B e C (Cintra, Arruda, 2000). Possui um envoltório, com inserção de duas glicoproteínas, **hemaglutinina (HA)** e **neuraminidase (NA)**, logo abaixo há um envoltório onde se observa a matriz (membrana) e no seu interior as nucleoproteínas (NP) e o material genético. As nucleoproteínas e a proteína de matriz são tipo-específicas e permite a identificação dos vírus como influenza A, B e C. A hemaglutinina tem a finalidade de ligar o vírus ao receptor da célula hospedeira, e a neuroaminidase facilita o transporte do vírus através do muco, e expõe a HA, permitindo sua clivagem e, conseqüentemente, a infectividade. A NA também é responsável pela liberação dos vírus recém-formados da célula hospedeira.

A nomenclatura do vírus influenza leva em consideração o tipo do vírus, a localização geográfica do isolamento viral, o número de casos isolados naquela localidade, o ano do isolamento e as propriedades antigênicas da HA e da NA. Como exemplo, uma cepa de vírus influenza tipo A, isolado nas Filipinas no ano de 1982, sendo a segunda cepa descoberta no local com as proteínas de superfície H3 e N2, seria descrita como: A/Filipinas/2/82 (H3N2).

1.1.3.2 Variação antigênica do vírus influenza

A característica mais relevante dos vírus influenza é a rápida variação dos seus antígenos, o que é mais freqüente com o vírus influenza A do que com o B. A alteração da estrutura antigênica do vírus influenza gera novas cepas virais com as quais a população não havia entrado em contato, podendo ter pouca ou nenhuma resistência e causar epidemias.

Essa variação antigênica envolve principalmente as duas glicoproteínas de superfície do vírus, HA e NA. A hemaglutinina é a mais freqüentemente envolvida na variação antigênica do que a NA. Como a HA estimula a produção de anticorpos, a variação desta glicoproteína tem grande interesse epidemiológico. O vírus influenza A, além de ser o mais prevalente e o mais importante, possui 15 subtipos antigenicamente diferentes de HA e nove subtipos diferentes de NA, todos de fundamental importância na indução de anticorpos protetores. Os dois genes virais que codificam as glicoproteínas de superfície e os seis outros genes virais modificam-se e interagem com genes de outros vírus influenza A do mesmo ou de outro subtipo, e podem gerar qualquer possível combinação HA-NA (H1N1, H2N2, H3N2).

Existem dois tipos de mutações:

Drift: A variação resulta de mudanças pequenas que ocorrem continuamente dentro de um subtipo (vírus influenza A ou B) sem provocar a mudança de subtipo.

Shift: São alterações maiores no RNA viral, que resultam na produção de uma nova glicoproteína de superfície (Hemaglutinina ou Neuraminidase), isto é, são formados “novos” vírus para os quais a população não tem imunidade (apenas para o vírus influenza A). Essa é a variação responsável em grande parte pelas pandemias da gripe.

Até o momento, somente 3 subtipos de influenza A são conhecidos por terem produzido pandemias de gripe: H1N1, H2N2 e o H3N2. Após 1957, o subtipo H1N1, relacionado anteriormente à doença humana desde 1918, foi substituído pelo subtipo H2N2, o vírus da influenza Asiática, que produziu a primeira pandemia da era moderna da virologia (Kilbourne, 2006).

1.1.3.3 A doença gripe ou influenza

O período de incubação da gripe varia de um a seis dias, e os sintomas iniciam-se em dois ou três dias. O início é abrupto, com sintomas sistêmicos, tais como febre alta e contínua, calafrios, cefaléia, mialgia, prostração, mal-estar e anorexia. Tosse seca, coriza, obstrução nasal são manifestações precoces. A odinofagia ocorre em mais da metade dos casos e pode ser acompanhada por faringite bacteriana. Há também manifestações oculares como lacrimejamento e fotofobia. A intensidade e predominância das manifestações sistêmicas é a característica mais marcante e que diferencia a gripe de outras infecções do trato respiratório superior (Quadro1) (Treanor, 2000).

QUADRO1 - Diferenças clínicas entre gripe e resfriado comum.

	INFLUENZA	RESFRIADO COMUM
MANIFESTAÇÃO CLÍNICA	Sistêmica	Local (nasofaríngea)
INÍCIO DOS SINTOMAS	Abrupto	Gradual
FEBRE	Normalmente Alta	Ausente baixa
SINTOMAS	Calafrios, mialgia, tosse, dor de garganta	Coriza, congestão nasal

ADINAMIA	Importante	Leve Moderada
EVOLUÇÃO	1 a 2 semanas: tosse prolongada	Recuperação rápida
COMPLICAÇÕES	Graves (pneumonia)	Leves moderadas
OCORRÊNCIA	Sazonal: outono/inverno	Todo ano

Fonte: Treanor JJ. Influenza virus. In: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R, editors. Mandell, Douglas, and Bennett's principles and practice of infectious diseases. 5th ed. Philadelphia: Churchill Livingstone; 2000. v. 2, cap. 153, p.1823-49.

A doença é mais grave quando é causada pelo vírus influenza A, menos intensa se produzida pelo vírus influenza B, e apresentam-se de forma assintomática ou pouco sintomática quando causada pelo influenza C (Blaine et al, 1980).

Vários relatos sugerem que a forma complicada de gripe não é um evento raro nas crianças (Glezen et al, 1997; Neuzil et al, 2000a; Steininger et al, 2003; Neuzil et al, 2000b; Izurieta et al, 2000; Peltola et al, 2003).

Diversos autores chamam a atenção para o fato de o vírus sincicial respiratório (VSR) produzir infecção e complicações respiratórias semelhantes à influenza em crianças de baixa idade (Glezen et al, 1997; Neuzil et al, 2000a; Neuzil et al, 2000b; Izurieta et al, 2000). Um estudo recente em Hong Kong demonstrou que, em certos anos, o vírus influenza e não o VSR foi causa mais frequente de hospitalização em crianças menores de 2 anos de idade (Chiu et al, 2002).

Nos idosos, as complicações pulmonares são importantes, como a pneumonite viral ou a pneumonia bacteriana secundária (Modlin, 2000). A gripe é responsável por um volume significativo de internações hospitalares no Brasil (140.000 internações/ano no período 1995/2001) na faixa etária maior ou igual a 60 anos (Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde, 2004).

1.1.3.4 A gripe em imunossuprimidos

Nos transplantados, o vírus influenza pode causar pneumonite e bronquiolite obliterante ou secundariamente induzir a infecções pulmonares bacterianas e fúngicas.

Além disso, o vírus influenza parece induzir alterações imunológicas no enxerto que podem causar rejeição aguda e conseqüentemente disfunção crônica do órgão enxertado (Sanchez-Fructuoso et al, 2000; Vilchez et al, 2002a). Surtos de gripe causados pelo vírus influenza A (H3N2) em unidades de transplante já foram descritos a partir da ocorrência de um caso índice (Malavaud, 2001; Rubin, 2002). O vírus pode ser transportado para o hospital por membros da família ou pelos profissionais de saúde.

Estudos retrospectivos relatam prevalência de até 29% de gripe em transplantados (Kilbourne et al, 1973; Ljungman et al, 1993; Vilchez et al, 2002a). A maioria de relatos de infecções sintomáticas por influenza foi em transplantados renais (Mauch et al, 1994; Vilchez et al, 2002b). Gripe em transplantados adultos mostrou níveis variados de gravidade, que parece estar relacionada aos diferentes níveis de imunossupressão, aos tipos de transplante, às variações sazonais de virulência do vírus influenza e à maior produção de anticorpos IH por meio de vacinações anteriores (*Communit-acquired respiratory viruses*, 2004).

Entretanto, o fator mais importante que predispõe à infecção por influenza parece ser a produção insuficiente de anticorpos específicos contra o vírus. A proteção contra o vírus é garantida pela presença de níveis elevados de anticorpos específicos inibidores da hemaglutinina (IH) (Ljungman et al, 1993). Porém, uma resposta imunológica eficiente exige uma complexa interação da imunidade humoral e celular, tanto no local de inoculação do vírus como de forma sistêmica para que haja desenvolvimento de anticorpos séricos específicos anti-influenza, evento que é inibido pelos imunossupressores (Kilbourne et al, 1973). A redução da incidência de episódios infecciosos e suas complicações nestes pacientes devem ser alcançadas através de profilaxia e do diagnóstico precoce.

1.1.3.5 Diagnóstico Laboratorial do vírus influenza

O diagnóstico da gripe é baseado em dois aspectos relevantes: pesquisa rápida da doença aguda, ou a detecção dos subtipos virais em uma comunidade para fins de estudo epidemiológicos.

A pesquisa diagnóstica da doença aguda é realizada através do isolamento do vírus por cultura, pela detecção rápida dos antígenos virais nas secreções respiratórias, pelos testes de anticorpos monoclonais e mais recentemente pelo teste da reação em cadeia da polimerase (PCR). A pesquisa de vírus através de swab de garganta isoladamente parece ser menos efetiva se comparada com o lavado nasofaríngeo (Van Kraaij et al, 2005).

O diagnóstico definitivo da doença é realizado pela cultura em ovos embrionados ou de células que detectam o efeito citopático, hemadsorção ou hemaglutinação do vírus influenza ao redor do terceiro dia de inoculação (*Community-acquired respiratory viruses*, 2004). Duas linhagens de células denominadas *Madin-Darby Canine Kidney (MDCK)* e *LLC-MK2* são bastante eficientes para o crescimento do vírus influenza. A proliferação dos vírus em ovos embrionados de aves permanece como o método de escolha para o diagnóstico em vários centros e também para a produção de vacinas em larga escala (Carvalhanas et al, 2005).

Para reduzir o tempo de diagnóstico, foram desenvolvidas várias técnicas que utilizam pesquisa de antígenos e/ou anticorpos para detecção rápida. Na prática, os testes mais utilizados para a pesquisa rápida dos vírus em secreções respiratórias nasofaríngea ou traqueal são a imunofluorescência direta (IFD), a reação de inibição da hemaglutinação (IH), o ensaio imunoenzimático (ELISA) e a reação em cadeia da polimerase (PCR) (Ison, 2005).

Para a pesquisa de infecção ou de resposta à vacinação, utiliza-se com frequência a reação de inibição da hemaglutinação (IH) com dosagens dilucionais pareadas dos anticorpos séricos contra a HA e NA da superfície do vírus influenza. A primeira amostra deve ser coletada antes da vacinação, e a segunda amostra deverá ser colhida pelo menos após 15 dias (Ison, 2005). A HA presente na superfície dos vírus liga-se a receptores que contém ácido siálico na superfície das hemácias. Quando ambos são misturados em proporções adequadas, o vírus modifica o padrão normal de sedimentação das hemácias, sendo este aspecto designado como hemaglutinação. Ao adicionarem-se anticorpos do soro dos pacientes ao material que contém o vírus, a HA liga-se ao anticorpo impedindo a ligação HA-hemácia, ocorrendo desta forma a

inibição da hemaglutinação (Cintra, Arruda, 2000). Na pesquisa da resposta à vacina anti-influenza, a determinação dos títulos de anticorpos é individualizado para cada cepa que está contida na vacina. A reação de IH é frequentemente utilizada em trabalhos científicos que analisam a efetividade das vacinas em diversas populações (Kano et al, 2002; Belshe et al, 2004a; Belshe et al, 2004b; Monto et al, 2004; Ison, 2005; Machado et al, 2005; Van Kraaij et al, 2005).

Recentemente foi desenvolvida a técnica de ensaio imunoenzimático (ELISpot®) para investigar a resposta celular e humoral após vacina anti-influenza em transplantados renais, medindo a proliferação de linfócitos específicos e a secreção de interferon gamma (Lindemann et al, 2006).

A reação em cadeia da polimerase (PCR) tem sensibilidade três vezes maior do que a cultura, e se comparada com a cultura associada aos testes rápidos de detecção de antígenos, a sensibilidade da PCR pode ser duas vezes maior (Doller et al, 1985; Lindemann et al, 2003; Monto et al, 2004; Ison, 2005).

1.1.3.6 Situação epidemiológica da gripe em 2005

A disseminação dos vírus influenza tipicamente acontece durante os meses de inverno, mas também pode ocorrer em outras fases do ano sob a forma de epidemias. Entre fevereiro e setembro de 2005, a circulação do vírus influenza foi relatada em todos os continentes. Na América do Sul, a atividade do vírus teve início em abril aumentando em junho, sendo que muitos surtos foram causados pelos vírus influenza A (H3N2) e influenza B que circularam conjuntamente. Os vírus influenza A (H1N1) circularam pouco na região das Américas, e foi isolado no México, Paraguai, Peru e Estados Unidos (Carvalhanas et al, 2005).

No Brasil, de janeiro a setembro de 2005, do total de atendimentos de pacientes nas unidades sentinelas integrantes do Sistema Sivep-Gripe (Sistema de Vigilância Epidemiológica da Gripe/SVS/MS/OMS), 12,8% apresentaram síndrome gripal (Carvalhanas et al, 2005). Foram analisadas 1.779 amostras de secreção nasofaríngea com identificação para vírus respiratórios em 286 amostras (16,05%). Destas, 107 foram positivas para influenza, sendo que 94 influenza A e 13 influenza B.

Outros vírus identificados no período foram o VRS, o adenovírus e o parainfluenza (São Paulo (Estado). Secretaria de Estado de Saúde de São Paulo, 2006a). Em São Paulo, no mesmo período, com base na relação total de atendimentos nas unidades sentinelas, 20,93% apresentaram síndrome gripal. No que se refere às amostras biológicas analisadas (319), 15% foram positivas, sendo 26% influenza A, 13% influenza B, 31% VRS, 28% parainfluenza e 2% adenovírus. No geral, houve declínio na circulação da cepa H₁, cuja circulação não foi detectada pela vigilância das unidades sentinelas (São Paulo (Estado). Secretaria de Estado de Saúde de São Paulo, 2006a). O laboratório de virologia do Instituto Adolfo Lutz (IAL), integrante da Rede Nacional de Vigilância da Influenza, detectou a circulação das seguintes cepas virais, durante o período de janeiro a dezembro de 2005:

- Vírus influenza A H3N2: A/Califórnia/7/2004 like
- Vírus influenza A H1N1: A/New Caledonia/20/99 like
- Vírus influenza B: B/Shangai/361/2002 like
- Vírus influenza B: B/Jiangsu/10/2003 like
- Vírus influenza B: B/Hong Kong/330/2001 like

A análise das características antigênicas demonstrou:

- Influenza A (H1N1): nos testes de IH, a maioria dos vírus estavam relacionada à cepa A/New Caledonia/20/99.
- Influenza A (H3N2): a análise antigênica demonstrou por IH que a maioria dos vírus relacionava-se à cepa A/Califórnia/7/2004.
- Influenza B: os testes de IH evidenciaram a linhagem B/Yamagata/16/88, fortemente relacionada ao protótipo da cepa B/Shangai/361/2002; e a linhagem B/Vitória/2/87, antígenicamente similar ao B/Malaysia/2506/2004.

1.1.4 VACINAÇÃO CONTRA INFLUENZA

As vacinas contra a gripe são elaboradas anualmente e compostas de dois subtipos do vírus influenza A (H1N1 e H3N2) e pelo influenza B inativados. Sua composição está baseada nas cepas circulantes nos doze meses precedentes, detectadas pelos laboratórios de referência, responsáveis pela vigilância mundial. As

cepas aprovadas são padronizadas em quatro centros de virologia coordenadas pela Organização Mundial da Saúde (OMS), que analisam: os padrões genéticos e antigênicos dos vírus isolados comparados com os vírus dos anos anteriores, os dados epidemiológicos que determinam se as novas cepas têm capacidade de disseminação, a produção de doença grave, e a habilidade das vacinas disponíveis em induzir resposta humoral aos vírus.

Esta fase é seguida de determinação das variantes virais pela OMS, que serão utilizadas na composição das vacinas. Entretanto, algumas cepas virais têm certas dificuldades de multiplicarem-se nas células de ovos embrionados de aves, e por esta razão são utilizadas cepas alternativas que são antigenicamente muito semelhantes às aprovadas.

No hemisfério norte as epidemias ocorrem de dezembro a março, e no hemisfério sul de junho a setembro, por isso a OMS determina anualmente em fevereiro e setembro a composição vacinal para os hemisférios norte e sul respectivamente.

1.1.4.1 Vacina de microorganismo inativado

São produzidas pelo crescimento do microorganismo em meio de cultura e posterior inativação através do calor ou de substâncias químicas.

Não existe atividade replicativa nas vacinas inativadas, o que as distanciam das características da infecção natural, não havendo habitualmente uma resposta imunológica tão satisfatória quanto à resposta obtida com as vacinas de microorganismo vivo, sendo necessário habitualmente mais de uma dose para obtenção de imunidade adequada. É recomendada para a população de transplantados (Orenstein et al, 2000; *American Society of Transplantation*, 2004b).

1.1.4.2 Vacina inativada anti-influenza A e B em idosos

A eficácia do uso da vacina inativada anti-influenza para a prevenção de gripe varia entre 30% a 40% nos indivíduos acima de 65 anos institucionalizados. Mesmo assim, neste grupo, a vacina é efetiva na redução da duração e da gravidade da

doença e reduz os riscos de complicações, hospitalizações e óbitos (Patriarca et al, 1985; Gross et al, 1995; Fedson, 1996; Palache, 1997; Deguchi, Takasugi, 2000; Stamboulian et al, 2000; Vu et al, 2002).

Os níveis de anticorpos protetores estimulados pela vacinação apresentaram grandes variações, de 3 a 71%, dependendo das cepas contidas na vacina. O uso de doses mais elevadas de vacina, ou a administração de doses de reforço (*booster*) na época final de circulação dos vírus não foram efetivos na elevação consistente dos títulos de anticorpos, e nem em prolongar a resposta humoral nos idosos institucionalizados (Gravenstein et al, 1992; Powers, 1994; Brydak et al 2003).

1.1.4.3 Vacina inativada anti-influenza A e B em pacientes com doenças crônicas e com idade inferior a 65 anos.

Nas recomendações de vacinação para influenza A e B, no Brasil e em outros países, também estão contemplados as pessoas com menos de 60 anos que apresentem condições crônicas de alto risco (doenças pulmonares, cardíacas, renais, metabólicas e hepáticas) e indivíduos imunodeprimidos (transplantados, portadores de neoplasias, e infectados pelo vírus HIV) (São Paulo (Estado). Secretaria de Estado de Saúde, 2005a, Van Essen et al, 2003; CDC, 2004; Brasil. Ministério da Saúde. 2006).

O estudo PRISMA, realizado na Holanda, investigou a eficácia da vacina anti-influenza A e B em 30861 indivíduos de alto risco com idade entre 6 meses e 64 anos. Em pessoas de alto risco menores de 18 anos de idade, a vacina preveniu 43% das visitas médicas ambulatoriais. Nos adultos de alto risco até os 64 anos, a vacina preveniu 78% de óbitos, 87% de hospitalizações e 26% de visitas médicas ambulatoriais. A vacina foi efetiva na redução de complicações em pacientes menores de 65 anos que apresentavam condições de alto risco (Hak et al, 2005).

1.1.4.4 Vacina inativada anti-influenza A e B em receptores de transplantes

Em indivíduos que serão submetidos ao transplante, a vacina de vírus inativado contra o vírus influenza deve ser aplicada antes do transplante, e o mais precoce possível, já que a resposta imune à vacina diminui nos pacientes com doenças em

estágio avançado (Avery, 2001). Não se recomenda vacinação nos seis primeiros meses após o transplante em virtude da baixa resposta imunológica, porque nesta fase os pacientes estão recebendo altas doses dos imunossupressores (*American Society of Transplantation*, 2004).

Estudo realizado em vários centros norte americano mostrou que a vacinação pré-transplante contra os vírus influenza A e B foi realizada em somente 43% dos centros, porém, seis meses após o transplante a vacinação havia sido realizada em 79% dos centros (Batiuk et al, 2002).

A proteção contra as formas sintomáticas de influenza tem sido relacionada com a presença de títulos séricos de anticorpos anti-hemaglutinina (anti-HA) $\geq 1:40$. A diferença nas taxas de resposta à vacina tem variado entre 25% e próximo de 100% de produção de anticorpos IH, e esta discrepância pode estar relacionada a fatores como idade extrema, o uso de diferentes regimes de imunossupressão e tipo de transplante (Weinting et al, 1986; Burroughs et al, 2000). Entretanto, estudos comparativos mostram que mesmo com o uso de vacinas menos antigênicas que as atuais, os transplantados renais responderam à vacinação com alguma produção de anticorpos e apresentam a mesma incidência de doença quando comparados com a população normal vacinada (Sanchez-Fructuoso et al, 2000; Alpalsch et al, 1995).

1.1.4.5 Resposta imune à vacina inativada anti-influenza A e B

Para adequada proteção contra a invasão celular dos vírus influenza A e B, é necessário a complexa interação entre os componentes da imunidade humoral e celular. Linfócitos T $CD4^+$ atuam tanto no estímulo de linfócitos B para a produção de anticorpos que neutralizam as glicoproteínas virais (HA e NA), quanto no estímulo à proliferação de células T citotóxicas $CD8^+$.

Há relatos que evidenciam que a resposta imune celular é inibida diferentemente pelas drogas imunossupressoras. Tacrolimo e/ou micofenolato de mofetil mostraram maior redução nas funções dos linfócitos T quando comparados com a ciclosporina A (CsA) e azatioprina (Sanchez-Fructuoso et al, 2000; Ballet et al, 2006).

Entretanto, atualmente não há consenso na definição de imunidade celular protetora contra os vírus influenza, especialmente nos pacientes imunocomprometidos (Lindemann et al, 2006). A resposta imune celular após a vacinação parece ser relativamente mais conservada do que a resposta humoral. Esta dissociação da resposta celular e humoral já foi descrita em idosos e em crianças submetidas a transplante de medula óssea, nos quais a resposta celular pareceu estar intacta e a humoral deficiente (Bernstein et al, 1999; Haining et al, 2004).

A produção de anticorpos anti-hemaglutinina (anti-HA) tem participação expressiva na proteção conferida pela vacina, provendo resistência à infecção quando produzidos em altas concentrações e atenuando os efeitos da doença quando em níveis mais baixos. Já é conhecido um valor mínimo de proteção contra a doença relacionada à produção de anticorpos anti-HA, utilizando-se os índices (Lino, 2001; Brydak et al, 2003; Cavdar et al, 2003; Belshe et al, 2004b; Beyer WE et al 2004; Scharpé J et al, 2007):

- Título médio geométrico (TMG) – É o antilog da média dos logaritmos dos títulos de anticorpos anti-hemaglutinina.
- Taxa de proteção – É o percentual de pessoas que atingem níveis de anticorpos anti-hemaglutinina (Anti-HA) mínimos para a proteção pós-vacinação. Pela reação de IH, a titulação mínima é de 1:40, acima deste valor torna-se improvável a ocorrência de doença grave.
- Taxa de resposta ou soroconversão – É o percentual de vacinados que respondem com elevação de quatro vezes nos títulos de anticorpos anti-hemaglutinina após a vacinação.

De acordo com os critérios publicados pelo Comitê Europeu para Proprietários de Produtos Medicinais (CPMP), para que uma vacina contra os vírus influenza A e B seja licenciada, é necessário que os seguintes critérios sejam alcançados: para indivíduos entre de 18 a 60 anos de idade, a taxa de soroconversão deve ser maior que 40% e a taxa de proteção deve ser maior que 70%. Para indivíduos maiores de 60 anos, a taxa de soroconversão deve ser maior que 30% e a taxa de proteção deve ser maior que 60% (Commission of the European Communities, 1992; Committee for

Proprietary Medicinal Products, 1997). Não existem valores definidos para transplantados.

Diversos autores já demonstraram que em diferentes populações de imunossuprimidos (transplantados de órgãos e de medula óssea, idosos, crianças de baixa idade) a concentração de anticorpos HA contra o vírus influenza após a vacinação é inferior quando comparada com pessoas saudáveis (Beyer et al, 1987; Stambouljian et al, 2000; Deguchi, Takagusi, 2000; Vu et al, 2002). Porém, apesar da menor produção de anticorpos, a repetição anual da vacina anti-influenza pode aumentar a produção de anticorpos inespecíficos e, portanto a proteção contra a gripe (Ahmed et al, 1995; Vu et al, 2002; Vogtlander et al, 2004; Brasil. Ministério da Saúde. 2006).

Um estudo comparou a resposta de anticorpos séricos após a vacinação em transplantados de rim, em pacientes submetidos à diálise peritoneal ambulatorial, à hemodiálise e em controles saudáveis. Os títulos de anticorpos protetores e a soroconversão aumentaram em todos os grupos após a vacinação. Porém, a proporção de pacientes com anticorpos protetores foi menor nos pacientes com doença renal se comparados com os controles (Cavdar et al, 2003).

Poucos estudos analisaram os fatores de risco que influenciam a baixa resposta humoral após vacinação anti-influenza em idosos. No Brasil, um estudo identificou através de análise multivariada os fatores de risco para baixa resposta vacinal em uma população específica de idosos institucionalizados. Foi analisada a condição nutricional, doença cardiovascular, pulmonar, condições neurológicas, metabólicas e hormonais e uso de medicações. A análise multivariada mostrou que somente demência foi fator de risco. De fato, mais de 68% dos idosos não respondedores eram portadores de demência (Bellei et al, 2006).

1.1.4.6 Eventos adversos e contra-indicações da vacina inativada trivalente para os vírus influenza A e B.

Os eventos adversos diminuíram muito com as vacinas altamente purificadas de vírus completos e praticamente desapareceram com as vacinas fragmentadas e de subunidades (São Paulo (Estado). Secretaria de Estado de Saúde, 2005a). As reações locais ocorrem em cerca de 15 a 20% dos casos. Edema, eritema, enduração e dor no local da aplicação são passageiros e normalmente persistem por menos de 48 horas. As reações sistêmicas como febre, mialgia e mal-estar são incomuns. Reações de hipersensibilidade, anafilaxia e manifestações neurológicas são extremamente raras (Skowronski et al, 2003).

São poucas as contra-indicações da vacina contra gripe e compreendem: as alergias graves à proteína do ovo (a vacina é fabricada em ovos de galinha) e pessoas que tenham antecedentes de doenças neurológicas ou doença em atividade, como a Síndrome de Guillain-Barré.

A vacina inativada trivalente contra o vírus influenza A e B é recomendada anualmente no Brasil como estratégia principal a fim de evitarem-se as complicações decorrentes da infecção pelo vírus influenza A e B para todas as pessoas com idade igual ou acima de 60 anos, pessoas entre oito e 60 anos com condições de alto risco como, portadores de doenças crônicas e imunodeprimidos como os receptores de transplantes, portadores de neoplasias e os infectados pelo vírus HIV. Devem também receber anualmente a vacina os profissionais de saúde e pessoas que convivem intimamente com pacientes nas situações anteriores (*Advisory Committee on Immunization Practices; Center for Diseases Control de Atlanta-USA; Kano et al, 2002; Sanchez-Fructuoso et al, 2000*).

2 OBJETIVOS

PRIMÁRIOS

Em receptores de transplante renal,

1. Avaliar a resposta à vacina trivalente inativada para os vírus influenza A e B, pela dosagem de anticorpos séricos contra a glicoproteína viral hemaglutinina.
2. Analisar a influência de diferentes drogas imunossupressoras na resposta sorológica induzida pela vacina trivalente inativada para os vírus influenza A e B
3. Determinar a presença dos vírus respiratórios influenza A e B, vírus sincicial respiratório, vírus parainfluenza 1, 2 e 3 e o adenovírus na secreção nasofaríngea dos pacientes vacinados com e sem sintomas respiratórios.

SECUNDÁRIOS

1. Avaliar os possíveis eventos adversos locais e sistêmicos induzidos pela vacinação.
2. Questionar ao final do período de estudo o grau de satisfação e confiabilidade da vacina.

3 CASUÍSTICA E MÉTODO

Estudo prospectivo, observacional, unicêntrico que se deu de forma colaborativa entre a Clínica de Nefrologia e a Clínica de Infectologia do Departamento de Medicina da Irmandade Santa Casa de Misericórdia de São Paulo conjuntamente com o Laboratório de Virologia do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo (LIM-52 HC, Departamento de Moléstias Infecciosas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo). O estudo foi realizado no período de maio a novembro de 2005.

3.1 Pacientes

No mês de maio de 2005, juntamente com a sexta edição da Campanha Nacional de Vacinação Contra a Gripe, promovida pelas Secretarias Estaduais e Municipais de Saúde e pelo Ministério da Saúde em todo o território brasileiro, receptores de transplante renal foram vacinados e acompanhados por um período de seis meses.

3.2 Critérios de Inclusão e Exclusão

Inclusão:

1. Pacientes transplantados renais há mais de seis meses.
2. Idade mínima de 18 anos.

Exclusão:

1. Pacientes em uso de antibacterianos para infecções agudas, por tratar-se de contra-indicação relativa à vacinação.
2. Pacientes com sintomas de gripe e/ou resfriado comum que tiveram início até sete dias antes da vacinação.
3. História pregressa de reação de hipersensibilidade à proteína do ovo de galinha.
4. Pacientes em tratamento para rejeição aguda do enxerto

O protocolo de investigação (Projeto nº 042/04), foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos (CEP) do Hospital Central da Irmandade da Santa Casa de Misericórdia de São (APÊNDICE). Todos os participantes do estudo assinaram previamente o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (ANEXO-4) (Resolução Conselho Nacional de Saúde 196/96, de 10 de outubro de 1996).

O momento de inclusão dos pacientes no estudo foi considerado quando o participante coletava amostra de sangue venoso periférico para a dosagem de anticorpos séricos inibidores da hemaglutinina e posteriormente recebia a vacina contra os vírus influenza A e B.

3.3 Dados Clínicos e Laboratoriais

Na data da vacinação e a cada 3 semanas até completar 6 meses após a vacina, os receptores de transplante renal foram submetidas às avaliações clínicas por meio de visitas ambulatoriais.

As características clínicas e laboratoriais dos pacientes foram obtidas através dos prontuários e de fichas clínicas desenvolvidas para o estudo, e preenchidas pelo pesquisador, durante as consultas ambulatoriais (ANEXO1).

Na avaliação inicial, ou seja, na data da vacinação as variáveis pesquisadas foram: dados demográficos, data do transplante e tipo de doador, número de transplantes realizados por paciente, doença de base, regime de imunossupressão.

Também foram avaliadas as variáveis relacionadas à vacinação: data da vacinação, local de aplicação da vacina e as reações adversas locais (dor, edema, queimação no local de aplicação da vacina) e sistêmicas após a injeção intramuscular da vacina. (ANEXO 2)

Amostras de sangue foram coletadas e identificadas para cada paciente, na data da vacinação para:

Dosagens da creatinina séricas pelo método de picrato alcalino, seguido da reação de Jeffé, (valores de referência de 0,7 a 1,5 mg/dL) realizada pelo Laboratório Central da Irmandade Santa Casa de Misericórdia de São Paulo.

Pesquisa de anticorpos anti-hemaglutinina pela reação de inibição da hemaglutinação, realizada pelo Laboratório de Virologia do Instituto de Medicina Tropical da São Paulo

3.4 Vigilância Sistemática das Infecções Virais do Trato Respiratório

Foram coletadas durante os seis meses de seguimento ambulatorial, amostras de lavado nasofaríngeo. A coleta das amostras de lavado foi utilizada para a pesquisa direta nas secreções nasofaríngeas, dos vírus influenza A e B, vírus sincicial respiratório, adenovírus e vírus parainfluenza 1, 2, 3, a partir da terceira semana após a data da vacinação, e repetidas sistematicamente a cada 3 semanas, até seis meses.

3.4.1 Coleta de secreções nasofaríngeas

A pesquisa de vírus respiratórios foi realizada através da colheita de secreções nasais e faríngeas, após lavagem das duas narinas separadamente com 10 ml de soro fisiológico 0,9%, seguida da coleta da secreção em copo coletor estéril, solicitando ao paciente para assoar as narinas. Os copos coletores foram adequadamente lacrados e identificados. As amostras colhidas foram mantidas e transportadas em banho de gelo e enviadas no máximo em duas horas ao Laboratório de Virologia do Instituto de Medicina Tropical da Universidade de São Paulo para pesquisa viral pela técnica de imunofluorescência direta.

3.4.2 Processamento das amostras de secreções respiratórias

As amostras de secreções dos lavados nasofaríngeo foram diluídas volume a volume (1:10) com o agente mucolítico DTT (DL – Dithiothreitol) *Sputolizin*. Em seguida, foram homogeneizadas vigorosamente em *Vortex* e incubadas à 37° C durante 15 minutos por duas vezes e centrifugadas a 3000 rpm por 5 minutos em temperatura ambiente. Após desprezar o sobrenadante, foram adicionados 5 ml de solução salina tamponada (PBS), novamente homogeneizados vigorosamente em *Vortex* e centrifugado a 1600 rpm por 5 minutos em temperatura ambiente. A seguir, o sobrenadante foi desprezado e ressuspensão em PBS, para a obtenção do sedimento constituído de células epiteliais do trato respiratório. A preparação das lâminas foi realizada através do gotejamento de 20 µl da suspensão por poço em lâmina para imunofluorescência, depois fixado em acetona gelada durante 5 minutos no *freezer* e então secados em temperatura ambiente.

3.4.3 Imunofluorescência Direta

Utilizando o kit comercial DAKO® (Dako Imagen™ K6104, Dako Lda. Denmark House, Angel Drove, Cambs. CB74ET. UK.), foi adicionado em cada poço contendo uma gota das suspensões de células epiteliais do trato respiratório, 8 µl de cada anticorpo monoclonal específico para os vírus (1 – **Vírus Sincicial**

Respiratório; 2 – Adenovírus; 3 – Influenza A; 4 – Influenza B; 5 – Parainfluenza I; 6 – Parainfluenza II; 7 – Parainfluenza III). As lâminas foram incubadas em estufa a 37°C por 15 minutos para produzirem reação, a seguir foram lavadas com PBS por 5 minutos, em seguida foram secas e montadas com glicerina. A leitura foi feita em microscópio de imunofluorescência.

3.5 Vacina Anti-Influenza

Cada paciente recebeu dose única de 0,5 ml de injeção intramuscular no músculo deltóide da vacina anti-influenza 2004-2005 trivalente inativada composta de antígeno hemaglutinina (HA) e neuraminidase (NA) purificados de vírus vacinais variedades A/Wellington/1/2004 (H3N2)-like, A/Nova Caledônia/20/99 (H1N1)-like, e B/Shanghai/361/2002-like de acordo com as recomendações da Organização Mundial de Saúde (OMS) e fornecidas pelo Instituto Butantã de São Paulo, Brasil. A vacina foi utilizada pela campanha de vacinação do idoso do Ministério da Saúde do Brasil. Os pacientes receberam a vacina em unidades básicas de saúde próximas de suas residências ou no ambulatório de vacinação da Irmandade da Santa Casa de Misericórdia de São Paulo.

Na composição da vacina, a concentração de antígenos de hemaglutinina nas cepas A/Nova Caledônia/20/99 (H1N1)-like, e B/Shanghai/361/2002-like foi de 15µg, enquanto que na cepa vacinal A/Wellington/1/2004 (H3N2)-like, a concentração de antígeno hemaglutinina foi de 10µg. Além disso, a vacina continha o conservante de mercúrio timerosal <1 mcg mercúrio/dose, solução salina e traços de neomicina ou gentamicina.

3.6 Avaliação da Resposta Humoral à Vacina

Foram colhidos 5 ml de sangue venoso em tubo seco estéril identificado e transportado em temperatura ambiente, para a dosagem de anticorpos séricos. As amostras que foram coletadas na data da vacinação ou no máximo até 48 horas,

foram consideradas como amostras pré-vacinação. Após quatro semanas da coleta de sangue para a análise dos anticorpos iniciais, foram coletadas amostras mensais para cada paciente, até seis meses após a vacina.

Os títulos de anticorpos séricos para cada cepa (vírus influenza A H3N2 e H1N1 e vírus influenza B) foram analisados por amostras pareadas através da reação de Inibição da Hemaglutinação (IH).

3.6.1 Reação de inibição da hemaglutinação (IH)

A reação de inibição da hemaglutinação foi realizada de acordo com a técnica desenvolvida por Hirst e mais tarde modificada por Salk (WHO, 1982), no laboratório de virologia do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo.

Cultura de células

Os vírus influenza A e B foram cultivados em células MDCK (*Martin Darby Canine Kidney*) de linhagem estabelecida, originada de rim de cachorro, mantidas e subcultivadas em meio de Eagle (MEM), adicionado de 10% de soro fetal bovino e antibiótico (100U de Penicilina G potássica, 100 μ g de estreptomicina e 2 μ g de Anfotericina B por ml). Os subcultivos foram feitos num intervalo de 3 a 4 dias. O meio de cultivo foi desprezado, a monocamada celular foi lavada com PBS para retirada de resíduos de soro fetal bovino, que inibem a ação da tripsina. Adicionou-se 10 ml de solução de tripsina a 0,2% e EDTA a 0,02% (ATV), mantendo-se as garrafas em temperatura ambiente. Quando a camada de células começou a desprender-se, a solução de tripsina foi removida e a garrafa mantida em 37°C até o desprendimento total das células. Uma suspensão de células contendo três vezes o volume inicial de meio nutriente foi preparado e posteriormente distribuído em garrafas retangulares com aproximadamente 42 cm² de área útil (20 ml por garrafa) e incubada em 37°C.

Cultivo dos vírus

O meio de crescimento das garrafas foi desprezado e lavou-se a monocamada celular com PBS por duas vezes. Inoculou-se a suspensão de vírus influenza A e B, contendo 0,1% de tripsina e incubou-se em 33°C por sessenta minutos. Adicionou-se

o meio de manutenção *Eagle* (MEM) suprimido de soro fetal bovino. As garrafas foram mantidas em 33°C por 48 a 72 horas. Observou-se diariamente ao microscópio, para verificar a presença de efeito citopático.

Foram colhidas alíquotas do sobrenadante e feito titulação por hemaglutinação, para confirmar a presença e potência do vírus. Se o título do vírus fosse ≥ 4 UHA (unidades hemaglutinantes), as garrafas eram congeladas por 24 horas a -70°C. A seguir as garrafas foram congeladas e descongeladas por três vezes, para romper as células e liberar os vírus. A suspensão de células foi centrifugada a 1200 g durante dez minutos em 4°C. O sobrenadante foi distribuído em alíquotas de 500 μ l e estocado a -70°C, até o uso. Os vírus utilizados foram:

H1N1 – New Caledonia

H3N2 – Wellington/Austrália

Influenza B - Shanghai/Jihin

Preparação das Hemáceas

Hemáceas de galinha e peru foram colhidas por punção venosa no biotério do Instituto de Medicina Tropical da FMUSP e misturadas rapidamente com igual volume de solução de *Alsever*. A seguir foi feito uma filtração em gaze e conservado a 4°C. Para utilização na reação, lavou-se três vezes com PBS, fazendo-se três centrifugações sucessivas a 900g por cinco minutos. Por último fez-se uma centrifugação a 900g por dez minutos e preparou-se uma suspensão contendo 0,5% de hemáceas. Esse procedimento foi realizado sempre no dia de utilização.

Segundo recomendação do CDC (*Center for Diseases Control, Atlanta, USA*) deve-se usar hemáceas de peru para o vírus H3N2 e hemáceas de galinha para os vírus H1N1 e Influenza B.

Titulação do antígeno

A titulação foi feita em duplicata, usando-se placas de microtitulação com cavidade em "U". Na primeira fileira foi colocado 100 μ l de antígeno, nas demais

fileiras 50 μ l de PBS. Com uma micropipeta multicanal transferiu-se 50 μ l para o segundo orifício e assim procedeu-se a diluição em múltiplos de dois. Adicionou-se em todos os orifícios 50 μ l de hemáceas a 0,5%. A placa foi agitada por um minuto e mantida à temperatura ambiente por trinta minutos. O controle das hemáceas foi feito usando-se apenas o diluente (PBS) e as hemáceas a 0,5%, sem a presença dos antígenos.

A maior diluição do antígeno que apresentou hemaglutinação total, foi considerada como 1 UHA (unidade hemaglutinante) No momento da reação de inibição da hemaglutinação, a diluição de uso foi calculada para ter 8 UHA em 50 μ l. Todos os dias previamente titulavam-se o antígeno para calcular a diluição de uso na reação e retitulava-se o antígeno durante a reação para confirmar o título e ter certeza que a quantidade de vírus usada estava correta. O antígeno foi mantido durante toda a execução da reação em banho de gelo.

Tratamento do soro

Para destruição dos inibidores inespecíficos, utilizou-se RDE (*receptor destroying enzyme*) do *Vibrio cholerae*. Inicialmente foi feita a reconstituição do RDE adicionando-se ao frasco 20ml de solução fisiológica 0,85%. Foram feitas alíquotas e armazenadas a -20°C .

Em tubos 12x74 mm adicionou-se 50 μ l de soro e 150 μ l de RDE, portanto foi feito uma diluição inicial do soro a 1/4. Os tubos foram agitados e incubados em banho-maria a 37°C por 18 horas. Decorrido esse tempo os tubos foram transferidos para banho-maria a 56°C e incubados por 30 minutos, para inativação do RDE. A seguir 300 μ l de solução fisiológica 0,85% foi adicionado aos tubos. Os soros, após esse procedimento, foram considerados como diluídos a 1/10. Após esse tratamento todos os soros foram testados para comprovar a destruição dos inibidores inespecíficos. Adicionou-se 25 μ l de soro tratado a 25 μ l de PBS e 50 μ l de hemáceas, incubou-se 30 minutos a temperatura ambiente. A presença do botão de hemáceas confirma a remoção dos inibidores, caso contrário, é necessário fazer um tratamento com

concentrado de hemáceas e refazer o teste. Os soros foram estocados a -20°C até o momento da execução da reação.

Execução da reação de inibição de hemaglutinação (IH)

A reação de inibição das hemaglutinação (IH) foi feita em placas para microtitulação com orifícios em forma de “U”, utilizando-se como diluente PBS. A partir do segundo orifício foi colocado $25\mu\text{l}$ de PBS em todos os orifícios. No primeiro e segundo orifícios foi colocado $25\mu\text{l}$ do soro tratado a 1/10. Utilizando-se micropipeta multicanal procedeu-se a diluição do soro. Após homogeneização transferiu-se $25\mu\text{l}$ do segundo para o terceiro orifício e assim sucessivamente até o último orifício. Em seguida adicionou-se $25\mu\text{l}$ de antígeno. Agitou-se por um minuto e manteve as placas a temperatura ambiente por quinze minutos. Após esse tempo adicionou-se $50\mu\text{l}$ de hemáceas, agitou-se por um minuto e mantiveram-se as placas em temperatura ambiente por trinta minutos. Após esse período, procedeu-se a leitura.

Os títulos de anticorpos pela reação de IH (1:10, 1:20, 1:40, 1:80, 1:160, 1:320, até 1:1280) foram expressos como os recíprocos das diluições séricas mais elevadas que inibiram a ação da hemaglutinina, ou seja, a completa inibição da aglutinação das hemáceas testadas por uma concentração padrão de antígenos virais.

3.7 Determinação das Taxas de Proteção e Soroconversão

Dosagens seriadas da quantificação dos anticorpos séricos com intervalo de pelo menos 3 semanas são necessárias para a determinação das taxas de proteção e de soroconversão. Sendo assim, os seguintes parâmetros sorológicos foram avaliados para a determinação da resposta humoral à vacina:

1. Títulos Médios Geométricos: determinação do antilog da média dos logaritmos dos títulos de anticorpos anti-hemaglutinina antes e após a vacinação.
2. Taxa de Proteção: proporção de pacientes com títulos de anticorpos anti-hemaglutininas $\geq 1:40$ após a vacinação

3. Taxa de Soroconversão: proporção de pacientes com o aumento de pelo menos 4 vezes nos títulos de anticorpos anti-hemaglutinina após a vacinação.

3.8 Questionário de Satisfação

Ao final do estudo, foi realizada um questionário simples (ANEXO 3) contendo três perguntas sobre o grau de satisfação e confiança dos pacientes quanto a proteção produzida pela vacina e a disposição de realizar a vacinação anualmente como método profilático.

3.9 Análise Estatística

As variáveis quantitativas foram representadas por média, mediana, desvio padrão, mínimo e máximo da amostra, e as variáveis qualitativas foram representadas pelo número de casos e valores percentuais.

A comparação dos diferentes TMG (títulos médios geométricos) obtidos durante seis meses, foi realizada através do teste de Friedman com pós-teste de Dunnett.

A mudança entre as taxas de proteção antes e após a vacina foi analisada através do Teste de McNemar.

A comparação dos fatores de risco qualitativos entre os grupos, tais como sexo, tempo de transplante, drogas imunossupressoras e doenças de base foi avaliada através do teste de Qui-quadrado de Pearson e Teste Exato de Fisher, quando adequado.

O modelo de regressão logística, ajustado pelo tempo entre a data do transplante e a vacinação, foi utilizado para avaliar a influência dos imunossupressores nas taxas de proteção e soroconversão para as cepas H1N1 e H3N2 do vírus influenza A.

A curva ROC (*receiver operator characteristics*) foi utilizada para determinar um ponto de corte no tempo de transplante até a vacina, que apresente melhor equilíbrio

entre a sensibilidade e especificidade, e que pudesse interferir nas taxas de proteção e soroconversão .

Utilizou-se a curva de Kaplan-Meier invertida, para avaliar a probabilidade ao longo do tempo de haver proteção, e o teste de Log-Rank foi utilizado para avaliar as diferenças entre as curvas frente a diferentes drogas imunossupressoras.

Considerou-se o nível de significância de 5%.

Os resultados foram analisados usando-se os programas *Epi Info Version 3.2.2* e *SPSS 13.0 for Windows*.

4 RESULTADOS

Do total de 102 pacientes transplantados de rim avaliados, setenta e seis preencheram os critérios de inclusão e foram submetidos à vacinação anti-influenza A e B. Uma paciente abandonou o acompanhamento durante o segundo mês. Portanto, 75 transplantados renais vacinados contra a gripe participaram do estudo e coletaram amostras para a análise sorológica em pelo menos duas ocasiões com intervalo mínimo de três semanas.

Os dados demográficos (sexo, cor e idade no momento da inclusão do estudo), características clínicas e laboratoriais, como tipo de doador, número de transplantes realizados por paciente, dosagem sérica de creatinina no momento da vacinação e doenças de base são mostrados na Tabela 1

Dos 75 pacientes avaliados, 52% eram do sexo masculino e 48% do sexo feminino, com média de idade de $39,7 \pm 13,2$ anos (18 a 71 anos) e 89,4% eram da

cor não branca. A origem do enxerto renal foi de doador falecido em 58,7% e doador vivo em 41,3%. Somente 5,3% dos pacientes foram submetidos a dois transplantes de rim, em datas diferentes. O valor médio da creatinina sérica obtida na data da vacinação foi de $1,84 \pm 0,55$ mg/dL. As doenças que com maior frequência induziram a perda da função renal e conseqüentemente ao transplante foram a glomerulonefrite crônica e a nefrosclerose hipertensiva (Tab. 1).

TABELA 1- Características demográficas, tipo de doador, número de transplantes por paciente, dosagem de creatinina sérica e doença de base dos 75 pacientes transplantados renais e vacinados contra os vírus influenza A e B.

CARACTERÍSTICAS	VALORES
Sexo	n (%)
Feminino	36 (48,0%)
Masculino	39 (52,0%)
Idade (anos)	$39,7 \pm 13,2$ (18-71)
Cor	
Branca	08 (10,6%)
Não Branca	67 (89,4%)
Tipo de Doador	
Vivo	31 (41,3%)
Falecido	44 (58,7%)
Numero de Transplantes/Paciente	
Um	71 (94,7%)
Dois	04 (5,3%)

Creatinina sérica (mg/dL)	1,84 ± 0,55 (1,4-3,5)
Doença de Base	
Glomerulonefrite Crônica	32 (42,7%)
Nefrosclerose Hipertensiva	27 (36,0%)
Nefrite Intersticial Crônica	06 (8,0%)
Pielonefrite Crônica	04 (5,3%)
Nefropatia Diabética	02 (2,7%)
Outras	04 (5,3%)

A mediana de tempo entre a data da realização do transplante e a vacinação foi de 5 anos (6 meses a 26 anos).

Quanto às drogas imunossupressoras, todos os 75 pacientes utilizavam prednisona. A associação de prednisona com os inibidores de calcineurina foi utilizada em 68 (90,6%) pacientes. Ciclosporina A foi prescrita para 46 (61,3%) pacientes, sendo associada à azatioprina em 23 (30,6%), ou associada ao micofenolato de mofetil em 18 (24%) pacientes. Tacrolimo foi prescrito para 22 (29,3%) pacientes, sendo associada à azatioprina em 10 (13,3%), ou associada ao micofenolato de mofetil em 11 (14,6%) pacientes. Trinta e sete pacientes (49,3%) receberam azatioprina e 32 (42,6%) pacientes receberam micofenolato de mofetil como parte do esquema de imunossupressão (Tab. 2).

TABELA 2- Esquemas de drogas imunossupressoras que os 75 pacientes transplantados renais utilizavam no momento do estudo.

ESQUEMAS DE IMUNOSSUPRESSORES	VALORES
Ciclosporina, azatioprina e prednisona	23 (30,7%)
Ciclosporina, Micofenolato e prednisona	18 (24,0%)

Tacrolimo, Micofenolato e prednisona	11 (14,7%)
Tacrolimo, azatioprina e prednisona	10 (13,3%)
Ciclosporina e prednisona	05 (6,7%)
Azatioprina e prednisona	03 (4,0%)
Sirolimo, Micofenolato e prednisona	02 (2,7%)
Sirolimo, azatioprina e prednisona	01 (1,3%)
Micofenolato e prednisona	01 (1,3%)
Tacrolimo e prednisona	01 (1,3%)

4.1 RESPOSTA SOROLÓGICA À VACINA

4.1.1 Quantificação dos Títulos Médios Geométricos (TMG)

Foram coletadas 392 amostras de sangue para a determinação mensal dos títulos de anticorpos nos 75 pacientes no período de seis meses, com média de 5,2 amostras por paciente. Os Títulos Médios Geométricos (TMG) dos anticorpos anti-hemaglutinina para as cepas H1N1 e H3N2 do vírus influenza A apresentaram aumento estatisticamente significativo após um mês da vacinação, e mantiveram-se elevados até o sexto mês de acompanhamento (Tab. 3).

O TMG para a cepa vacinal H1N1 do vírus influenza A apresentou elevação de 2,57 (IC95% 0,78 – 23,69) da fase pré-vacinal para 13,45 (IC95% 7,33 – 157,3) um mês após. As diferenças entre os TMG da fase pré-vacinal para os cinco meses subsequentes foram estatisticamente significantes ($P = 0.0013$) (Tab. 3).

A elevação dos TMG para a cepa vacinal H3N2 do vírus influenza A apresentou um aumento no título de 2,44 (IC95% 1,03 – 14,60) da fase pré-vacinal para 7,20 (IC95% 3,74 – 50,94) alcançado no segundo mês, atingindo um valor de TMG de 7,30 (IC95% 3,56 – 46,69) no terceiro mês após a vacinação. Houve diferença estatisticamente significativa entre os TMG da fase pré-vacinal para os cinco meses subsequentes ($P < 0,001$) (Tab. 3).

Enquanto que, para a cepa vacinal do vírus influenza B, não houve aumento significativo nos TMG dos anticorpos anti-hemaglutinina após a vacinação, já que o título da fase pré-vacinal foi de 1,16 (IC95% 0,97 – 2610,00) e atingiu um máximo de 1,23 (IC95% 0,34 – 5788,00) do terceiro ao sexto mês (Tab. 3).

TABELA 3 – Títulos Médios Geométricos (TMG) dos anticorpos anti-hemaglutininas para as cepas vacinais H1N1 e H3N2 do vírus influenza A e do vírus influenza B nos 75 transplantados renais vacinados.

	Título Médio Geométrico (TMG)	IC95%	p*
Cepas Vacinais			
H1N1			
Vacinação (Mês 0)	2,57	0,78 - 23,6	0,0013
Mês 1	13,45	7,33 - 157,3	
Mês 2	12,44	6,21 - 140,1	
Mês 3	12,12	3,74 - 199,1	
Mês 4	11,17	6,40 - 109,0	
Mês 5	10,52	6,17 - 180,6	
H3N2			
Vacinação (Mês 0)	2,44	1,03 - 14,6	<0,001
Mês 1	7,20	3,74 - 50,94	
Mês 2	7,30	3,56 - 46,69	
Mês 3	5,56	2,23 - 35,72	
Mês 4	5,78	2,26 - 27,35	
Mês 5	6,59	2,69 - 32,22	
INFLUENZA B			
Vacinação (Mês 0)	1,16	0,97 - 2610,00	0,415
Mês 1	1,20	0,87 - 3738,00	
Mês 2	1,23	0,34 - 5788,00	
Mês 3	1,23	0,34 - 5788,00	
Mês 4	1,23	0,35 - 5711,00	

Mês 5	1,23	0,35 - 5711,00
-------	------	----------------

* $p < 0,05$. TMG antes versus após a vacinação. Teste de Friedman e Teste de Dunnet

4.1.2 Taxas de Proteção e Soroconversão:

A proporção de pacientes que apresentaram títulos de anticorpos anti-hemaglutinina $\geq 1:40$ (taxas de proteção) antes da vacinação foi de 9,3% para as cepas H1N1 e H3N2 do vírus influenza A, e nenhum paciente apresentava anticorpos protetores para o vírus influenza B (Tab. 4). Após a vacinação, houve aumento significativo das taxa de proteção para as cepas H1N1 e H3N2 do vírus influenza A, e somente um paciente evoluiu com produção de anticorpos para o vírus influenza B após a vacina (Tab. 4).

A taxa de soroconversão, ou seja, a proporção de pacientes com aumento de pelo menos quatro vezes nos títulos de anticorpos anti-hemaglutinina após a vacinação para as cepas H1N1 e H3N2 do vírus influenza A foram respectivamente de 36% (IC95% 25,2 – 47,9%) e 25,3% (IC95% 16,0 – 36,7%). Observou-se que para o vírus influenza B a taxa de soroconversão foi 1,3% (IC95% 0,0 – 7,2%) (Tab. 4).

A proporção de pacientes que apresentaram proteção ou soroconversão a qualquer cepa vacinal foi de 57,4% (43 pacientes) e 33,3% (25 pacientes) apresentaram proteção e também soroconversão a qualquer cepa da vacina.

Ausência de qualquer resposta à vacina ocorreu em 20% dos pacientes, ou seja, aqueles que não obtiveram níveis de proteção, de soroconversão ou até mesmo níveis de produção de anticorpos anti-hemaglutinina após a vacinação $\geq 1:10$ e $\leq 1:20$ a qualquer cepa da vacina.

TABELA 4 – Taxas de proteção antes e após a vacinação e de soroconversão após a vacinação para as cepas H1N1, H3N2 do vírus influenza A e para o vírus influenza B nos 75 transplantados renais.

CEPAS VACINAIS	TAXA DE PROTEÇÃO			TAXA DE SORO CONVERSÃO
	Pré	Pós	<i>p</i> *	
	(n) %	(n) %		(n) %
Influenza A (H1N1)	(7) 9,3	(34) 45,3	<0,001	(27) 36,0
Influenza A (H3N2)	(7) 9,3	(25) 33,3	<0,001	(19) 25,3
Influenza B	0	(1) 1,3		(1) 1,3

*p**<0,05. Teste de McNemar

4.1.3 Influência do Tempo Entre a Data do Transplante e a Vacinação nas Taxas de Proteção e Soroconversão.

Para avaliar se houve influência do tempo decorrido entre a realização do transplante e a data da vacinação na resposta imune, foi utilizada a curva ROC que determinou como melhor valor de corte, o tempo de 87 meses (APÊNDICE). Observou-se que pacientes que realizaram o transplante há menos de 87 meses, apresentaram respectivamente menor chance de proteção [$P=0,011$, OR 3,66 (IC95% 1,31 – 10,21)] e soroconversão [$P=0,001$, OR 5,41 (IC95% 1,89 – 15,47)] para a cepa H1N1 e menor chance de soroconversão para a cepa H3N2 [$P=0,026$, OR 3,33 (IC95% 1,12 – 9,86)] em relação àqueles que realizaram o transplante há mais de 87 meses (Tab. 5).

TABELA 05 - Diferentes taxas de proteção e soroconversão após a vacinação para as cepas H1N1, H3N2 do vírus influenza A em pacientes submetidos ao transplante renal há mais ou menos de 87 meses.

				Tempo de Transplante				
				Maior que 87 Meses	Menor que 87 Meses	P	OR	IC95%
				Total 24 (n) %	Total 51 (n) %			
H1N1	Total							
Proteção	34	Sim	(16) 47,1	(18) 52,9	0,011	3,66	1,31 - 10,21	
		Não	(08) 19,5	(33) 80,5				
Soroconversão	27	Sim	(15) 55,6	(12) 44,4	0,001	5,41	1,89 - 15,47	
		Não	(09) 18,8	(39) 81,3				
H3N2	Total							
Proteção	26	Sim	(10) 40,0	(15) 60,0	0,294	1,71	0,62 - 4,71	
		Não	(14) 28,0	(36) 72,0				
Soroconversão	19	Sim	(10) 52,6	(09) 47,4	0,026	3,33	1,12 - 9,86	
		Não	(14) 25,0	(42) 75,0				

$P < 0,05$. = Teste do Qui Quadrado de Pearson e Teste Exato de Fisher.

OR = Odds Ratio (Chance de Proteção, Soroconversão à vacina).

IC95% = Intervalo de confiança de 95%

4.1.4 Influência dos imunossupressores nas Taxas de Proteção e Soroconversão.

Outros fatores que poderiam influenciar nas taxas de proteção e soroconversão como sexo, idade, tipo de transplante (doador vivo ou falecido) e as diversas doenças de base foram estudados através de análise univariada. Nenhum destes fatores influenciou nas taxas de proteção e soroconversão após a vacina.

Analizou-se também a possível influência da utilização das diversas medicações imunossupressoras, através do modelo de regressão logística ajustado pelo tempo entre a data do transplante e a vacinação, nas taxas de proteção e soroconversão à vacina. Os inibidores de calcineurina (CsA e TAC), a metilprednisolona e o sirolimo não modificaram estas respostas à vacina para os vírus influenza A e B. Em sessenta e nove pacientes que utilizavam AZA (37 pacientes) e MMF (32 pacientes) houve influência nas taxas de proteção para a cepa H1N1 e as taxas de proteção e soroconversão para a cepa H3N2 do vírus influenza A (Tab. 6 e 7). Pacientes que faziam uso de micofenolato de mofetil (MMF) apresentaram menor chance de proteção [$P=0,015$, OR 4,337 (IC95% 1,465 – 12,836)] e soroconversão [$P=0,045$, OR 3,532 (IC95% 1,148 – 10,867)] para a cepa H1N1 do vírus influenza A, quando comparados com os pacientes que utilizavam a azatioprina (Tab. 6).

Para a cepa H3N2 do vírus influenza A, os pacientes que usaram o MMF apresentaram menores chances de proteção [$P=0,039$, OR 2,845 (IC95% 0,902 – 8,976)] quando comparados com os pacientes que utilizavam a azatioprina (Tab. 7).

TABELA 6 – Taxas de proteção e soroconversão para a cepa H1N1 do vírus influenza A, após a vacinação em 69 transplantados renais que receberam Azatioprina (AZA) ou Micofenolato de Mofetil (MMF).

Influenza A (H1N1)				

Imunossupressor (n=69) %	PROTEÇÃO		p	OR	IC95%
	Sim (n=31) %	Não (n=38) %			
MMF (32) 46,4	(09) 28,1	(23) 71,9	0,015	4,337	1,465 – 12,836
AZA (37) 53,6	(22) 59,5	(15) 40,5			
SOROCONVERSÃO					
	Sim (n=24) %	Não (n=45) %			
MMF (32) 46,4	(07) 29,2	(25) 55,5	0,045	3,532	1,148 – 10,867
AZA (37) 53,6	(17) 70,8	(20) 44,5			

p <0,05. = Teste do Qui Quadrado de Pearson ou Teste Exato de Fisher.
Modelo de Regressão Logística ajustado pelo tempo do transplante até a data da vacina.

OR = Odds Ratio (Chance de Proteção e soroconversão)

IC95% = Intervalo de confiança de 95%

TABELA 7 – Taxas de proteção e soroconversão para a cepa H3N2 do vírus influenza A, após a vacinação em 69 transplantados renais que receberam Azatioprina (AZA) ou Micofenolato de Mofetil (MMF).

Influenza A (H3N2)

Imunossupressor (n=69) %	PROTEÇÃO		p	OR	IC95%
	Sim (n=22) %	Não (n=47) %			
MMF (32) 46,4	(06) 18,8	(26) 81,2	0,039	2,845	0,902 – 8,976
AZA (37) 53,6	(16) 43,2	(21) 56,8			
SOROCONVERSÃO					
	Sim (n=16) %	Não (n=53) %			
MMF (32) 46,4	(04) 25,0	(28) 52,8	0,085	2,574	0,692 – 9,568
AZA (37) 53,6	(12) 75,0	(25) 47,2			

p <0,05. = Teste do Qui Quadrado de Pearson ou Teste Exato de Fisher.
Modelo de Regressão Logística ajustado pelo tempo do transplante até a data da vacina.

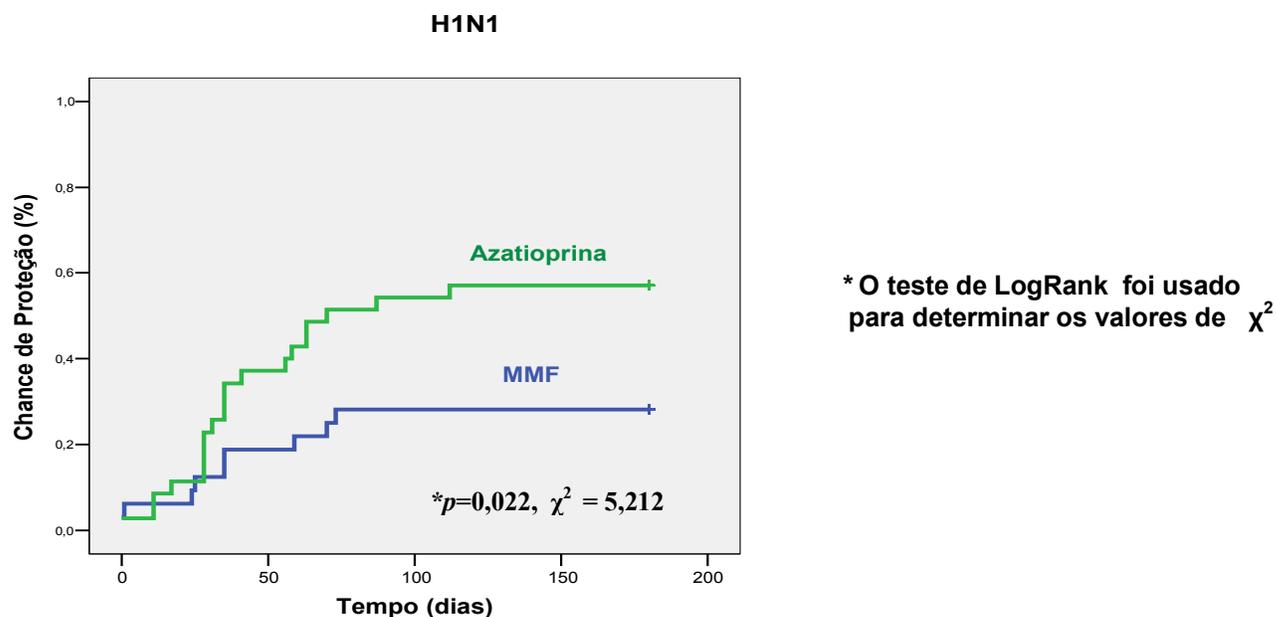
OR = Odds Ratio (Chance de Proteção e Soroconversão).

IC95% = Intervalo de confiança de 95%

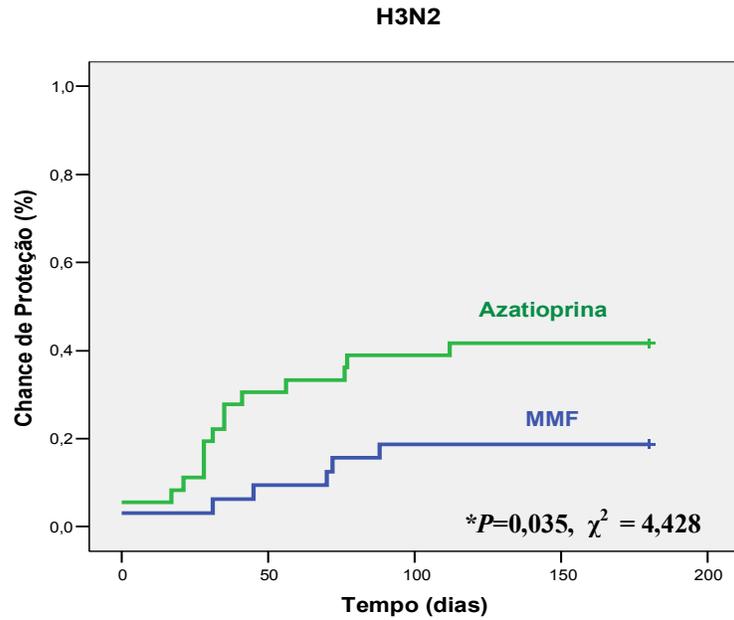
Para avaliar o percentual de chance de proteção à vacina e o tempo no qual os anticorpos mantiveram-se elevados durante o período do estudo em pacientes que utilizaram ou não AZA e MMF, utilizou-se a curva de Kaplan-Meier.

A produção de anticorpos anti-hemaglutinina, manteve-se em elevação por tempo superior, e o número de eventos de proteção vacinal foi maior em pacientes que

utilizavam AZA quando comparado com pacientes que utilizavam MMF para as cepas H1N1 ($p=0,022$) e H3N2 ($p=0,035$) do vírus influenza A (Fig. 1A e 1B).



FIGURAS 1A – Estimativa de elevação dos títulos de anticorpos séricos anti-HA para a cepa H1N1 do vírus influenza A em pacientes que utilizaram AZA (n=37) ou MMF (n=32), através da curva de Kaplan-Meier.



* O teste de LogRank foi usado para determinar os valores de χ^2

FIGURAS 1B – Estimativa de elevação dos títulos de anticorpos séricos anti-HA para a cepa H3N2 do vírus influenza A em pacientes que utilizaram AZA (n=37) ou MMF (n=32), através da curva de Kaplan-Meier.

4.2 PESQUISA EM SECREÇÕES NASOFARÍNGEAS DOS VÍRUS INFLUENZA A E B, VÍRUS SINCICIAL RESPIRATÓRIO, ADENOVÍRUS E VÍRUS PARAINFLUENZA 1, 2 E 3.

Foram coletados durante os seis meses de acompanhamento ambulatorial, 434 amostras de lavado nasofaríngeo, com média de 5,78 amostras colhidas por paciente. Entretanto, somente em seis pacientes foi possível identificar a presença de vírus respiratórios através da pesquisa do lavado nasofaríngeo. O vírus sincicial respiratório (VSR) foi identificado em dois pacientes, um deles assintomático e o outro com quadro de tosse com expectoração branca, coriza e congestão nasal. O vírus parainfluenza (PIV) 3 foi identificado em dois pacientes sintomáticos. Um paciente com tosse com expectoração branca, coriza e congestão nasal, odinofagia, dispnéia e cansaço, náuseas, diarreia e dor abdominal que, se iniciaram três dias antes da realização da pesquisa do lavado nasal. O outro paciente com PIV 3 apresentou tosse com expectoração branca, coriza e congestão nasal, odinofagia, dispnéia e cansaço. Em dois pacientes que não apresentaram resposta à vacina, identificou-se em uma paciente assintomática, o vírus influenza B, e em outra paciente com infecção respiratória sintomática foi identificado o vírus influenza A. Neste último caso, a coleta do lavado nasal foi realizada três dias antes do início dos sintomas de febre, mialgia, coriza e congestão nasal, tosse produtiva com expectoração amarelada e cansaço. O quadro clínico persistiu por mais de seis semanas, resultando em dez visitas por sintomas respiratórios.

Adenovírus não foi encontrado em nenhum paciente.

O tempo entre o início dos sintomas e a colheita de lavado nasal foi elevado, com média de 9,7 dias \pm 9,4 dias.

4.3 EVENTOS ADVERSOS LOCAIS E SISTÊMICOS INDUZIDOS PELA VACINA ANTI-INFLUENZA.

Do total de 75 transplantados vacinados, 34 receberam dose única da vacina no músculo deltóide do braço direito, 10 no músculo deltóide do braço esquerdo, e 31 pacientes não souberam relatar o local de aplicação da vacina.

O número de eventos adversos diretamente relacionados com a vacinação foi baixo, sendo que quatro pacientes referiram sintomas locais que desapareceram após 48 horas, e dois pacientes relataram sintomas sistêmicos (tosse, coriza nasal e falta de apetite). Não houve relato de reações alérgicas cutâneas e tampouco complicações neurológicas (Tab. 08).

Os valores iniciais da creatinina sérica foram semelhantes àqueles obtidos um mês após a vacinação, respectivamente $1,84 \pm 0,55$ e $1,74 \pm 0,65$, $p=0,312$. Não ocorreu nenhum episódio de rejeição no período de estudo.

TABELA 08 – Número e tipos de eventos adversos relatados após a aplicação da vacina trivalente inativada anti-influenza A e B em 75 transplantados renais.

EFEITOS COLATERIAS	N	%
Queimação local	2	2,60
Dor local	1	1,33
Edema local	1	1,33
Tosse e coriza	1	1,33
Falta de apetite	1	1,33
Total	6	8,0

4.4 QUESTIONÁRIO DE SATISFAÇÃO.

Ao final dos seis meses de acompanhamento dos transplantados submetidos à vacina contra a gripe, foi aplicado um questionário contendo três perguntas simples e diretas (ANEXO 3) com respeito a aceitação e a confiança dos pacientes quanto a utilização da vacina inativada trivalente para os vírus influenza A e B. No total, 70 pacientes responderam às perguntas, e destes 94,3% consideraram que a vacina os

protegeu contra a gripe. Também, 97,2% demonstraram interesse em receber a vacina novamente e 95,7% indicariam esta vacina aos familiares (Tab.09).

TABELA 09 – Perguntas feitas aos pacientes no final do estudo para avaliar o a aceitação e confiabilidade na vacina contra a gripe.

	P1	P2	P3
Resposta	% (n)	% (n)	% (n)
Sim	94,3 (66)	97,2 (68)	95,7 (67)
Não	5,7 (4)	2,8 (2)	4,3 (3)

P1 - A Vacina o protegeu contra a gripe?

P2 - Você tomaria a vacina novamente?

P3 - Você indicaria a vacina para seus familiares?

5. DISCUSSÃO

No presente estudo, o acompanhamento prospectivo de seis meses em transplantados de rim que receberam a vacina inativada trivalente contra os vírus influenza A e B, demonstrou efetiva produção de anticorpos séricos anti-hemaglutinina (anti-HA) para as cepas H1N1 e H3N2 do vírus influenza A. Títulos médio geométrico (TMG) foram calculados mensalmente para cada cepa contida na vacina objetivando demonstrar o perfil de resposta imune após a vacina, ao longo do acompanhamento. Os TMG pré-vacinais no estudo foram baixos para todas as cepas mostrando baixa imunidade prévia específica antes da vacinação na maioria dos pacientes. De acordo

com Beyer et al, em população de soronegativos antes da vacinação, a medida dos TMG subsequentes, é um método que expressa adequadamente a resposta imune (Beyer et al, 2004). Os TMG máximo para a cepa H1N1 foram maiores do que para a cepa H3N2 e mantiveram-se elevados ao longo do acompanhamento, mostrando manutenção da resposta imune durante pelo menos seis meses. Não houve elevação significativa nos TMG para a cepa influenza B, mostrando resposta imune insuficiente após a vacinação.

Um estudo em indivíduos saudáveis com idade acima de 65 anos, vacinados contra gripe, mostrou que os TMG, para as cepas H1N1, H3N2 de influenza A e influenza B foram um mês após, respectivamente 29,6, 183,8 e 30,6, superiores aos TMG máximos encontrados no presente estudo (Brydak et al, 2003). Outros estudos também em indivíduos saudáveis maiores de 60 anos mostrou que os TMG para as cepas influenza A H1N1 e H3N2 e influenza B foram 180, 238 e 416 respectivamente, também maiores que os TMG encontrados no presente estudo (Belshe et al, 2004).

Nos receptores de transplante renal do presente estudo, os TMG máximos para as cepas H1N1 e H3N2 do vírus influenza A não apresentaram elevações tão acentuadas se comparados com os trabalhos descritos em indivíduos saudáveis, possivelmente pela imunossupressão farmacológica.

De acordo com Beyer et al, quando a maioria dos indivíduos apresentar títulos pré-vacinais anti-HA menor que 1:40, os níveis de TMG após a vacina serão mais baixos quando comparados com amostra de indivíduos que apresentam títulos pré-vacinais anti-HA maior ou igual à 1:40. Esta diferença, não traduz menor resposta imune após a vacina, ao contrário, TMG pré e pós-vacinais elevados, dificultam a avaliação da resposta imune humoral, pois podem refletir uma população previamente exposta aos antígenos vacinais (Beyer et al, 2004).

Em relação às taxas de proteção, o estudo atual mostrou que a vacina produziu proteção para qualquer uma das três cepas vacinais em 57,4% dos pacientes. Apesar de não haver uma associação exata, especialmente em pacientes imunossuprimidos, é amplamente aceito que a produção de anticorpos séricos anti-hemaglutinina (anti-HA) em níveis maiores ou iguais à 1:40 esteja relacionado à proteção contra a infecção e

quando produzidos em níveis mais baixos atenuam os efeitos da gripe (Vilchez et al, 2002b; Blumberg et al, 1996; Sanchez-Fructuoso et al, 2000).

Não existem dados que avaliam se os níveis de anticorpos anti-HA $\geq 1:40$ são tão eficientes para proteção em transplantados de órgãos (Brydak et al, 2003; Cavdar et al, 2003; Belshe et al, 2004b; Beyer WE et al 2004; Scharpé J et al, 2007). Não obstante, de acordo com Beyer et el, a taxa de proteção é um bom parâmetro de resposta imune para avaliar a eficácia da vacina contra a gripe, sendo relevante principalmente em estudos de saúde pública (Beyer et al, 2004).

Em nosso estudo, os níveis de anticorpos anti-HA pré-vacinais foram predominantemente baixos, o que colaborou para a avaliação da resposta humoral. Os resultados de soroproteção do presente estudo permitiram demonstrar que, a vacinação em transplantados renais é uma boa estratégia preventiva, porque induz a produção de anticorpos anti-HA. Ao contrário, Vilchez et al sugerem que a vacinação não deveria ser a estratégia profilática ideal nestes indivíduos, e sim a utilização profilática de medicamentos antivirais, justificado pela menor produção de anticorpos séricos anti-HA após a vacina, e também pela ocorrência de um caso de infecção aguda grave pelo vírus influenza A mesmo após a vacinação (Vilchez et al, 2002b).

No Brasil, em um estudo realizado em população de idosos institucionalizados, a taxa de proteção após a vacina contra a gripe foi de 30,8% somente (Bellei et al, 2006), enquanto que em outro estudo em idosos não institucionalizados, a taxa de proteção foi de 80% (Lino, 2001), resultados, respectivamente inferiores e superiores às taxas de proteção encontrados no presente estudo.

Em uma população de transplantados pediátricos submetidos ao transplante de rim ou fígado, 67% apresentaram soroproteção após a vacina contra a gripe, resultado pouco superior se comparado com o nosso estudo (Duchini et al, 2003).

No presente estudo, somente 9,3% dos pacientes apresentaram títulos de anticorpos anti-HA $\geq 1:40$ antes da vacinação para as cepas H1N1 e H3N2 do vírus influenza A, o que pode ser em decorrência de infecções prévias por outros vírus que compartilham antígenos comuns (Cavdar et al, 2003). Os baixos títulos de proteção pré-vacinais podem indicar provável ausência de vacinação anterior contra a gripe

nesta população, pois não foi possível determinar o percentual prévio de vacinados. Estudo em pacientes transplantados renais demonstrou que as taxas de proteção pré-vacinal para os vírus influenza A H1N1 e H3N2 e influenza B foi de 78%, 50% e 83% respectivamente, taxas maiores do que as encontradas no presente estudo, sugerindo vacinação anterior (Scharpé et al 2007). Em outro estudo em transplantados de rim adultos vacinados contra a gripe, as taxas de proteção pré-vacinal para os vírus influenza A H1N1 e H3N2 e influenza B foi de 17%, 76% e 41% respectivamente (Cavdar et al, 2003). Nos dois estudos descritos acima, as altas taxas de proteção pré-vacinais poderiam dificultar a análise da resposta humoral após a vacina.

No nosso estudo, após a vacinação, a taxa de proteção para as cepas H1N1 e H3N2 do vírus influenza A aumentou de 9,3% para 45,3% e 33,3% respectivamente, mostrando resposta imune adequada à vacina para as cepas mais patogênicas da gripe. Um estudo mostrou em pacientes transplantados de rim ou fígado em uso de inibidores de calcineurina, taxas de proteção para as cepas H1N1, H3N2 de 44% e 81% respectivamente, resultado superior para a cepa H3N2, ao encontrado no presente estudo (Willcocks et, 2007). Recentemente, outro estudo comparou transplantado de rim com voluntários sadios vacinados contra a gripe, mostrou altos níveis de proteção pós-vacinal, com taxas de proteção para as cepas H1N1, H3N2 do vírus influenza A de 92,7%, 78,7% respectivamente, resultados superiores aos do presente estudo. Porém, as taxas de proteção pré-vacinal foram elevadas (50% a 78%), o que dificultou a análise final da resposta imune (Scharpé et al 2007).

No nosso estudo, a maior resposta humoral para a cepa H1N1 comparada a cepa H3N2 poderia estar relacionada à concentração de antígenos vacinais, já que na composição da vacina anti-influenza 2004-2005 trivalente inativada, a concentração de antígenos de hemaglutinina na cepa A/Nova Caledônia/20/99 (H1N1)-like foi de 15µg, enquanto que na cepa vacinal A/Wellington/1/2004 (H3N2)-like, a concentração de antígeno hemaglutinina foi de 10µg. De acordo com as recomendações da Organização Mundial de Saúde (OMS) cada cepa de antígeno vacinal deve conter no mínimo 15µg, entretanto, em virtude da menor quantidade de estoque mundial da cepa A/Wellington/1/2004 (H3N2)-like no ano de 2005, a vacina

fornecida pelo Instituto Butantã de São Paulo, Brasil e distribuída nacionalmente para a campanha de vacinação do idoso do Ministério da Saúde continha menor dose. Com a finalidade de aumentar a produção de anticorpos protetores, alguns autores sugerem que a quantidade de antígenos na vacina contra influenza seja maior que 15µg, enquanto outros sugerem que seja realizada uma dose de reforço da vacina (*booster*) até um mês após a primeira dose (Zei et al, 199; Keren et al 1988). Realizar uma dose de reforço da vacina contra gripe em pacientes que não produziram anticorpos anti-HA após a primeira dose foi eficiente em transplantados de fígado, com aumento dos anticorpos protetores de 68% a 80% (Soesman et al, 2000). Outros estudos, entretanto, não foram capazes de demonstrar um aumento significativo na produção de anticorpos anti-HA após a segunda dose da vacina (Blumberg et al 1996; Smith et al; 1998; Scharpé et al 2007).

No presente estudo, nenhum paciente apresentou anticorpos protetores para o vírus influenza B antes da vacinação, e somente um apresentou produção de anticorpos anti-HA para o vírus influenza B após a vacinação. No Brasil, no período de janeiro a dezembro de 2005, o laboratório de virologia do Instituto Adolfo Lutz, integrante da Rede Nacional de Vigilância da Influenza, detectou a circulação das cepas B/Jiangsu/10/2003 like, B/Hong Kong/330/2001 e da cepa B/Shanghai/361/2002-like, esta última, contida na vacina. Todavia, é possível que a circulação do vírus influenza B na população em geral, tenha ocorrido preferencialmente por uma cepa imunologicamente diferente da cepa vacinal, fato que já foi demonstrado por vários autores , e responsável pela menor produção de anticorpos específicos após a vacinação (Burroughs et al, 2000; Vilchez et al, 2002a; Dichini et al, 2003).

Apesar da ausência de resposta imune ao vírus influenza B em quase todos os pacientes, a gripe é mais grave quando causada pelo vírus influenza A, e menos intensa quando produzida pelo vírus influenza B (Blaine et al, 1980). Não obstante, parece que a capacidade imunogênica do antígeno influenza B vacinal é inferior aos outros componentes H1N1 e H3N2 do vírus influenza A da vacina trivalente. Utilizando uma versão atualizada da vacina inativada trivalente contra a gripe, Sanches-Fructuoso et al demonstraram que, somente 4,7% e 20,5% dos transplantados

renais foram capazes de produzir resposta imune para o vírus influenza B após um e três meses respectivamente (Sanchez-Fructuoso et al, 2000).

Em relação à taxa de soroconversão, ou seja, a proporção de pacientes com o aumento de pelo menos quatro vezes nos títulos de anticorpos anti-hemaglutinina após a vacinação, no presente estudo as taxas foram respectivamente de 36% e 25,3%, para as cepas H1N1 e H3N2 do vírus influenza A, e para o vírus influenza B foi de somente 1,3%. Já em 1977, Stiver et al mostrou em transplantados de rim que utilizaram vacina contra a gripe contendo somente dois antígenos virais, taxas de soroconversão de 31% para a cepa H3N2 do vírus influenza A e 24% para o influenza B, resultado superior somente para cepa de influenza B em relação ao presente estudo (Stiver et al, 1977). Recentemente, as taxas de soroconversão para as cepas H1N1 e H3N2 do vírus influenza A e do vírus influenza B, após a vacinação em transplantados no estudo de Scharpé et al, foram 45%, 30% e 27,5% e no estudo de Cavdar et al, e 35%, 11% e 29% respectivamente (Scharpé et al 2007; Cavdar et al, 2003). As taxas de soroconversão para as cepas do vírus influenza A encontradas no presente estudo foram similares às descritas nos estudos citados acima. Em uma população de indivíduos saudáveis com idade maior de 62 anos vacinados contra a gripe, as taxas de soroconversão para as cepas H1N1 e H3N2 do vírus influenza A e do vírus influenza B, foram 42,2%, 91,1% e 42,2% respectivamente, resultado superior aos encontrados no presente estudo (Brydak et al, 2003).

Na literatura consultada não foi encontrado nenhum trabalho que analisou periodicamente os TMG durante seis meses consecutivos juntamente com taxas de soroproteção e soroconversão em transplantados de rim vacinados contra a gripe, sendo assim, não foi possível fazer uma comparação detalhada dos resultados deste trabalho com outras publicações.

Várias causas podem ser creditadas à baixa resposta humoral após a vacina trivalente inativada contra os vírus da gripe em populações de imunossuprimidos ou transplantados, como: a ausência de atividade replicativa nas vacinas inativadas, não havendo habitualmente uma resposta imunológica tão satisfatória quanto à obtida com as vacinas de microrganismo vivo; pacientes muitos jovens e idosos; a presença de

doenças crônicas; o tipo de órgão transplantado; o tempo após o transplante; o tipo de drogas imunossupressoras utilizadas. Mesmo independente do estado imune do hospedeiro, a virulência dos vírus influenza pode variar de forma sazonal, e a capacidade de induzir resposta imune pode variar entre as cepas circulantes de vírus influenza e também entre as cepas vacinais. É possível que as cepas contidas na vacina em determinado ano não sejam antigenicamente relacionadas com os vírus em circulação naquele ano em particular (Burroughs et al, 2000; Cavdar et al, 2003; Brydak et al, 2003).

Na população estudada, a possível influência do tempo decorrido entre a realização do transplante e a vacinação, na resposta imune mostrou que pacientes que realizaram o transplante há menos de 87 meses, apresentaram menor produção de anticorpos do que àqueles que foram transplantados em tempo superior. Refletindo possivelmente que, quanto maior o tempo decorrido após o transplante, melhor é a resposta imunológica.

Além disso, a utilização de azatioprina e micofenolato de mofetil modificou a produção de anticorpos anti-HA após a vacinação, enquanto que outros fatores como sexo, tipo de doador, as diversas doenças de base e a utilização de tacrolimo, ciclosporina, sirolimo e metilprednisolona, não interferiram na resposta à vacina.

Willcocks et al estudaram a influência do uso de esquema de imunossupressão com os inibidores de calcineurina (ciclosporina ou tacrolimo) ou sirolimo na resposta à vacina em transplantados de rim e fígado, e demonstraram que a produção de anticorpos anti-HA foi semelhante entre os dois grupos, e não houve interferência de outros fatores na taxa de resposta a vacina (Willcocks et al, 2007). Outro estudo em transplantados de rim vacinados contra a gripe, mostrou que somente as taxas de proteção pré-vacinais e o uso de MMF reduziram a resposta à vacina (Scharpé et al, 2007).

Outros fatores, como a maior circulação de vírus influenza em uma determinada época do ano associado ao regime de imunossupressão, foram fatores associados a menor resposta à vacina de gripe em transplante de medula óssea (Machado et al, 2005).

No presente estudo, o MMF reduziu as taxas de proteção para as cepas H1N1 e H3N2 e a taxa de soroconversão para a cepa H1N1 do vírus influenza A, quando comparado com o uso de azatioprina.

Já são conhecidos os efeitos inibidores potentes sobre a imunidade humoral do MMF em pacientes transplantados de rim (Smith et al, 1998; Rentenaar et al, 2002). Sanchez-Fructuoso et al demonstraram tendência à menor produção de anticorpos anti-HA após a vacina contra influenza em transplantados renais que faziam uso de MMF (Sanchez-Fructuoso et al, 2000). Em estudo recente, demonstrou-se que o uso de MMF foi responsável pela redução de 2,6 a 5 vezes nas taxas de soroconversão à vacina contra a gripe em transplantados de rim (Scharpé et al 2007). Ao contrário dos resultados encontrados no presente estudo, Versluis et al demonstraram que a resposta humoral à vacina contra a gripe em transplantados de rim foi inferior em pacientes que utilizavam ciclosporina quando comparado com azatioprina (Versluis et al, 1986).

Não foram incluídos voluntários sadios para a comparação de resposta imune. Vários estudos anteriores compararam transplantados de órgãos com voluntários sadios e os resultados, com poucas exceções, mostram menor produção de anticorpos anti-HA após a vacina contra gripe nos imunossuprimidos (Stiver et al, 1977; Sanchez-Fructuoso et al, 2000; Vilchez et al, 2002a; Cavdar et al, 2003; Scharpé et al, 2007). Todavia, a maioria dos estudos concluem que a resposta imune à vacina é adequada, com exceção de Vilchez et al e Blumberg et al que encontraram resposta imune insuficiente após a vacina (Blumberg et al 1996; Vilchez et al, 2002b). A resposta imune induzida pelo vírus da gripe é complexa e inclui a perfeita interação entre imunidade humoral e celular, e ocorre principalmente pela produção de anticorpos anti-hemaglutinina e anti-neuraminidases e de gama-interferon (IFN- γ) produzido pelas células T periféricas (Ballet et al, 2006).

No presente estudo, a produção de anticorpos para as cepas H1N1 e H3N2 do vírus influenza A manteve-se em elevação por tempo inferior nos seis meses de avaliação e o número de eventos de proteção à vacina foi menor em pacientes que usavam MMF, e maiores nos pacientes que utilizaram azatioprina, mostrando que a

resposta imune é maior e mais duradoura em transplantados renais imunossuprimidos com azatioprina do que os que utilizam micofenolato de mofetil.

Os estudos que analisam a eficácia da vacina contra a gripe nos transplantados de órgãos sólidos preocupam-se com a quantificação dos anticorpos anti-HA, sem determinar a real frequência das doenças respiratórias após a vacinação, e comumente, não existe a preocupação em diferenciar a infecção respiratória causada pelo vírus da gripe das infecções causadas por outros vírus respiratórios, tais como o vírus sincicial respiratório (VSR), adenovírus e os vírus parainfluenza 1, 2 e 3, que são cada vez mais reconhecidos como causas de complicações graves nesta população (*American Society of Transplantation, 2004a*). Há poucos estudos prospectivos que usam técnicas diagnósticas atuais para o diagnóstico de infecções virais respiratórias em transplantados, e a maioria em transplante de medula óssea e de pulmão (Ison, 2005). Um estudo retrospectivo em um único centro demonstrou que transplantados de medula óssea alogênico, que apresentaram infecções por influenza, VSR, parainfluenza e picornavírus desenvolveram pneumonia grave, com mortalidade global de 15% (Chemaly et al, 2006).

No presente estudo, realizamos sistematicamente, a pesquisa nas secreções nasofaríngeas dos vírus influenza A e B, parainfluenza 1,2 e 3, vírus sincicial respiratório (VSR) e o adenovírus. Apesar de 68% dos transplantados, ao longo dos seis meses de seguimento apresentarem sintomas respiratórios, em somente seis pacientes a pesquisa direta do vírus nas secreções nasofaríngeas foi positiva, sendo que dois deles que não produziram resposta vacinal eficiente, foi encontrado o vírus influenza. Um deles assintomático infectado pelo vírus influenza B e o outro pelo vírus influenza A, com sintomas mais intensos que permaneceram por seis semanas, possivelmente pela maior patogenicidade da cepa de influenza A (Kilbourne, 2006). Entretanto, não houve necessidade de internação hospitalar e a função renal manteve-se preservada. Em transplantados de rim, Vilchez et al descreveram após gripe a presença de miocardite, miosite, bronquiolite obliterante e dois casos bem documentados de rejeição aguda ao enxerto (Vilchez et al, 2002a).

○ VSR foi identificado em dois pacientes, um assintomático e o outro com sintomas leves de vias aéreas superiores. ○ VSR é descrito como o vírus respiratório mais comum em transplantados de medula óssea, com patogenicidade variável, porém, em transplantes de órgãos a incidência parece estar crescendo, especialmente naqueles com linfopenia (*American Society of Transplantation, 2004a*). Em crianças transplantadas de rim com diagnóstico de infecção pelo VSR, os sintomas foram semelhantes aos encontrados no presente estudo, entretanto, três pacientes desenvolveram rejeição aguda imediatamente após a infecção (*Miller et al, 1996*).

○ vírus parainfluenza (PIV) 3 foi também diagnosticado em dois pacientes, ambos com sintomas respiratórios associados à dispnéia e cansaço, e um paciente apresentou sintomas gastrointestinais. Infecções por PIV são também descritos com mais frequência nos transplantados de medula óssea e pulmão, associados à rejeição e bronquiolite obliterante (*Ison, 2005*). Foi descrito epidemia de PIV 3 em uma unidade de transplante de rim com descrição de 16 pacientes infectados com sintomas respiratórios moderados, sem sintomas gastrointestinais ou episódios de rejeição, não havendo impacto na mortalidade global (*DeFabritus et al, 1979*).

No presente estudo, a pesquisa de adenovírus nas secreções respiratórias foi negativa em todas as amostras. Há relatos de infecção pelo adenovírus em vias aéreas em transplantados que evoluíram com cistite hemorrágica e bronquiolite (*Ison, 2005*). Estudos recentes sugerem que a infecção pode ocorrer com frequência após transplantes de órgãos sólidos (7,2%-22,5%), porém, evoluem de forma assintomática com baixa morbidade (*Humar et al, 2004*).

Existe pouca informação relativa às consequências clínicas das infecções virais respiratórias em transplantados de órgãos. Um estudo recente prospectivo demonstrou complicações bacterianas secundárias em 18,5% dos pacientes, com necessidade de hospitalização em 5% deles, diferentemente, nenhum paciente em nosso estudo necessitou internação hospitalar (*López-Medrano et al, 2007*).

○ pequeno número de agentes identificados no nosso estudo deve-se provavelmente ao longo tempo decorrido entre o início dos sintomas e a coleta da secreção nasofaríngea, em média 9,7 dias. ○ sucesso diagnóstico da pesquisa direta

de vírus nas secreções nasofaríngeas depende da precocidade da coleta, de preferência entre o terceiro e quinto dia após o início dos sintomas respiratórios. Também é descrito que a sensibilidade da pesquisa de vírus nas vias aéreas pode ser mais baixa em transplantados (Ison, 2005).

Geralmente, a vacina inativada trivalente para os vírus influenza A e B é bem tolerada, com baixa incidência de complicações, apesar de relatos esporádicos de indução de rejeição ao enxerto, de complicações neurológicas e de sintomas relacionados a gripe (Cavdar et al, 2003; Scharpé et al 2007). Sanchez-Fructuoso et al relataram algum tipo de evento adverso em somente 2% dos transplantados de rim após a vacina contra a gripe, resultados semelhantes aos encontrados no presente estudo (8%), no qual os eventos adversos foram infrequentes e brandos. Não houve reações alérgicas cutâneas, episódios de rejeição aguda, piora da função renal e tampouco complicações neurológicas ao longo dos seis meses de observação.

Apesar de amplamente recomendado como a principal estratégia profilática para infecções pelo vírus influenza A e B em transplantados de órgãos, muitos pacientes não são imunizados contra o vírus da gripe. Recentemente, um estudo sobre infecções virais respiratórias em transplantados de rim, fígado e coração, mostrou que somente 54% dos pacientes haviam recebido vacina contra a gripe (López-Medrano et al, 2007). As razões para a ausência de vacinação estão geralmente relacionadas às possíveis reações à vacina, a falta de preocupação com a gripe, a falsa ideia de que após a vacinação “do idoso” estes podem evoluir com sintomas de gripe, à baixa produção de anticorpos específicos causada pelo uso de imunossupressores e até pela preocupação de possível rejeição ao enxerto (Muora et al, 2004; Duchini et al, 2003).

Ao final do presente estudo, aplicou-se um questionário direcionado à verificar como os pacientes consideraram a vacinação em termos de confiabilidade e satisfação, e a disposição de realizá-la anualmente como método profilático. A maioria dos pacientes que responderam às perguntas considerou que a vacina os protegeu contra a gripe. Também, demonstraram interesse em receber a vacina novamente e a indicariam aos familiares. Este resultado mostra aceitação e confiabilidade da vacina contra a gripe na população estudada de transplantados de rim, provavelmente pela baixa ocorrência

de efeitos colaterais locais e sistêmicos relacionados à vacina, pelo pequeno número de pacientes que apresentaram gripe diagnosticados pela pesquisa direta nas secreções nasofaríngeas e principalmente pelo fato da vacina não ter induzido danos diretos ao enxerto. De fato, na fase inicial da pesquisa havia o receio dos pacientes que a vacina, não somente poderia “produzir gripe ou resfriado”, mas também que após a vacinação a função renal poderia deteriorar ou interferir na ação das drogas imunossupressoras. Todavia, existe a possibilidade destes dados apresentarem viéses, pois, o questionário foi aplicado pelo próprio investigador que durante a condução da pesquisa acompanhou os pacientes com maior frequência do que o habitual. Ou seja, a segurança e confiabilidade da vacina podem ter sido confundidas com a segurança do acompanhamento ambulatorial mais estreito.

Em conclusão, o presente estudo demonstrou que pacientes transplantados de rim vacinados contra a gripe, produziram anticorpos contra as cepas do vírus influenza A, e não para o vírus influenza B. Pacientes imunossuprimidos com micofenolato de mofetil e àqueles transplantados há menos tempo, apresentaram menor resposta imune do que àqueles que foram transplantados há mais tempo e que utilizavam azatioprina. Os eventos adversos relacionados à vacina foram infrequentes e leves.

6 CONCLUSÕES

Na população estudada de receptores de transplante renal:

1. A vacinação contra a gripe produziu resposta imune humoral ao vírus influenza A. Houve maior produção de anticorpos anti-hemaglutinina para a cepa H1N1 do que para a cepa H3N2, e os títulos de anticorpos permaneceram estáveis durante seis meses. Não houve produção de anticorpos para o vírus influenza B.
2. Indivíduos que receberam o enxerto há menos de 87 meses apresentaram menor taxa de proteção para a cepa H1N1 e soroconversão para a cepa H1N1 e H3N2.
3. A imunossupressão farmacológica com micofenolato de mofetil associou-se à menor taxa de proteção para as cepas H1N1 e H3N2, e soroconversão para a cepa H1N1 do vírus influenza A, quando comparado à utilização de azatioprina.
4. A identificação dos vírus influenza A e B, adenovírus, vírus sincicial respiratório e parainfluenza 1, 2 e 3 nas secreções nasofaríngea foi baixa.

5. A frequência de eventos adversos diretamente relacionados com a vacinação foi pequena e sem gravidade.
6. A maioria dos transplantados de rim e vacinados, consideraram que a vacina os protegeu contra a gripe.

7 ANEXOS

ANEXO 1- FICHA CLÍNICA DE AVALIAÇÃO INICIAL E DADOS DA VACINAÇÃO.

Identificação:

(1)Nome: _____

(2)Idade: _____(3)Sexo: _____(4)Data TX: ____/____/_____

(5) Quantos Transplantes Realizou: 1 ___ 2 ___

(6) Tipo de Doador: Vivo ___ falecido ___

(7)Doença de base: _____

Imunossupressão:

(1)Ciclosporina ___ (2)Tacrolimo ___ (3)Sirolimo ___

(4)Azatioprina ___ (5)Micofenolato mofetil ___

(6) Prednisona ___

ANEXO-2 EFEITOS ADVERSOS DA VACINA.**Vacinação:**

(1) Data da vacinação: ____/____/____

(2) Sítio de aplicação da vacina: _____

(3) Efeitos colaterais após vacinação: Sim _____ Não _____

(4) Tempo (dias) após vacinação: _____

(5) Quais Sintomas: _____

ANEXO-3 QUESTIONÁRIO DE ACEITAÇÃO E CONFIABILIDADE À VACINA.

(1) A Vacina protegeu contra a gripe? Sim ____ Não ____

(2) Você Tomaria a vacina novamente? Sim ____ Não ____

(3) Você Indicaria a vacina para familiares? Sim ____ Não ____

ANEXO-4 TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

COLETA DE LAVADO DE NASOFARINGE PARA PESQUISA DE VÍRUS RESPIRATÓRIOS, INFLUENZA A e B, PARAINFLUENZA, VÍRUS SINCICIAL RESPIRATÓRIO E ADENOVÍRUS, APÓS VACINAÇÃO.

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Número do Protocolo _____ Nome do Paciente _____

ESTUDO:

Você realizou um transplante de rim há pelo menos 6 meses e esta usando medicações para evitar complicações no enxerto como as rejeições. Estas medicações que você usa diariamente fazem com que a imunidade do seu organismo fique mais baixa, e portanto você pode adquirir infecções com maior frequência do que as pessoas que não usam estes remédios para evitar rejeição.

As infecções mais frequentes que existe são o resfriado comum e a gripe. O resfriado pode ser causado pelos vírus parainfluenza ou pelo vírus sincicial respiratório ou até pelo adenovírus. Já a gripe é causada por vírus que se chama influenza do tipo A e B. A gripe por influenza pode causar febre, tosse, mal estar, coriza nasal, dores no corpo e fraqueza. Porém, nas pessoas que são transplantadas, a gripe por influenza pode causar sintomas pulmonares mais fortes como pneumonia, sinusite, otite e complicações em outros órgãos inclusive no enxerto.

A gripe e o resfriado comum são transmitidos com facilidade por via respiratória, e a forma de contrair estes vírus é sempre através do contato com outras pessoas que estão com o vírus da gripe ou do resfriado de forma encubada ou já com tosse e espirros. Pessoas de sua própria família e outras pessoas que podem estar em qualquer lugar como no ônibus ou metrô também podem transmitir estes vírus.

Existe vacina contra o vírus influenza A e B da gripe que é feita com vírus inativados (vírus que estão mortos e não produzem mais doenças) e que é realizada em pessoas saudáveis e também em que tem a imunidade baixa como a sua, nas pessoas idosas e nos diabéticos ou transplantados. A vacina estimula o organismo a produzir anticorpos contra o vírus influenza.

As pessoas que receberam um transplante de rim há mais de 6 meses e que estão usando medicações contra rejeição deveriam ser vacinadas para evitar que a gripe comprometa o pulmão ou o enxerto. A justificativa da vacinação é no sentido de proteger as pessoas transplantadas de adquirirem a gripe e suas formas graves.

OBJETIVOS DO ESTUDO:

Neste estudo planejamos vacinar contra os vírus influenza A e B da gripe pessoas que receberam o transplante após 6 meses e que não tenham sido vacinadas antes de realizar o transplante.

Após 3 semanas da data da vacinação e de 3 em 3 semanas até completar 6 meses após a vacina as pessoas transplantadas serão submetidas à colheita de secreções nasais para que seja realizada a

pesquisa dos vírus causadores de resfriado e de gripe. As pessoas que apresentarem um ou mais dos sintomas respiratórios tais como, tosse seca ou produtiva, coriza nasal, febre, cefaléia, chiado no peito, falta de ar e dor no corpo, serão também submetidas à colheita de secreções nasais para que seja realizada a pesquisa dos vírus causadores de resfriado e de gripe.

Para colher esta secreção é preciso fazer uma lavagem das duas narinas com soro e deve-se assoar o nariz em um copo coletor. Este procedimento pode ser um pouco desconfortável, mas não oferece nenhum risco. O material é encaminhado ao laboratório onde várias técnicas são feitas para identificar-se corretamente o vírus

Será também colhida amostra mensal de sangue para determinar a quantidade de anticorpos que foram induzidos pela vacina. O objetivo deste estudo é saber se a vacina contra a gripe confere proteção aos pacientes transplantados renais que tomam medicações para rejeição, e se a pessoa que é vacinada tem capacidade de evitar o aparecimento dos sintomas de gripe. Também avaliaremos se as pessoas que apresentarem sintomas respiratórios estão infectadas com outros vírus causadores de resfriado como o parainfluenza, o vírus sincicial respiratório ou o adenovírus.

PROCEDIMENTOS DO ESTUDO:

Se você decidir participar deste estudo, você receberá uma única dose intramuscular de 0.5 ml da vacina de vírus inativado anti-influenza A e B, pelo menos 6 meses após ter recebido um rim transplantado.

Todos os indivíduos que apresentarem um ou mais dos sintomas respiratórios após a vacinação tais como, tosse seca ou produtiva, coriza nasal, febre, cefaléia, chiado no peito, falta de ar e dor no corpo será submetida à colheita de secreções nasais através da lavagem das duas narinas com soro e em seguida deve-se assoar o nariz em um copo coletor. Estes exames serão colhidos também a cada 3 semanas a partir da data da vacinação até o quarto mês, mesmo se você não apresentar sintomas respiratórios.

Também será realizada a cada mês, a colheita de amostra de sangue para determinar a concentração de anticorpos de defesa contra os vírus da gripe induzidos pela vacinação.

Para participar deste estudo, você deve ter mais de 18 anos e estar sentindo-se bem, ter a função do rim transplantado estável, e não pode estar usando antibióticos para infecções.

Você não pode participar do estudo se você tiver **antecedentes de alergia à proteína de ovo** ou já tiver tido complicações alérgicas anteriores com outras vacinas.

Antes de receber a vacina, será realizado exame físico completo e colhidos exames de sangue para determinar os níveis de anticorpos contra os vírus da gripe.

Durante o período de acompanhamento, você terá visitas médicas ambulatoriais a cada 3 semanas (ambulatório da clínica de nefrologia da Santa Casa de São Paulo) e também visitas à Santa Casa de São Paulo todas as vezes que você apresentar sintomas respiratórios de resfriado ou gripe. Serão realizados exames de sangue mensal para determinar os níveis de anticorpos contra os vírus da gripe, e hemograma e função renal (creatinina) e colheita de secreções nasais através da lavagem das duas narinas com soro seguido da coleta da secreção em um copo coletor.

DURANTE O PERÍODO DE ACOMPANHAMENTO, QUE TERÁ A DURAÇÃO APROXIMADA DE SEIS MESES APÓS A VACINAÇÃO, VOCÊ TERÁ QUE COMPARECER O MAIS RÁPIDO POSSÍVEL À SANTA CASA PARA COLHEITA DE SECREÇÕES NASAIS SEMPRE QUE VOCÊ APRESENTAR SINTOMAS RESPIRATÓRIOS DE GRIPE OU RESFRIADO. AINDA, VOCÊ TERÁ ACOMPANHAMENTO MENSAL ATRAVÉS DE VISITAS MÉDICAS NO AMBULATÓRIO DA CLÍNICA DE NEFROLOGIA DA SANTA CASA DE SÃO PAULO.

BENEFÍCIOS E POSSÍVEIS EFEITOS COLATERAIS:

Os benefícios com a vacinação são para proteger as pessoas transplantadas renais de adquirirem gripe e suas formas graves como pneumonia, otite, sinusite e doenças que possam comprometer o enxerto. Isto evitaria usar antibiótico e internações hospitalares.

Apesar da vacina contra o vírus influenza ser composta de vírus inativado, raramente poderá haver efeitos colaterais como reação local à aplicação da vacina intramuscular, tais como dor e eritema

local (vermelhidão). Sintomas sistêmicos são raros , porém, febre, mal estar e dores no corpo podem ocorrer até 2 dias após a vacinação e desaparecem espontaneamente.

SEUS DIREITOS:

A participação neste estudo é totalmente voluntária: você não é obrigado a fazer parte deste estudo. O seu tratamento e a atitude de seu médico com respeito a você não serão afetados caso você decida não fazer parte deste estudo. Você precisará assinar um documento dizendo que você esta dando o seu consentimento em participar.

Se você concordar em participar, você poderá, contudo, retirar-se do estudo a qualquer momento sem penalização alguma e sem prejuízo aos seus cuidados. Para a sua própria segurança, é aconselhável avisar o investigador responsável se você pretender retirar-se do estudo.

As informações obtidas a seu respeito durante o curso deste estudo permanecerá confidencial. No registro dos resultados deste estudo, você será referido apenas por um número de código e suas iniciais.

Você receberá uma cópia deste documento de consentimento informado e poderá solicitar informações adicionais, a qualquer tempo, durante o estudo, da pessoa abaixo.

Dr. Mauro José Costa Salles

Telefone Celular: 0__11 91277289.

Telefone Consultório: 0__11 32267792

DECLARAÇÃO DE CONSENTIMENTO:

1. Declaro ter lido o consentimento informado. Recebi explicação da natureza, objetivo, duração, efeitos e riscos previsíveis do estudo. Minhas dúvidas foram esclarecidas.

2. Concordo em tomar parte deste estudo, cooperando totalmente com o investigador, com o qual me comunicarei caso sofra qualquer sintoma inesperado ou incomum durante o estudo. Durante todo o período de estudo, comunicarei o investigador sobre quaisquer outros tratamentos médicos que se fizerem necessário.

3. Já informei ao investigador sobre doenças anteriores , sobre os medicamentos usados

4. Estou ciente de que, se não cooperar integralmente com as solicitações e orientações do investigador, posso prejudicar-me ao participar deste estudo.

5. Entendo que a minha participação neste estudo é voluntária e que posso recusar minha participação ou retirar-me do estudo, a qualquer tempo, sem nenhuma penalidade ou perda ou perda de benefícios aos quais eu tenha direito.

6. Estou ciente que este estudo foi submetido a um Comitê de Ética.

7. Concordo que os resultados do estudo sejam comunicados às autoridades apropriadas, e que os dados do estudo sejam publicados em revistas científicas especializadas.

Meu nome e endereço permaneceram confidenciais.

8. Representantes do Comitê de Ética ou autoridades governamentais podem querer examinar meus registros médicos para verificar as informações coletadas. Ao assinar este documento, dou minha permissão para esta revisão de meus registros médicos.

Declaro que, após convenientemente esclarecido pelo pesquisador e ter entendido o que me foi explicado, concordo em participar da presente pesquisa.

São Paulo, _____ de _____ de _____

Assinatura do sujeito da pesquisa ou responsável legal

Assinatura do Pesquisador (carimbo e nome legível)

8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

Ahmed AF, Nicholson KG, Nguyen-van-Tam JS. Reduction in mortality associated with influenza vaccine during 1989-90 epidemic. *Lancet*. 1995; 346:591-5.

American Society of Transplantation. Guidelines for vaccination of solid organ transplant candidates and recipients. *Am J Transplant* 2004a; 4(10):105-9.

American Society of Transplantation. Guidelines for vaccination of solid organ transplant candidates and recipients. *Am J Transplant* 2004b; 4(10):160-3.

Alpalsch AM, Green M, Ledesma-Medina J, Nour B, Wald ER. Parainfluenza and influenza virus infections in pediatric organ transplant recipients. *Clin Infect Dis*. 1995; 20:394-9.

Avery RK. Immunizations in adult immunocompromised patients: which to use and which to avoid. [Review] *Cleve Clin J Med*. 2001; 68:337-48.

Batiuk TD, Bodziak KA, Goldman M. Infectious disease prophylaxis in renal transplant patients: a survey of US transplant centers. [Review] *Clin Transplant*. 2002;16:1-8.

Ballet C, Roussey-Kesler G, Aubin JT, Brouard S, Giral M, Miqueu P, et al. Humoral and cellular responses to influenza vaccination in human recipients naturally tolerant to a kidney allograft. *Am J Transplant*. 2006; 6:2796-801.

Bellei NC, Carraro E, Castelo A, Granato CF. Risk factors for poor immune response to influenza vaccination in elderly people. *Braz J Infect Dis*. 2006;10:269-73.

Belshe RB, Nichol KL, Black SB, Shinefield H, Cordova J, Walker R, et al. Safety, efficacy, and effectiveness of live, attenuated, cold-adapted influenza vaccine in an indicated population aged 5-49 years. *Clin Infect Dis*. 2004a; 39:920-7.

Belshe RB, Newman FK, Cannon J, Duane C, Treanor J, Van Hoecke C, et al. Serum antibody responses after intradermal vaccination against influenza. *N Engl J Med*. 2004b; 351:2286-94.

Bernstein E, Kaye D, Abrutyn E, Gross P, Dorfman M, Murasko DM. Immune response to influenza vaccination in a large healthy elderly population. *Vaccine*. 1999;17:82-94.

Beyer WE, Versluis DJ, Kramer P, Diderich PP, Weimar W, Masurel N. Trivalent influenza vaccine in patients on haemodialysis: impaired seroresponse with differences for A-H3N2 and A-H1N1 vaccine components. *Vaccine*. 1987; 5:43-8.

Beyer WE, Palache AM, Luchters G, Nauta J, Osterhaus ADME. Seroprotection rate, mean fold increase, seroconversion rate: Which parameter adequately expresses seroresponse to influenza vaccination. *Virus Res.* 2004;103:125-132.

Binet I, Nickleit V, Hirsch HH, Prince O, Dalquen P, Gudat F, et al. Polyomavirus disease under new immunosuppressive drugs: a cause of renal graft dysfunction and graft loss. *Transplantation.* 1999; 67:918-22.

Blumberg EA, Albano C, Pruett T, Isaacs R, Fitzpatrick J, Bergin J, et al. The immunogenicity of influenza virus vaccine in solid organ transplant recipients. *Clin Infect Dis.* 1996; 22:295-302.

Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. O desafio da influenza: epidemiologia e organização da vigilância no Brasil. Boletim Eletrônico Epidemiológico. [on line] 2004; 4(1). Disponível em: http://www.grogbrasil.com.br/gripe_incidencia.asp. [10 abril 2006]

Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. Programa Nacional de Imunizações. Manual dos Centros de Referências para imunobiológicos especiais. [on line] Brasília (D.F.): Ministério da Saúde; 2006. Disponível em: http://www.saude.rio.rj.gov.br/saude/pubsms/media/Manual_3edicao_preliminar.pdf [20 maio 2007]

Brydak LB, Machala M, Mysliwska J, Mysliwski A, Trzonkowski P. Immune response to influenza vaccination in an elderly population. *J Clin Immunol.* 2003; 3:214-222.

Burroughs M, Moscona A. Immunization of pediatric solid organ transplant candidates and recipients. [Review] *Clin Infect Dis.* 2000; 30:857-69.

Carvalhanas TRMP, Barbosa HA, Ramos SRTS, Paiva TM. Influenza: cenário atual pandemia iminente & plano de contingência. BEPA -Boletim Epidemiológico Paulista. [on line] out 2005; 2(22). Disponível em: http://www.cve.saude.sp.gov.br/agencia/bepa22_influ.htm. [12 fev 2006]

Cavdar C, Sayan M, Sifil A, Artuk C, Yilmaz N, Bahar H, Camsari T. The comparison of antibody response to influenza vaccination in continuous ambulatory peritoneal dialysis, hemodialysis and renal transplantation patients. *Scand J Urol Nephrol.* 2003; 37:71-6.

CDC. Centers for Disease Control and Prevention. Update: influenza activity--United States and worldwide, May-October 2004. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep.* 2004; 53:993-5.

Chemaly RF, Ghosh S, Bodey GP, Rohatgi N, Safdar A, Keating MJ, Champlin RE, Aguilera EA, Tarrand JJ, Raad II. Respiratory viral infections in adults with hematologic malignancies and human stem cell transplantation recipients: a retrospective study at a major cancer center. *Medicine (Baltimore)*. 2006; 85(5):278-87.

Chiu SS, Lau YL, Chan KH, Wong WH, Peiris JS. Influenza-related hospitalizations among children in Hong Kong. *N Engl J Med*. 2002; 347:2097-103.

Cintra OAL, Arruda E. Influenza. Farhat CK, Carvalho ES, Weckx LY, Carvalho LHFR, Succi RCM. *Imunizações: fundamentos e prática*. São Paulo, Atheneu, 2000. p.495-535.

Commission of the European Communities. The rules governing medicinal products in the European Community. Guidelines on the quality, safety and efficacy of medicinal products for human use 93-99, 1992. Vol. III (Addendum n° 2).

Committee for Proprietary Medicinal Products (CPMP). 1997. Note for Guidance on Harmonization of Requirements for Influenza Vaccines. CPMP/BWP/214/96 Circular No. 96-0666.p. 1-2. [Online]. Available from: <http://www.emea.eu.int/pdfs/human/bwp/021496en.pdf> [December 17, 2004].

Community-acquired respiratory viruses. *Am J Transplant*. 2004; 4 (Suppl 10):105-9.

DeFabritus AM, Riggio RR, David DS, Senterfit LB, Cheigh JS, Stenzel KH. Parainfluenza type 3 in a transplant unit. *JAMA*. 1979; 241(4):384-6.

Deguchi Y, Takasugi Y. Efficacy of influenza vaccine in the elderly: reduction in risks of mortality and morbidity during an influenza A (H3N2) epidemic for the elderly in nursing homes. *Int J Clin Lab Res*. 2000; 30:1-4.

Doller PC, Doller G, Gerth HJ. Immunofluorescence test with antigen-loaded erythrocytes: detection of influenza virus specific IgG, IgA, and IgM antibodies. *Med Microbiol Immunol [Berl]*, 1985; 173:291-302.

Duchini A, Goss JA, Karpen S, Pockros PJ. Vaccinations for adult solid-organ transplant recipients: current recommendations and protocols. *Clin Microbiol Rev*. [Review] 2003; 16:357-64.

Fedson DS. Evaluating the impact of influenza vaccination. A North American perspective. *Pharmacoeconomics*. [Review] 1996; 9 (Suppl 3):54-61.

Glezen WP, Taber LH, Frank AL, Gruber WC, Piedra PA. Influenza virus infections in infants. *Pediatr Infect Dis J*. 1997; 16:1065-8.

Gravenstein S, Miller BA, Drinka P. Prevention and control of influenza A outbreaks in long-term care facilities. *Infect Control Hosp Epidemiol*. [Review] 1992; 13:49-54.

Gross PA, Hermogenes AW, Sacks HS, Lau J, Levandowski RA. The efficacy of influenza vaccine in elderly persons. A meta-analysis and review of the literature. *Ann Intern Med*. 1995; 123:518-27.

Haining WN, Evans JW, Seth NP, Callaway GD, Wucherpfennig KW, Nadler LM, et al. Measuring T cell immunity to influenza vaccination in children after haemopoietic stem cell transplantation. *Br J Haematol*. 2004; 127:322-5.

Hak E, Buskens E, van Essen GA, de Bakker DH, Grobbee DE, Tacke MA, et al. Clinical effectiveness of influenza vaccination in persons younger than 65 years with high-risk medical conditions: the PRISMA study. *Arch Intern Med*. 2005;165:274-80.

Halloran PF. Immunosuppressive drugs for kidney transplantation. [Review] *N Engl J Med*. 2004; 351:2715-29.

Hirsch HH. Polyomavirus BK nephropathy: a (re-)emerging complication in renal transplantation. [Review] *Am J Transplant*. 2002; 2:25-30.

Humar A, Moussa G, Mazzulli, Kumar D, Razonable RR, Paya CV, et al. An assessment of adenovirus infection in a large cohort of solid organ transplant recipients; [Abstract 977]. Boston (MA): American Transplant Congress; 2004. (The PV 16000 Study Group).

Ison MG. Respiratory viral infections in transplant recipients. *Curr Opin Organ Transplant*. 2005; 10:312-9.

Izurieta HS, Thompson WW, Kramarz P, Shay DK, Davis RL, DeStefano F, et al. Influenza and the rates of hospitalization for respiratory disease among infants and young children. *N Engl J Med*. 2000; 342:232-9.

Kano H, Mizuta K, Sakakihara Y, Kato H, Miki Y, Shibuya N, et al. Efficacy and safety of immunization for pre- and post- liver transplant children. *Transplantation*. 2002; 74:543-50.

Keren G, Segev S, Morag A, Zakay-Rones A, Barzilai A, Rubinstein E. Failure of influenza vaccination in the aged. *J Med Virol*. 1988; 25:85-9.

Kilbourne ED, Buttlar WT, Rossen RC. Specific immunity in influenza: summary of influenza workshop III. *J Infect Dis*. 1973; 127: 220-36.

Kilbourne ED. Influenza immunity: new insights from old studies. [Editorial commentary] *J Infect Dis.* 2006;193:7-8.

Lautenschlager I. Cytomegalovirus and solid organ transplantation: an update. *Curr Op Org Transplant.* 2003; 8:269-75.

Lindemann M, Böhmer M, Zabel M, Grosse-Wilde H. ELISpot: a new tool for the detection of nickel sensitization. *Clin Exp Allergy.* 2003; 33:992-8.

Lindemann M, Witzke O, Lutkes P, Fiedler M, Kreuzfelder E, Philipp T, et al. ELISpot assay as a sensitive tool to detect cellular immunity following influenza vaccination in kidney transplant recipients. *Clin Immunol.* 2006; 120:342-8.

Lino VTS. Estudo da resposta imune humoral e da ocorrência e episódios de gripe após a vacinação contra influenza em idosos. Tese (Mestrado). Rio de Janeiro: Escola Nacional de Saúde Pública; 2001.

Ljungman P, Andersson J, Aschan J, Barkholt L, Ehrnst A, Johansson M, et al. Influenza A in immunocompromised patients. *Clin Infect Dis.* 1993;17:244-7.

López-Medrano F, Aguado JM, Lizasoain M, Folgueira D, Juan RS, Díaz-Pedroche C, Lumbreras C, Morales JM, Delgado JF, Moreno-González E. Clinical implications of respiratory virus infections in solid organ transplant recipients: a prospective study. *Transplantation.* 2007; 84(7):851-6.

Machado CM, Mendes AV, Villa Boas LS, Rocha IF, Pannuti CS. Clinical efficacy of influenza vaccination in bone marrow transplant recipients. [Abstract] In: 43. Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy. Chicago: ICAAC; 2003. Chicago. p. 279.

Machado CM, Cardoso MR, da Rocha IF, Boas LS, Dulley FL, Pannuti CS. The benefit of influenza vaccination after bone marrow transplantation. *Bone Marrow Transplant.* 2005; 36:897-900.

Malavaud S, Malavaud B, Sandres K, et al. Nosocomial outbreak of influenza virus A (H3N2) infection in solid organ transplant department. *Transplantation.* 2001;72:535-537.

Mauch TJ, Bratton S, Myers T, Krane E, Gentry SR, Kashtan CE. Influenza B virus infection in pediatric solid organ transplant recipients. *Pediatrics.* 1994; 94:225-9.

Mazzone PJ, Mossad SB, Mawhorter SD, Mehta AC, Schilz RJ, Maurer JR. The humoral immune response to influenza vaccination in lung transplant patients. *Eur Respir J.* 2001; 18:971-6.

Meier-Kriesche HU, Li S, Gruessner RW, Fung JJ, Bustami RT, Barr ML, et al. Immunosuppression: evolution in practice and trends, 1994-2004. *Am J Transplant.* 2006; 6:1111-31.

Miller RB, Chavers BM. Respiratory syncytial virus infections in pediatric renal transplant recipients. *Pediatr Nephrol.* 1996; 10 (2):213-5.

Modlin JF. Poliovirus. In: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R, editors. *Mandell, Douglas, and Bennett's principles and practice of infectious diseases.* 5th ed. Philadelphia: Churchill Livingstone; 2000. v. 2, cap. 159, p.1895-903.

Monto AS, Rotthoff J, Teich E, Herlocher ML, Truscon R, Yen HL, et al. Detection and control of influenza outbreaks in well-vaccinated nursing home populations. *Clin Infect Dis.* 2004; 39:459-64.

Moura M, Silva LJ. Pesquisas de opinião sobre as campanhas de vacinação contra a *Influenza* no Estado de São Paulo. BEPA -Boletim Epidemiológico Paulista. [on line] abril 2004; 1(4). Disponível em: http://www.cve.saude.sp.gov.br/agencia/bepa4_pesq.htm. (15bril 2004).

Neuzil KM, Wright PF, Mitchel EF Jr, Griffin MR. The burden of influenza illness in children with asthma and other chronic medical conditions. *J Pediatr.* 2000a; 137:856-64.

Neuzil KM, Mellen BG, Wright PF, Mitchel EF Jr, Griffin MR. The effect of influenza on hospitalizations, outpatient visits, and courses of antibiotics in children. *N Engl J Med.* 2000b 27; 342:225-31.

Orenstein WA, Wharton M, Bart KJ, Hinman AR. Immunization. In: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R, editors. *Mandell, Douglas, and Bennett's principles and practice of infectious diseases.* 5th ed. Philadelphia: Churchill Livingstone; 2000. v. 2, cap. 312, p. 3207-34.

Palache AM. Influenza vaccines. A reappraisal of their use. [Review] *Drugs.* 1997; 54:841-56.

Patriarca PA, Weber JA, Parker RA, Hall WN, Kendal AP, Bregman DJ, et al. Efficacy of influenza vaccine in nursing homes. Reduction in illness and complications during an influenza A (H3N2) epidemic. *JAMA.* 1985; 253:1136-9.

Peltola V, Ziegler T, Ruuskanen O. Influenza A and B virus infections in children. *Clin Infect Dis.* 2003; 36:299-305.

Pohl C, Green M, Wald ER, Ledesma-Medina J. Respiratory syncytial virus infections in pediatric liver transplant recipients. *J Infect Dis.* 1992; 165:166-9.

Powers DC. Influenza vaccination strategies for the elderly. *Aging Immunol Infect Dis*. 1994; 5:47–54.

Rentenaar RJ, van Diepen FN, Meijer RT et al. Immune responsiveness in renal transplant recipients: Mycophenolate acid severely depresses humoral immunity in vivo. *Kidney Int*. 2002; 62:319-328.

Rubin RH, Schaffner A, Speich R. Introduction to the immunocompromised host society consensus conference on epidemiology, prevention, diagnosis, and management of infections in solid-organ transplant patients. *Clin Infect Dis*. 2001; 33(Suppl 1): S1-S4.

Rubin RH. Influenza and the transplant recipient. [Editorial] *Transpl Infect Dis*. 2002; 4:175-6.

São Paulo (Estado). Secretaria de Estado de Saúde de São Paulo. Centro de Vigilância Epidemiológica "Prof. Alexandre Vranjac". Campanha Nacional de Vacinação contra Influenza 2005. São Paulo: Centro de Vigilância Epidemiológica "Prof. Alexandre Vranjac"; 2005a. (Informe Técnico).

São Paulo (Estado). Secretaria de Estado de Saúde de São Paulo. Centro de Vigilância Epidemiológica "Prof. Alexandre Vranjac", Instituto Adolfo Lutz (IAL) - Coordenadoria de Controle de Doenças. Campanha Nacional de Vacinação contra Influenza 2006. BEPA-Boletim Epidemiológico Paulista. [on line] abril 2006a; 3(28). Disponível em: http://www.cve.saude.sp.gov.br/agencia/bepa28_idoso.htm. [20 maio 2006]

Sanchez-Fructuoso AI, Prats D, Naranjo P, Fernandez-Perez C, Gonzalez MJ, Mariano A, et al. Influenza virus immunization effectivity in kidney transplant patients subjected to two different triple-drug therapy immunosuppression protocols: mycophenolate versus azathioprine. *Transplantation*. 2000; 69:436-9.

Sayegh MH, Carpenter CB. Transplantation 50 years later – progress, challenges, and promises. *N Engl J Med* 2004; 351(26): 2761-2766.

Scharpé J, Evenepoel P, Maes B, Bammens B, Claes K, Osterhaus AD, Vanrenterghem Y, Peetermans WE. Influenza vaccination is efficacious and safe in renal transplant recipients. *Am J Transplant*. 2007; 7:1-6.

Singh N. Infectious complications in organ transplant recipients with the use of calcineurin-inhibitor agent-based immunosuppressive regimens. [Review] *Curr Opin Infect Dis*. 2005; 18:342-5.

Skowronski DM, De Serres G, Scheifele D, Russell ML, Warrington R, Davies HD, et al. Randomized, double-blind, placebo-controlled trial to assess the rate of recurrence of oculo-respiratory syndrome following influenza vaccination among persons previously affected. *Clin Infect Dis*. 2003; 37:1059-66.

Smith KGC, Isbel NM, Catton MG, Leydon JA, Becker GJ, Walker RG. Suppression of the humoral immune response by mycophenolate mofetil. *Nephrol Dial Transplant*. 1998; 13:160-164.

Snydman DR. Epidemiology of infections after solid-organ transplantation. *Clin Infect Dis* 2001; 33(Suppl 1): S5-S8.

Soesman NM, Rimmelzwaan GF, Nieuwkoop Nj, et al. Efficacy of influenza vaccination in adult liver transplant recipients. *J Med Virol*. 2000;61:85-93.

Stamboulian D, Bonvehi PE, Nacinovich FM, Cox N. Influenza. [Review] *Infect Dis Clin North Am*. 2000;14:141-66.

Steininger C, Popow-Kraupp T, Laferl H, Seiser A, Godl I, Djamshidian S, et al. Acute encephalopathy associated with influenza A virus infection. *Clin Infect Dis*. 2003; 36:567-74.

Stiver HG, Graves P, Mieklejohn G, Schroter G, Eickhoff TC. Impaired serum antibody response to inactivated influenza A and B vaccine in renal transplant recipients. *Infection and Immunity*. 1977; 16:738-41.

Treanor JJ. Influenza virus. In: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R, editors. *Mandell, Douglas, and Bennett's principles and practice of infectious diseases*. 5th ed. Philadelphia: Churchill Livingstone; 2000. v. 2, cap. 153, p.1823-49.

van Essen GA, Palache AM, Forleo E, Fedson DS. Influenza vaccination in 2000: recommendations and vaccine use in 50 developed and rapidly developing countries. *Vaccine*. 2003; 21:1780-5.

van Kraaij MG, van Elden LJ, van Loon AM, Hendriksen KA, Laterveer L, Dekker AW, et al. Frequent detection of respiratory viruses in adult recipients of stem cell transplants with the use of real-time polymerase chain reaction, compared with viral culture. *Clin Infect Dis*. 2005; 40:662-9.

Versluis DJ, Beyer WE, Masurel N, Wenting GJ, Weimar W. Impairment of the immune response to influenza vaccination in renal transplant recipients by cyclosporine but not azathioprine. *Transplantation*. 1986; 42:376-379.

Vilchez RA, Fung J, Kusne S. The pathogenesis and management of influenza virus infection in organ transplant recipients. [Review] *Transpl Infect Dis*. 2002a; 4:177-82.

Vilchez RA, McCurry K, Dauber J, Iacono A, Griffith B, Fung J, et al. Influenza virus infection in adult solid organ transplant recipients. *Am J Transplant*. 2002b; 2:287-91.

Vogtlander NP, Brown A, Valentijn RM, Rimmelzwaan GF, Osterhaus AD. Impaired response rates, but satisfying protection rates to influenza vaccination in dialysis patients. *Vaccine*. 2004; 22:2199-201.

Vu T, Farish S, Jenkins M, Kelly H. A meta-analysis of effectiveness of influenza vaccine in persons aged 65 years and over living in the community. *Vaccine*. 2002; 20:1831-6.

Wenting GJ, Weimar W. Impairment of the immune response to influenza vaccination in renal transplant recipients by cyclosporine but not azathioprine. *Transplantation*. 1986; 42:376-9.

WHO (World Health Organization). WHO collaborating centers for reference and research on influenza: concepts and procedures for laboratory-based influenza surveillance. Atlanta (Georgia) : Center for Disease Control; 1982.

Willcocks LC, Chaudhry AN, Smith JC, Ojha S, Doffinger R, Watson CJE, Smith KGC. The effects of sirolimus therapy on vaccine responses in transplant recipients. *Am J Transplant*. 2007; 7:1-6.

Wolfe RA, Ashby VB, Milford EL, Ojo AO, Ettenger RE, Agodoa LY, et al. Comparison of mortality in all patients on dialysis, patients on dialysis awaiting transplantation, and recipients of a first cadaveric transplant. *N Engl J Med*. 1999; 341:1725-30.

Zei T, Neri M, Iorio AM. Immunogenicity of trivalent subunit and split influenza vaccine (1989-90 winter season) in volunteers of different groups of age. *Vaccine* . 1991; 9:613-6.

FONTES CONSULTADAS

Faculdade de Ciências Médicas da Santa Casa de São Paulo. Pós-Graduação. Normalização para apresentação de dissertações e teses em estudos experimentais e observacionais. São Paulo: Faculdade de Ciências Médicas da Santa Casa de São Paulo. Pós-Graduação; 2004. 26p.

Ferreira ABH. Aurélio século XXI: o dicionário da língua portuguesa. 3ª. ed. Rio de Janeiro: Nova Fronteira; 1999. 2128p.

INDEX MEDICUS. List of journals indexed in index Medicus. Maryland, National Library of Medicine, 1998.

RESUMO

A vacina de vírus inativados para influenza em transplantados de órgãos tem mostrado variação nas taxas de resposta imune, e pode estar associada ao uso de diferentes drogas imunossupressoras. Este estudo avaliou prospectivamente em transplantados renais a resposta imune humoral à vacinação contra a gripe, e realizou vigilância clínica e laboratorial das infecções respiratórias. Setenta e cinco pacientes com pelo menos seis meses de transplante receberam a vacina trivalente inativada para os vírus influenza A e B. Realizou-se a dosagem de anticorpos anti-influenza antes da vacinação e mensalmente até seis meses. A cada três semanas realizou-se investigação clínica e também coletou-se lavado nasofaríngeo para a pesquisa de vírus respiratórios. Os Títulos Médios Geométricos pré e pós-vacina para as cepas H1N1 e H3N2 dos vírus influenza A foram 2,57 e 13,54 ($P=0,001$) e 2,44 e 7,29 ($P<0,001$) respectivamente. As taxas de proteção pré e pós-vacina para as cepas H1N1 e H3N2 foram 9,3% e 45,3% ($P<0,001$) e 9,3% e 33,3% ($P<0,001$) e a taxa de soroconversão para as cepas H1N1 e H3N2 foram de 36% e 25,3% respectivamente. Não houve resposta imune ao vírus influenza B vacinal. O uso de MMF e pacientes transplantados há menos de 87 meses apresentaram menor resposta imune após a vacina. A positividade da pesquisa de vírus respiratórios pelo lavado nasofaríngeo foi capaz de identificar somente seis episódios. Os eventos adversos foram leves e infrequentes. Conclui-se que a vacina para gripe em transplantados renais produziu resposta imune efetiva somente para o vírus influenza A, o uso de MMF e os transplantes realizados há menos tempo, reduziu a imunidade humoral à vacina. A positividade da pesquisa de vírus em lavado nasofaríngeo foi baixa e os eventos adversos foram infrequentes e leves.

ABSTRACT

The inactivated influenza vaccine response in solid organ transplanted recipients has shown conflicted results, which can be associated with different immunosuppressive regimens. The purpose of this study was to prospectively assess the humoral immune response to the inactivated influenza vaccine in kidney transplant recipients and also to

perform a clinical and laboratory surveillance of the upper respiratory tract infections. Seventy-five renal transplanted individuals with at least six months of transplantation received one dose of inactivated trivalent influenza vaccine. Anti-influenza antibody response against each strain was measured before and 1 to 6 months after vaccination. Virus isolation from nose-and-throat washes were collected every three weeks. After vaccination, the geometric mean titer of H1N1 and H3N2 strains increased from 2,75 and 2,44 to 13,54($P=0,001$) and 7,29($P<0,001$) respectively. Pre and post-vaccination protection rates for H1N1 and H3N2 increased from 9,3% to 45,3% ($P<0,001$) and 9,3% to 33,3% ($P<0,001$). The H1N1 and H3N2 seroconversion rates after vaccination was 36% and 25,3%, respectively. There was no antibody response to influenza B virus. The use of Mycophenolate Mofetil and transplantation less than 87 months reduced immune response to H1N1 and H3N2 strains of influenza A virus. Diagnosis of symptomatic or asymptomatic patients with virus isolation collected from nose-and-throat washes was able to detect only six episodes of virus infection. Adverse events were reported as mild and infrequent. In conclusion, kidney transplant patients submitted to an anti-influenza vaccination responded with antibody production against strains H1N1 and H3N2 of influenza A virus but not to influenza B virus. Use of MMF and less than seven years of transplantation decreased the humoral immune response to the anti-influenza vaccine, virus isolation from nose-and-throat washes identified only six cases and adverse events were mild and rare.

LISTAS E APÊNDICES

TABELA 1 – Quantificação mensal do Títulos Médios Geométricos (TMG) dos anticorpos anti-hemaglutininas para a cepa vacinal H1N1 do vírus influenza A nos 75 transplantados renais, vacinados.

CEPAS VACINAIS/MÊS	Mediana	25%	75%	CV	TMG	IC 95% inferior	IC 95% superior
H1N1/Mês1	1,00	1,00	10,0	302,24%	2,57	0,78	23,6
H1N1/Mês2	20,00	1,00	40,0	252,96%	13,45	7,33	157,3
H1N1/Mês3	20,00	1,00	40,0	248,86%	12,44	6,21	140,1

H1N1/Mês4	20,00	1,00	40,0	323,38%	12,12	3,74	199,1
H1N1/Mês5	15,00	1,00	40,0	214,98%	11,17	6,40	109,0
H1N1/Mês6	10,00	1,00	20,0	367,74%	10,52	6,17	180,6

Teste de Friedman com $P = 0.0013$ * $p < 0,05$ vs H1N1M1 (Pós teste de Miller-Dunn)

TMG - Título Médio Geométrico
CV - Coeficiente de Variação

TABELA 2 – Quantificação mensal dos Títulos Médios Geométricos (TMG) dos anticorpos anti-hemaglutininas para a cepa vacinal H3N2 do vírus influenza A nos 75 transplantados renais vacinados.

CEPAS VACINAIS/MÊS	Mediana	25%	75%	CV	TMG*	IC 95% inferior	IC 95% superior
H3N2/M1	1,00	1,00	10,0	201,95%	2,44	1,03	14,6
H3N2/M2	10,00 *	1,00	40,0	188,03%	7,20	3,74	50,94
H3N2/M3	10,00 *	1,00	40,0	174,88%	7,30	3,56	46,69
H3N2/M4	10,00 *	1,00	20,0	204,51%	5,56	2,23	35,72
H3N2/M5	10,00 *	1,00	20,0	163,63%	5,78	2,26	27,35
H3N2/M6	10,00 *	1,00	20,0	161,69%	6,59	2,69	32,22

Teste de Friedman com $P < 0.00001$ * $p < 0,05$ vs H3N2M1 (Pós teste de Miller- Dunn)

TMG - Título Médio Geométrico
CV - Coeficiente de Variação

TABELA 3 – Quantificação mensal Títulos Médios Geométricos (TMG) dos anticorpos anti-hemaglutininas para o vírus influenza B nos 75 transplantados renais, vacinados.

CEPAS VACINAIS/MÊS	CV*	TMG*	IC 95% inferior	IC 95% superior
FLUB/M1	193.64%	1,16	0,97	2610,00
FLUB/M2	253.30%	1,20	0,87	3738,00
FLUB/M3	346.85%	1,23	0,34	5788,00
FLUB/M4	346.85%	1,23	0,34	5788,00
FLUB/M5	347.89%	1,23	0,35	5711,00

FLUB/M6	347.89%	1,23	0,35	5711,00
---------	---------	------	------	---------

***Título Médio Geométrico**
*** Coeficiente de Variação**

TABELA 4 – Títulos mínimos e máximos atingidos antes e após a vacinação para as cepas vacinais H1N1, H3N2 do vírus influenza A e para o vírus influenza B nos 75 transplantados renais, vacinados.

CEPAS VACINAIS TÍTULOS MÁXIMOS E MÍNIMOS	CV*	TMG*	IC 95% inferior	IC 95% superior
MinH1N1	211.47%	1,66	2,16	10,60
MaxH1N1	289.23%	14,56	8,00	199,9
MinH3N2	223.67%	2,12	0,73	11,44
MaxH3N2	167.93%	8,37	4,66	52,74
MinFLUB	174.89%	1,11	0,89	2095,00
MaxFLUB	334.51%	1,23	0,67	5194,00

***Título Médio Geométrico**
*** Coeficiente de Variação**

TABELA 5 – Taxas de proteção antes e após a vacinação, para a cepa H1N1 do vírus influenza A nos 75 transplantados renais.

Proteção Pré-vacina	Influenza A H1N1	Proteção Pós-vacina			
		Não	Sim	Total	P
Não	N	41	27	68	

		% Proteção Pré-vacina	60.3	39.7	100	
		% Proteção Pós-vacina	100	79.4	90.7	
	Sim	N	-	7	7	
		% Proteção Pré-vacina	-	100	100	
		% Proteção Pós-vacina	-	20.6	9.3	
Total		N	41	34	75	<0,001
		% Proteção Pré-vacina	54.7	45.3	100	
		% Proteção Pós-vacina	100	100	100	

P* $<0,05$. Teste de McNemar

TABELA 6 – Taxas de proteção antes e após a vacinação, para a cepa H3N2 do vírus influenza A nos 75 transplantados renais.

Proteção Pré-vacina		Influenza A H1N1	Proteção Pós-vacina			
			Não	Sim	Total	P
	Não	N	50	18	68	
		% Proteção Pré-vacina	73,5	39,7	100	

		% Proteção Pós-vacina	100	72	90.7	
	Sim	N	-	7	7	
		% Proteção Pré-vacina	-	100	100	
		% Proteção Pós-vacina	-	28	9.3	
Total		N	50	25	75	<0,001
		% Proteção Pré-vacina	66,7	33,3	100	
		% Proteção Pós-vacina	100	100	100	

P* $<0,05$. Teste de McNemar

H1N1			
PROTEÇÃO PRÉ-VACINA		PROTEÇÃO PÓS-VACINA	p
NÃO (68)		NÃO 41 (60,3%)	0,0001
		SIM 27 (39,7%)	
SIM (07)		NÃO 0 (0%)	
		SIM 07 (100%)	
H3N2			
		NÃO 50 (73,5%)	

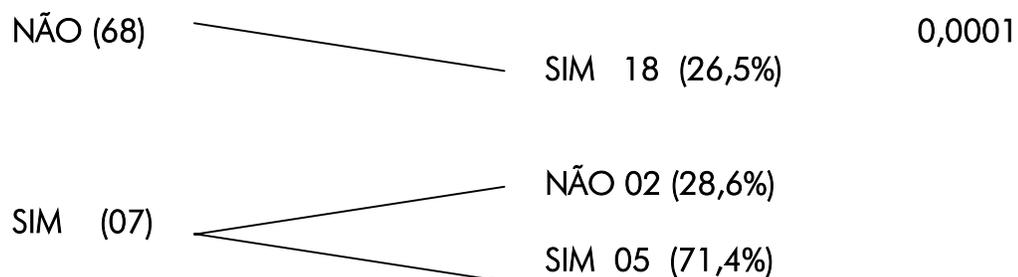


FIGURA 1 – Diferentes taxas de proteção pós-vacinais dependentes da proteção pré-vacinal, para as cepas H1N1 e H3N2 do vírus Influenza A.

TABELA 7 – Relação entre as drogas imunossupressoras e as taxas de proteção após a vacinação para as cepas H1N1, H3N2 do vírus influenza A e para o vírus influenza B nos 75 transplantados renais.

Taxa de Proteção	Cs A		TAC		SIR		AZA		MMF	
	Sim %	Não	Sim %	Não	Sim %	Não	Sim %	Não	Sim %	Não
Cepa H1N1	45,7	44,8	45,5	45,3	66,7	44,4	59,5	31,6	28,1	58,1
	$p>0,05$		$p>0,05$		$p>0,05$		$p^*=0,01$		$p^*=0,01$	

								RR=3,17	RR=0,28		
Cepa H3N2	31,0	34,8	27,3	35,8	33,3	33,3	43,2	23,7	18,8	44,2	
	$p>0,05$		$p>0,05$		$p>0,05$		$p>0,05$		P*=0,02		
									RR=0,29		
FLUB	0	2,2	0	1,9	0	1,4	0	2,6	3,1	0	
	$p>0,05$		$p>0,05$		$p>0,05$		$p>0,05$		$p>0,05$		

$p^* < 0,05$. = Teste do Qui Quadrado de Pearson e teste exato de Fisher.

CsA: Ciclosporina A, TAC: Tacrolimo, SIR: Sirolimo,

AZA: Azatioprina, MMF: Micofenolato de mofetil.\

FLUB: Vírus influenza B

TABELA 8 – Relação entre as drogas imunossupressoras e as taxas de soroconversão após a vacinação para as cepas H1N1, H3N2 do vírus influenza A e para o vírus influenza B nos 75 transplantados renais.

	Cs A		TAC		SIR		AZA		MMF			
	Sim	%	Não	Sim	%	Não	Sim	%	Não	Sim	%	Não
Taxa de Soro conversão												
Cepa H1N1	37,0	34,5	36,4	35,8	33,3	36,1	43,2	28,9	25,0	44,2		
	$p>0,05$		$p>0,05$		$p>0,05$		$p>0,05$		$p^*=0,02$			

									RR=0,29	
Cepa H3N2	24,1	26,1	22,7	26,4	0	26,4	35,1	15,8	12,5	34,9
	$p>0,05$		$p>0,05$		$p>0,05$		$p^*=0,054$		$p^*=0,02$	
							RR=2,88		RR=0,26	
FLUB	0	2,2	0	1,9	0	1,4	0	2,6	3,1	0
	$p>0,05$		$p>0,05$		$p>0,05$		$p>0,05$		$p>0,05$	

$p^* < 0,05$. = Teste do Qui Quadrado de Pearson e teste exato de Fisher.

CsA: Ciclosporina A, TAC: Tacrolimo, SIR: Sirolimo,

AZA: Azatioprina, MMF: Micofenolato de mofetil.

Livros Grátis

(<http://www.livrosgratis.com.br>)

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)
[Baixar livros de Matemática](#)
[Baixar livros de Medicina](#)
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)
[Baixar livros de Meteorologia](#)
[Baixar Monografias e TCC](#)
[Baixar livros Multidisciplinar](#)
[Baixar livros de Música](#)
[Baixar livros de Psicologia](#)
[Baixar livros de Química](#)
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)
[Baixar livros de Serviço Social](#)
[Baixar livros de Sociologia](#)
[Baixar livros de Teologia](#)
[Baixar livros de Trabalho](#)
[Baixar livros de Turismo](#)