



Ministério da Saúde

**FIOCRUZ**  
**Fundação Oswaldo Cruz**



**FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ**  
**ESCOLA NACIONAL DE SAÚDE PÚBLICA SERGIO AROUCA**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM EPIDEMIOLOGIA EM SAÚDE PÚBLICA**

**RESPOSTA IMUNE À VACINA CONTRA INFLUENZA A(H1N1)pdm09**  
**CONSTITUÍDA POR VÍRUS A/Califórnia/7/2009, FRACIONADOS, INATIVADOS E**  
**COM ADJUVANTES, EM PROFISSIONAIS DA SAÚDE**

**SOLANGE MARIA LENZ**

**Rio de Janeiro**

**Março/2012**

**SOLANGE MARIA LENZ**

**RESPOSTA IMUNE À VACINA CONTRA INFLUENZA A(H1N1)pdm09  
CONSTITUÍDA POR VÍRUS A/Califórnia/7/2009, FRACIONADOS, INATIVADOS E  
COM ADJUVANTES, EM PROFISSIONAIS DA SAÚDE**

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-graduação em Epidemiologia em Saúde Pública da Escola Nacional de Saúde Pública Sérgio Arouca, Fundação Oswaldo Cruz, com vistas à obtenção do título de Mestre em Epidemiologia em Saúde Pública.

Orientador: Dr. Luiz Antonio Bastos Camacho

**Rio de Janeiro**

**Março/2012**

**Solange Maria Lenz**

**RESPOSTA IMUNE À VACINA CONTRA INFLUENZA A(H1N1)pdm09  
CONSTITUÍDA POR VÍRUS A/Califórnia/7/2009, FRACIONADOS, INATIVADOS E  
COM ADJUVANTES, EM PROFISSIONAIS DA SAÚDE**

Dissertação de Mestrado do Programa de Pós-graduação em Epidemiologia em Saúde Pública  
da Escola Nacional de Saúde Pública Sérgio Arouca, Fundação Oswaldo Cruz

Aprovada em:

**Banca Examinadora**

---

Dra. Sonia Regina Lambert Passos

---

Dra. Glória Regina da Silva e Sá

---

Dr. Luiz Antonio Bastos Camacho (Orientador)

---

Dr. José Antônio Pinto de Sá Ferreira

---

Dra. Rosa Maria Soares Madeira Domingues

**Rio de Janeiro**

**Março/2012**

## **Agradecimentos**

Ao Dr. Camacho, meu orientador, uma das pessoas mais especiais que conheci. Ele me estimulou a iniciar o Mestrado, respeitou meu tempo e minhas contradições e mais do que um professor foi uma presença constante em todos os momentos desta trajetória.

A todos os professores da Escola Nacional de Saúde Pública Sergio Arouca (ENSP)/Fundação Oswaldo Cruz (FIOCRUZ) por seus ensinamentos e exemplos de vida.

A Dra. Beatriz Grinsztejn e a Dra. Marília Santini de Oliveira, do Instituto de Pesquisa Clínica Evandro Chagas (IPEC)/FIOCRUZ, pesquisadoras responsáveis pelo estudo principal por terem autorizado o uso do conteúdo do banco de dados e das informações necessárias à elaboração deste trabalho e a toda a equipe de colaboradores do IPEC envolvida neste projeto.

A Dra. Marilda do Instituto Oswaldo Cruz (IOC)/FIOCRUZ e a sua equipe, especialmente Tiago e Andressa, por disponibilizarem acesso à prática do método de inibição de hemaglutinação e por contribuírem com informações importantes ao desenvolvimento do trabalho.

Aos membros da banca por suas sugestões e comentários pertinentes que enriqueceram o trabalho final.

A todos os meus familiares e amigos que participaram da minha vida nestes dois anos e me deram seu apoio incondicional.

## Resumo

Em junho de 2009 a Organização Mundial da Saúde decretou pandemia a situação mundial da influenza causada pelo vírus A(H1N1)pdm09 considerando a letalidade e a forma como esta se espalhava. Para tentar contê-la foram produzidas vacinas que obtiveram registros das autoridades regulatórias em condições especiais. As vacinas começaram a ser utilizadas sem que houvesse ainda resultados sobre imunogenicidade nas diversas faixas etárias. Aproveitando os prazos da campanha de vacinação, foi realizado um estudo que acompanhou uma coorte de voluntários, profissionais da saúde de uma instituição pública no Rio de Janeiro, Brasil. Esta coorte (n = 70) era o grupo controle de um estudo randomizado para avaliação da imunogenicidade e reatogenicidade da vacina em voluntários HIV positivo. Todos eram, portanto, soronegativos para HIV. Testes de inibição de hemaglutinação em soros pré-vacinais evidenciaram que 16 dos voluntários (22,9%) já apresentavam níveis de anticorpos contra A(H1N1)pdm09 iguais ou maiores que 1:32 (soroproteção). As amostras de sangue de 67 voluntários coletadas entre o 21º e o 37º dia pós-vacinação mostraram taxa de soroconversão de 74,6%. A distribuição dos títulos mostra um deslocamento para a zona de soroproteção do dia zero para o dia 21, mantido no dia 42. A proporção de soroconversão foi maior nas mulheres e nos mais velhos, sem significância estatística. A proporção de soroconversão foi menor do que a observada na maioria dos estudos publicados. Variações nos métodos parecem explicar, em parte, as discrepâncias. Este trabalho aponta a necessidade de métodos laboratoriais de maior acurácia para permitir avaliações precisas do desempenho de vacinas contra influenza, que não dependam da detecção de casos confirmados. Correlatos sorológicos de proteção para as novas subcepas ainda necessitam ser avaliados.

Palavras-chave: Vírus da Influenza A; Influenza Humana; Vacinas contra Influenza; Pandemias

## **Abstract**

In June 2009, World Health Organization acknowledged the pandemic status of influenza, caused by the virus A(H1N1)pdm 09, which spread fast and showed considerable case fatality rate. To control the pandemic, Regulatory Agencies expedited licensing of vaccines for manufacturing and distribution. Vaccine utilization started with limited data on immunogenicity in several age groups. Taking advantage of a mass vaccination campaign in 2010, a randomized study for the evaluation of the immunogenicity and reactogenicity of the vaccine in HIV positive volunteers. A cohort of HIV-negative volunteers (n = 70), professionals from a public health institution in Rio de Janeiro, Brazil, made up the control group. Hemagglutination inhibition tests of prevaccination sera disclosed 16 (22.9%) volunteers with antibody levels against A(H1N1)pdm09 equal to or higher than 1:32 (seroprotection). The blood samples, collected in 67 volunteers 21-37 days after vaccination, showed 74.6% seroconversion rate. The distribution of antibody titers shifted to the serum protection zone from day zero to 21st day, and was maintained on 42nd day. The proportion of seroconversion was higher in women and in older subjects, without statistical significance. The proportion of seroconversion was lower than in most published studies. Variations in the methods seem to explain, in part, the discrepancies. This study points out the need of laboratorial methods of higher accuracy to allow precise evaluations of the vaccine performance against influenza, that do not depend upon the detection of confirmed cases. Serological correlates of protection for new substrains still need to be assessed.

Key-words: Influenza A Virus; Human Influenza; Influenza Vaccines; Pandemics

## Lista de siglas

ALT (TGP) – aminotransferase alanina  
ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária  
AST (TGO) – aminotransferase aspartato  
CAAE – Certificado de Apresentação para Apreciação Ética  
CEP – Comitê de Ética em Pesquisa  
CONEP – Comissão Nacional de Ética em Pesquisa  
DP – desvio-padrão  
ENSP – Escola Nacional de Saúde Pública Sergio Arouca  
FCE – Ficha Clínica de Estudo  
FIOCRUZ – Fundação Oswaldo Cruz  
GSK – Glaxo Smith Kline  
HAI – teste de inibição de hemaglutinação  
IMC – índice de massa corporal  
IOC – Instituto Oswaldo Cruz  
IPEC – Instituto de Pesquisa Clínica Evandro Chagas  
IVIG – imunoglobulina intravenosa  
MGT – média geométrica dos títulos  
OMS – Organização Mundial da Saúde  
OPAS – Organização Pan-Americana da Saúde  
OR – *odds ratio*  
PNI – Programa Nacional de Imunização  
SIH – Sistema de Informações Hospitalares  
SIM – Sistema de Informações sobre Mortalidade  
SINAN – Sistema de Informação de Agravos de Notificação  
SISNEP – Sistema Nacional de Informação sobre Ética em Pesquisa envolvendo Seres Humanos  
Sivep Gripe – Sistema de Vigilância da Gripe  
SVS – Secretaria de Vigilância em Saúde  
TIV – influenza sazonal trivalente licenciada  
TLCE – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido  
VIGITEL – Vigilância de Fatores de Risco e Proteção para Doenças Crônicas por Inquérito Telefônico

## Lista de Quadros

<b>Quadro 1</b> Vacinas monovalentes a serem utilizadas na estratégia de vacinação contra o vírus influenza pandêmico (H1N1). Brasil, 2010.....	17
<b>Quadro 2</b> Distribuição das etapas de vacinação e grupos prioritários. Brasil, 2010.....	23
<b>Quadro 3</b> Consultas e procedimentos do estudo.....	30
<b>Quadro 4</b> Comparação entre títulos pré e pós-vacinais.....	45

## Lista de Tabelas

<b>Tabela 1</b> Soroproteção anterior à vacinação, segundo idade.....	41
<b>Tabela 2</b> Soroproteção anterior à vacinação, segundo sexo.....	42
<b>Tabela 3</b> Soroconversão após 21 dias, segundo covariáveis selecionadas.....	44
<b>Tabela 4</b> Variáveis relevantes do modelo logístico multivariado para soroconversão no dia 21 pós-vacinal.....	44
<b>Tabela 5</b> Títulos médios geométricos estratificados por faixa etária e razão pós e pré-vacinal.....	46
<b>Tabela 6</b> Variáveis relevantes do modelo linear multivariado para log 10 dos títulos do dia 21 pós-vacinal.....	46

## Lista de Figuras

<b>Figura 1</b> Incidência de casos confirmados de influenza por região geográfica e semana epidemiológica de início dos sintomas. Brasil, até semana epidemiológica 26 de 2010.....	14
<b>Figura 2</b> Idade dos voluntários no dia da vacinação.....	39
<b>Figura 3</b> Frequência do índice de massa corporal (IMC: kg/m <sup>2</sup> ) dos voluntários no dia da vacinação.....	40
<b>Figura 4</b> Logaritmo (base 10 – log 10) dos títulos (recíproca da diluição) de anticorpos contra A(H1N1)pdm09, nos voluntários antes da vacinação – método de inibição da hemaglutinação.....	41
<b>Figura 5</b> Títulos pré-vacinais, 21 dias pós-vacinais e 42 pós-vacinais.....	43
<b>Figura 6</b> Correlação entre o log dos títulos de anticorpos no dia 21 e o log dos títulos pré-vacinais estratificados por sexo.....	47
<b>Figura 7</b> Frequência de eventos adversos no local da injeção da vacina, segundo tipo e intensidade.....	48
<b>Figura 8</b> Frequência de sinais e sintomas após a injeção da vacina, segundo tipo e intensidade.....	49

## Sumário

1. Introdução.....	11
<u>1.1. Influenza A(H1N1)pdm09</u> .....	11
<u>1.2. Vigilância da influenza A(H1N1)pdm09</u> .....	12
<u>1.3. Vacinas contra influenza A(H1N1)pdm09</u> .....	14
<u>1.4. Programa de vacinação contra A(H1N1)pdm09</u> .....	22
<u>1.5. Recomendações pós-pandemia</u> .....	24
2. Justificativa.....	25
3. Objetivos.....	26
<u>3.1. Objetivo geral</u> .....	26
<u>3.2. Objetivos específicos</u> .....	26
4. Sujeitos e métodos.....	27
<u>4.1. Delineamento geral do estudo</u> .....	27
<u>4.2. População do estudo</u> .....	27
<u>4.3. Critérios de elegibilidade</u> .....	28
<u>4.4. Critérios de exclusão</u> .....	28
<u>4.5. Recrutamento dos participantes</u> .....	29
<u>4.6. Procedimentos do estudo</u> .....	29
<u>4.7. Vacinação</u> .....	31
<u>4.8. Coleta de dados</u> .....	33
<u>4.9. Controle de qualidade dos dados</u> .....	34
<u>4.10. Métodos laboratoriais</u> .....	34
<u>4.11. Acompanhamento pós-vacinação</u> .....	35
<u>4.12. Plano de análise</u> .....	35
<u>4.13. Considerações sobre a eticidade do trabalho</u> .....	37
5. Resultados.....	38
<u>5.1. Imunogenicidade</u> .....	38
<u>5.2. Reatogenicidade</u> .....	47
6. Discussão.....	50
<u>6.1. Sorologia prévia</u> .....	50
<u>6.2. Soroconversão</u> .....	51
<u>6.3. Reatogenicidade</u> .....	55
7. Considerações finais.....	57
8. Referências.....	59
<b>Anexo 1</b> Aprovação do CEP do IPEC.....	63
<b>Anexo 2</b> Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE).....	66
<b>Anexo 3</b> Fichas Clínicas e Diário do Voluntário.....	76
<b>Anexo 4</b> POP LVRS-TVR-008 e POP LVRS-TVR-009 do Laboratório de Vírus Respiratório e do Sarampo – Instituto Oswaldo Cruz – Fundação Oswaldo Cruz – Ministério da Saúde..	124
<b>Anexo 5</b> Tabela de Gradação de Eventos Adversos.....	146

## 1. Introdução

### 1.1. Influenza A(H1N1)pdm09

Em 2009 um novo vírus influenza de origem suína, o A/H1N1, agora designado A(H1N1)pdm09 foi identificado como uma importante causa de doenças respiratórias febris no México e nos Estados Unidos <sup>1</sup>. Rapidamente o novo vírus espalhou-se surgindo casos no Hemisfério Norte durante o outono e o inverno.

Os vírus da influenza pertencem à família Orthomyxoviridae, destacando-se os da influenza A e B que são responsáveis por doenças respiratórias graves associadas à hospitalização. Eles são constituídos por dez proteínas, sendo que duas são de superfície a hemaglutinina e a neuraminidase. No caso da influenza A, existem subtipos definidos pelas variações que existem entre estas duas proteínas de superfície. Atualmente estão identificados 16 subtipos de hemaglutinina (H) e 9 subtipos de neuraminidase (N) <sup>2</sup>.

Os vírus da influenza humana estão sujeitos a frequentes mutações e algumas vezes apresentam mudanças mais radicais.

A variação antigênica é um processo gradual e contínuo de modificações nas proteínas hemaglutinina e neuraminidase durante a replicação viral originando novas cepas. O surgimento destas novas cepas cria a necessidade da atualização constante da composição das vacinas, pois os anticorpos produzidos anteriormente podem não ser capazes de proteger os indivíduos contra os novos tipos de influenza <sup>2</sup>.

A mudança antigênica é caracterizada quando surge entre os seres humanos um tipo de influenza A que apresenta a hemaglutinina ou a composição de hemaglutinina com neuraminidase que não tem circulado nos últimos anos. Isto pode acontecer em três situações: (1) pode surgir um vírus novo através de um rearranjo genético das proteínas hemaglutinina e neuraminidase entre vírus da gripe humano e não humano; (2) um vírus da gripe de animais pode infectar um humano diretamente sem recombinação genética; (3) um vírus não humano pode passar a partir de um animal hospedeiro intermediário (ave, suíno) para os seres humanos <sup>2</sup>.

A mudança antigênica é extremamente perigosa para os humanos porque eles não terão anticorpos contra esta nova espécie viral o que pode originar pandemias <sup>2</sup>.

Este novo vírus A(H1N1)pdm09 apresenta uma combinação de genes provenientes de cepas aviárias, humanas e suínas e é antigenicamente e geneticamente distinto das demais cepas de influenza humana que circularam recentemente pelo mundo <sup>3</sup>.

Ele causa sintomas de gripe e é transmitido de pessoa a pessoa, principalmente por meio de tosse, espirro ou de secreções respiratórias de pessoas infectadas.

Na maior parte dos casos se apresenta como doenças febris leves com tosse, dor de garganta e em alguns casos sintomas gastrintestinais. No caso de comprometimento pulmonar grave, verifica-se também dispnéia. A incidência é maior entre crianças e adultos jovens, apesar de que os mais velhos afetados por comorbidade apresentam os piores desfechos <sup>4</sup>.

Como outros tipos de influenza sazonal, esta também é frequentemente auto-limitada e benigna, com apenas 1% a 2% dos casos requerendo hospitalização. Apesar disso, em alguns casos há uma rápida piora levando o paciente à morte em pouco tempo. As pessoas mais afetadas são as que já possuem outros comprometimentos como asma, doenças cardíacas, doenças renais ou gestantes <sup>5</sup>.

## **1.2. Vigilância da influenza A(H1N1)pdm09**

Os casos humanos de influenza A(H1N1)pdm09 começaram a ser diagnosticados no México e nos Estados Unidos no início de 2009. A Organização Mundial da Saúde (OMS) foi comunicada e a partir da confirmação destes casos foi emitido um alerta de Emergência de Saúde Pública Internacional para todos os países membros. A classificação do alerta aumentou rapidamente e em junho de 2009 estávamos diante de uma pandemia <sup>6</sup>.

Esta situação de pandemia causada pelo vírus da influenza foi a primeira a surgir depois da “gripe de Hong Kong” instalada em 1968 e causada pelo vírus H3N2 <sup>7</sup>.

A partir de 1º de julho de 2009, 90.300 casos da nova gripe A (H1N1)pdm09 foram oficialmente comunicados à OMS, tendo-se diagnosticado casos em mais de 80 países de todo mundo <sup>8</sup>. No final de julho já havia 162.380 casos e 1.154 óbitos associados em 168 países e territórios com pelo menos um caso com confirmação laboratorial em cada um deles <sup>9</sup>.

Segundo a atualização n.º. 77 da OMS <sup>10</sup> até 29 de novembro de 2009, um total de 207 países e territórios notificaram casos confirmados laboratorialmente de influenza pandêmica A(H1N1)pdm09, incluindo pelo menos 8.768 óbitos. No Hemisfério Norte, a chegada do inverno favoreceu o aumento dos casos confirmados da gripe A(H1N1)pdm09. A OMS monitora a situação no mundo por meio de quatro indicadores: dispersão geográfica, tendência de doença respiratória, intensidade de doença respiratória e impacto nos serviços de saúde.

Com a perspectiva da chegada do inverno no Hemisfério Sul, iniciaram-se os preparativos para a campanha de vacinação contra A(H1N1)pdm09. Para isto foram analisados os dados epidemiológicos do Hemisfério Norte do ano anterior.

Considerando a forma como a pandemia se instalava, a virulência da cepa e a disponibilidade dos recursos tecnológicos para prevenção, tratamento e monitoramento da mesma, fez-se necessário a instituição de medidas de contenção. A Organização Pan-Americana da Saúde (OPAS) organizou dois encontros com seus países membros para definir as estratégias de vacinação <sup>6</sup>.

A dificuldade, considerando os aspectos técnicos de logística e econômicos, para vacinar toda a população fez com que se definissem dois objetivos para esta intervenção: manter o funcionamento dos serviços de saúde envolvidos na resposta à pandemia e diminuir a morbimortalidade associada à pandemia da influenza <sup>6</sup>.

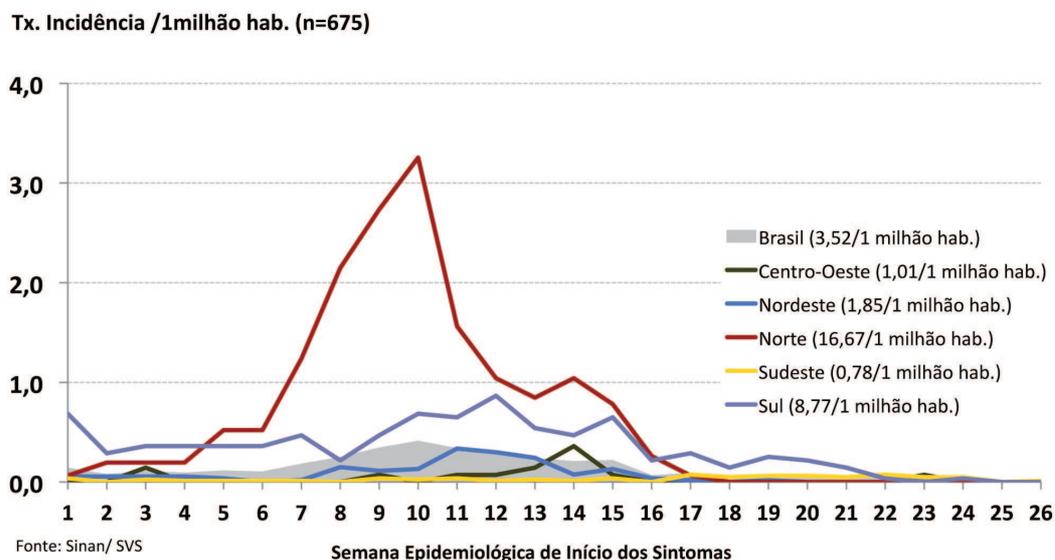
Com estes critérios em pauta foi escolhido o público alvo a ser vacinado no primeiro momento, o qual era composto por trabalhadores dos serviços de saúde públicos e privados envolvidos em ações de resposta à pandemia, das gestantes, da população indígena e da população com doenças crônicas. No Brasil, o Ministério da Saúde, após uma avaliação epidemiológica e de discussões com entidades científicas, decidiu incluir mais dois grupos a serem vacinados: crianças saudáveis entre seis meses e dois anos de vida incompletos e adultos saudáveis dos 20 a 29 anos completos <sup>11</sup>.

A pandemia de influenza é monitorada mensalmente pela Secretaria de Vigilância em Saúde (SVS) através do acompanhamento de bancos de dados como: Sistema Nacional de Agravos de Notificação (SINAN), Sistema de Informações Hospitalares (SIH), Sistema de Informações sobre Mortalidade (SIM), Sistema de Vigilância da Gripe (Sivep Gripe), Vigilância de Fatores de Risco e Proteção para Doenças Crônicas por Inquérito Telefônico (VIGITEL), indicadores qualitativos, além de outras iniciativas locais <sup>12</sup>.

O *Informe Técnico Mensal de Influenza*, edição n.º. 5 <sup>12</sup>, apresenta a evolução da pandemia de influenza no Brasil, no período compreendido entre 03 de janeiro de 2010 a 03 de julho de 2010 – semanas epidemiológicas 01 a 26 de 2010. Neste período foram notificados 6.790 casos (Figura 1) dos quais 675 foram confirmados e destes, 52,1% apresentavam pelo menos uma condição de risco para gravidade.

Considerando o país como um todo, a partir da semana epidemiológica 10 foi observada contínua redução na incidência dos casos confirmados.

**Figura 1** Incidência de casos confirmados de influenza por região geográfica e semana epidemiológica de início dos sintomas. Brasil, até semana epidemiológica 26 de 2010.



Fonte: Secretaria de Vigilância em Saúde, Ministério da Saúde <sup>12</sup>.

Dados sorológicos de várias coortes em diferentes faixas etárias que receberam vacina contra a influenza sazonal trivalente licenciada (TIV) sugerem que essa vacina provavelmente não proporcionava proteção contra o novo vírus. Observou-se ainda que cerca de 33% dos indivíduos com mais de 60 anos de idade têm níveis mensuráveis de anticorpos séricos (inibidores de hemaglutinação ou neutralizantes) contra o influenza A(H1N1)pdm09, enquanto aos jovens adultos e crianças faltam completamente títulos protetores. Esses dados indicaram a necessidade de desenvolver vacinas contra a nova cepa de influenza A(H1N1)pdm09 que trouxesse proteção adequada para pessoas de diferentes faixas etárias, especialmente para aqueles com um ou mais fatores de risco para doença grave <sup>13</sup>.

### **1.3. Vacinas contra influenza A(H1N1)pdm09**

Em 11 de junho de 2009, a OMS, considerando o número de casos confirmados de influenza A(H1N1)pdm09 e a rápida disseminação por várias partes do mundo, elevou o nível de alerta de fase V para fase VI e comunicou formalmente a situação de pandemia instalada por este tipo de influenza <sup>14</sup>. Foi a primeira vez em que o mundo pode acompanhar em tempo real o surgimento, o crescimento e a dispersão de uma pandemia pelo mundo. Estávamos presentes a

uma situação de necessidade imediata de vacinas para o mundo todo. Sabe-se que os maiores produtores de vacinas concentram-se na Europa e Estados Unidos. A OMS investe em um planejamento para aumentar a capacidade mundial de produção de vacinas. Este plano fundamenta-se em três aspectos: aumento da vacinação contra gripe sazonal nos países desenvolvidos e nos países em desenvolvimento, transferência de tecnologia e desenvolvimento de novas tecnologias de produção <sup>15</sup>.

Estes são passos necessários para que, no caso de surgimento inesperado de pandemias mundiais causadas pelo vírus da gripe, seja possível o acesso rápido à vacinação pelo maior número de pessoas.

Com a propagação alguns anos atrás do vírus A(H5N1) responsável pela gripe aviária, também altamente patogênica, a comunidade internacional bem como os fabricantes de vacina organizaram-se para rapidamente trabalhar no desenvolvimento de vacinas contra possíveis pandemias de gripe e para a produção rápida de doses que possam atender grande parte da população mundial <sup>16</sup>.

A situação de emergência induzida pela disseminação da influenza A(H1N1)pdm09 fez surgir uma inesperada colaboração entre autoridades sanitárias, pesquisadores e fabricantes de vacina do mundo inteiro, além de instituições internacionais e governos. Desta forma, foi facilitado o desenvolvimento, a produção e a aprovação regulatória de vacinas contra A(H1N1)pdm09 apenas tres meses após a declaração da pandemia <sup>17</sup>.

Os fabricantes trabalharam junto com as autoridades sanitárias para estabelecer o planejamento de gerenciamento de risco na vigilância do uso das novas vacinas. Houve também a preocupação em doar ou vender a preços menores do que os de mercado doses de vacinas para os países em desenvolvimento <sup>17</sup>.

As vacinas tornaram-se comercialmente disponíveis em setembro de 2009 com informações sobre sua efetividade muito limitadas. Para ampliar este conhecimento, vários ensaios clínicos para avaliar a imunogenicidade e a segurança das vacinas foram iniciados. Estas pesquisas envolviam diferentes populações, faixas etárias, doses e mesmo composição: vacinas produzidas com e sem adjuvantes. Pretendia-se através desses estudos determinar o tipo de formulação e a dose mais adequada para garantir a soroproteção e no caso das vacinas com adjuvantes a possibilidade de produção de vacinas eficazes mesmo com menor quantidade de ativos <sup>18</sup>.

O Ministério da Saúde, numa estratégia para imunizar o maior número possível de pessoas, adquiriu as doses de vacinas produzidas por três laboratórios: Glaxo Smith Kline

(GSK), SANOFI Pasteur (em parceria com o Instituto Butantan) e Novartis. Esses laboratórios são fornecedores de vacinas para vários países do mundo.

De acordo com o *Protocolo de Vigilância Epidemiológica de Eventos Adversos Pós-vacinação*<sup>19</sup>, as vacinas a serem utilizadas contra o H1N1 estão descritas no Quadro 1.

**Quadro 1** Vacinas monovalentes a serem utilizadas na estratégia de vacinação contra o vírus influenza pandêmico (H1N1). Brasil, 2010.

Vacina	Fabricante	Cepa	Composição		Apresentação	
			Com adjuvante *	Sem adjuvante		
Influenza A (H1N1) 2009 Vacina monovalente	SANOPI Pasteur/Butantan	A/California/7/2009(H1N1) (NYMCX-179A)		1) Antígeno propagado em ovos: cepa análoga A/Califórnia/7/2009(H1N1) (NYMCX-179A)..... 15mcg (expresso em microgramas de hemaglutinina) por dose de 0,5mL; 2) Outros componentes: tiomersal (45mcg por dose de 0,5mL), cloreto de sódio, cloreto de potássio, fosfato dissódico diidratado, diidrogenofosfato de potássio e água para injeção).	Frasco multidose: 10 doses de 0,5mL	Suspensão (líquido opalescente, leitoso, transparente e incolor)
Influenza A (H1N1) 2009 Vacina monovalente	GSK	Vírus like-v (H1N1)A/Califórnia/7/2009	1) Antígeno propagado em ovos: vírus like-v (H1N1)A/Califórnia/2009.....3,75mcg (expresso em microgramas de		Frasco multidose: 10 doses de 0,5mL	Suspensão (líquido opalescente, leitoso, transparente e incolor) e emulsão

			<p>hemaglutinina) por dose de 0,5mL;  2) Adjuvante: ASO3 composto de esqualeno, DL-<math>\alpha</math> tocoferol e polissorbato 80;  3) Outros componentes: tiomersal, cloreto de sódio, fosfato de sódio dibásico, fosfato de potássio monobásico, cloreto de potássio, água para injeção.  Emulsão: cloreto de sódio, fosfato de sódio dibásico, fosfato de potássio monobásico, cloreto de potássio, água para injeção.</p>			(líquido esbranquiçado homogêneo)
Influenza A (H1N1) 2009 Vacina monovalente	GSK	Vírus like-v (H1N1)A/Califórnia/7/2009	<p>1) Antígeno propagado em ovos: vírus like-v (H1N1)A/Califórnia/2009.....3,75mcg (expresso em microgramas de hemaglutinina) por dose de 0,5mL;  2) Adjuvante: ASO3 composto de esqualeno, DL-</p>		Frasco multidose: 10 doses de 0,5mL	Suspensão (líquido opalescente, leitoso, transparente e incolor) e emulsão (líquido esbranquiçado homogêneo)

			<p><math>\alpha</math> tocoferol e polissorbato 80;</p> <p>3) Outros componentes: tiomersal, cloreto de sódio, fosfato de sódio dibásico, fosfato de potássio monobásico, cloreto de potássio, água para injeção. Emulsão: cloreto de sódio, fosfato de sódio dibásico, fosfato de potássio monobásico, cloreto de potássio, água para injeção.</p>			
<p>Influenza A (H1N1) 2009 Vacina monovalente - FLUVIRIN H1N1</p>	Novartis	Vírus like-v (H1N1)A/Califórnia/7/2009		<p>1) Antígeno propagado em ovos: vírus vírus like-v (H1N1)A/Califórnia/2009.....15mcg (expresso em microgramas de hemaglutinina) por dose de 0,5mL;</p> <p>2) Outros componentes: tiomersal (25mcg por dose de 0,5mL.</p>	Frasco multidose: 10 doses de 0,5mL	<p>Suspensão (líquido opalescente, leitoso, transparente e incolor</p>
<p>Influenza A (H1N1) 2009 Vacina monovalente</p>		A/Califórnia/7/2009 (H1N1) (X-179A)	1) Antígeno propagado em ovos: vírus like-v		Frasco multidose: 17 doses de 0,25mL	

<p>- CELTURA</p>		<p>(H1N1)A/Californi a/2009.....3,75mcg (expresso em microgramas de hemaglutinina) por dose de 0,25mL; 2) Adjuvante: composto que contém esqualeno, polissorbato 80 e trioleato de sorbitam em um tampão citrato; 3) Outros componentes: tiomersal, cloreto de sódio, cloreto de potássio, fosfato de potássio di- hidrogenado, fosfato dissódico diidratado, cloreto de magnésio hexaidratado, cloreto de cálcio diidratado, citrato de sódio, ácido cítrico e água para injeção.</p>			
----------------------	--	--	--	--	--

Fonte: Agência Nacional de Vigilância Sanitária, Secretaria de Vigilância em Saúde, Ministério da Saúde<sup>19</sup>.

No início de julho de 2009 a GSK deu início ao desenvolvimento da vacina contra A(H1N1)pdm09 em dois de seus laboratórios de produção situados na Alemanha e no Canadá. As duas vacinas consistem no antígeno contra A(H1N1)pdm09 e do adjuvante ASO3 (composto de esqualeno, DL alfa tocoferol e polissorbato 80).

O uso do adjuvante permite que seja utilizado menos antígeno em cada dose de vacina<sup>20</sup>, desta forma fazendo com que mais doses possam ser produzidas e conseqüentemente aumentando o número de pessoas protegidas num menor período de tempo.

A produção em larga escala iniciou em julho de 2009. As vacinas eram Pandemrix com o antígeno produzido na Alemanha e que foi disponibilizada na União Européia a partir de setembro de 2009 e Arepanrix com antígeno produzido no Canadá que recebeu do Health Canada a primeira aprovação para uso em outubro de 2009 (Electronic Medicines Compendium).

<http://www.medicines.org.uk/emc/medicine/22352/SPC/Pandemrix+suspension+and+emulsion+for+emulsion+for+injection>, acessado em 14/Jan/2011).

No momento do registro dos produtos Pandemrix e Arepanrix estas vacinas foram sujeitas a uma “Autorização de Introdução no Mercado em Circunstâncias Excepcionais”. A Agência Européia de Medicamentos (<http://www.ema.europa.eu>) monitora e avalia constantemente dados de imunogenicidade clínica, segurança e reatogenicidade destes produtos.

Em algumas faixas etárias existiam informações limitadas dos ensaios clínicos (adultos com 60 a 79 anos de idade e crianças com 10 a 17 anos de idade), informação muito limitada dos ensaios clínicos (adultos com 80 anos de idade e superior, crianças dos 6 meses aos 9 anos de idade) ou nenhuma informação (crianças com menos de 6 meses de idade) com aplicação de Pandemrix (<http://www.ema.europa.eu>).

Para ampliar o conhecimento sobre estas duas vacinas, desde a liberação inicial para comercialização, pesquisadores do mundo todo iniciaram ensaios clínicos que envolviam diferentes populações, faixas etárias, portadores de doenças auto-imunes e HIV positivos. Existem também pesquisas que comparam o uso de diferentes doses da vacina e outras que comparam a efetividade de vacinas com e sem adjuvantes<sup>21</sup>.

Existem outros pesquisadores realizando estudos de fase IV com estas vacinas da GSK. Destes, cinco estão registrados no International Clinical Trials e tem como objetivos evidenciar possíveis eventos adversos pós-vacinais e/ou avaliar a imunogenicidade<sup>21</sup>.

Vários grupos no mundo todo relutaram em vacinar-se por causa da presença do esqualeno e timerosal na composição do adjuvante destas vacinas. Embora as vacinas com

adjuvantes tenham apresentado mais efeitos colaterais locais do que as sem adjuvante, não há evidências de que elas induzam mais efeitos sistêmicos ou desencadeiem doenças auto-imunes<sup>22</sup>.

#### **1.4. Programa de vacinação contra A(H1N1)pdm09**

Foi organizado o calendário vacinal que distribuía os grupos prioritários entre as semanas da estratégia da vacinação (Quadro 2). Para que este calendário fosse cumprido, foi necessário um grande esforço de logística do Ministério da Saúde bem como de toda a cadeia envolvida na vacinação, desde a distribuição de vacinas em quantidades suficientes até a organização da campanha e do pessoal operacional necessário.

**Quadro 2** Distribuição das etapas de vacinação e grupos prioritários. Brasil, 2010.

Grupos prioritários	Semanas de estratégia de vacinação										
	Março			Março/Abril	Abril				Maio		
	8 a 12	15 a 19	22 a 26	29/Março a 02/Abril	5 a 10	12 a 16	19 a 23	24 a 30	3 a 7	10 a 14	17 a 21
Trabalhadores de saúde											
População indígena aldeada											
Gestantes											
Crianças de 6 meses a < 2 anos			*					**			
Pessoas com doenças crônicas											
População de 20 a 29 anos											
Idosos (> 60 anos) com doenças crônicas							***				
População de 30 a 39 anos											

\* A 2ª dose (0,25mL) da vacina para o grupo de 6 meses a < 2 anos será agendada para 30 dias depois da 1ª dose;

\*\* Administração da 2ª dose (0,25mL) da vacina no período de 26 de abril a 7 de maio, conforme agendamento;

\*\*\* A vacinação do grupo de idosos será iniciada no sábado, dia 24 de abril, coincidindo com o Dia Nacional de Vacinação do Idoso e com o período da operação da vacinação sazonal.

Fonte: Programa Nacional de Vacinação, Departamento de Vigilância Epidemiológica, Secretaria de Vigilância em Saúde, Ministério da Saúde <sup>6</sup>.

A estratégia nacional de vacinação contra a gripe A(H1N1)pdm09 em todo o Brasil atingiu mais de 85 milhões de pessoas que foram imunizadas, segundo dados parciais registrados no “vacinômetro” pelos estados e municípios até 06 de julho de 2010. O total de pessoas vacinadas representa mais de 44% da população brasileira. A meta nacional de vacinar pelo menos 80% do público-alvo foi superada para o conjunto deste público e, especificamente, para portadores de doenças crônicas, crianças menores de dois anos, adultos de 20 a 29 anos, trabalhadores de saúde e indígenas <sup>12</sup>.

### **1.5. Recomendações pós-pandemia**

Em agosto de 2010, a OMS anunciou que a situação da gripe A(H1N1)pdm09 passou para o período de pós-pandemia, mas que continuaria acompanhando a atividade da influenza pelo mundo e monitorando os possíveis casos confirmados <sup>23</sup>. O Programa Global de Influenza monitora a atividade do vírus A(H1N1)pdm09 no mundo todo e publica a cada duas semanas atualizações sobre esta atividade.

Como prevenção de futuros casos, a OMS <sup>24</sup> preconizou a composição da vacina contra influenza sazonal a ser usada em 2011 no Hemisfério Sul, ou seja, A/California/7/2009 (H1N1)-likevirus; A/Perth/16/2009 (H3N2)-like virus; B/Brisbane/60/2008-like virus. Desta forma, espera-se a redução radical de casos de A(H1N1)pdm09 pelo menos onde exista disponibilidade da vacina sazonal. As mesmas cepas foram recomendadas para o ano de 2012, visto que os vírus circulantes não sofreram alterações significativas neste período.

A situação de pandemia pelo A(H1N1)pdm09 mostrou que para viroses como H5, H7 e H9 onde na população há pouca ou nenhuma pré-imunidade são necessárias duas doses de vacina e um adjuvante para estimular a efetiva resposta imune em todas as faixas etárias. Já no caso da H1, onde existe um nível de imunidade detectado, uma dose de vacina sem adjuvante seria suficiente para induzir a imunidade. O adjuvante seria usado para induzir a necessária proteção nos mais jovens e o uso de menor dose do antígeno <sup>25</sup>.

## **2. Justificativa**

No mundo todo houve uma urgência em relação à produção de vacinas contra A(H1N1)pdm09 para tentar deter a pandemia que estava iniciando, mas prometia se tornar muito rigorosa. Naquele momento, o risco de se usar em larga escala um produto vacinal pouco avaliado em ensaios clínicos foi julgado inferior ao benefício esperado da vacinação. Portanto, optou-se por aprovar em caráter especial as vacinas contra o vírus pandêmico mesmo sem a disponibilidade de resultados mais consistentes sobre a possível existência de eventos adversos à vacina e até mesmo a validação de sua imunogenicidade.

Desde esta aprovação em caráter excepcional, as agências regulatórias internacionais passaram a monitorar de perto os resultados dos ensaios clínicos realizados bem como as informações de farmacovigilância sobre os produtos enviados pelas empresas fabricantes.

A campanha de vacinação em massa no Brasil criou uma oportunidade de analisar a efetividade desta vacina distribuída e aplicada na população de acordo com o calendário definido pelo Ministério da Saúde. Considerando os conhecimentos limitados sobre a vacina, os resultados deste estudo podem contribuir para ampliar as informações sobre imunogenicidade e reatogenicidade em um cenário de vacinação em massa, cujos participantes, adultos, trabalham em atividades diversas em uma instituição de saúde no Rio de Janeiro.

Dois atributos básicos de uma vacina: a imunogenicidade (capacidade da vacina de induzir a formação de anticorpos) e a reatogenicidade (ação da vacina produzindo alterações clínicas e laboratoriais indesejadas) precisam ser conhecidos pelas autoridades sanitárias para a tomada de decisão sobre a sua utilização na população.

### **3. Objetivos**

#### **3.1. Objetivo geral**

Analisar a imunogenicidade e a reatogenicidade da vacina contra A(H1N1)pdm09 (Arepanrix<sup>TM</sup>H1N1) em uma coorte constituída por servidores da Fundação Oswaldo Cruz (FIOCRUZ) do Rio de Janeiro.

#### **3.2. Objetivos específicos**

- Estimar a proporção de soroconversão e a média geométrica dos títulos de anticorpos após a vacinação contra A(H1N1)pdm09;
- Comparar a soroconversão entre sexos, faixas etárias e grupos com faixas de índice de massa corporal e hábitos de tabagismo diferentes constatados nos voluntários;
- Estimar a frequência de eventos adversos pós-imunização ocorridos no período de acompanhamento e comparar com os descritos em outros estudos.

## **4. Sujeitos e métodos**

### **4.1. Delineamento geral do estudo**

Este estudo é parte de um ensaio clínico de fase II, randomizado, aberto, para avaliar a segurança e imunogenicidade de dois diferentes esquemas de vacinação contra influenza A(H1N1)pdm09 em indivíduos infectados pelo HIV. O ensaio tem um grupo controle, não randomizado, constituído por funcionários da área da saúde da FIOCRUZ com teste sorológico não reator para HIV, aos quais foi administrada a vacina no esquema definido pelo Programa Nacional de Imunização (PNI) do Ministério da Saúde, conforme detalhado abaixo. Os principais objetivos do ensaio clínico eram: (1) comparar o desenvolvimento, de títulos de anticorpos protetores contra o H1N1 em cada estrato de contagem de células CD4+, após a série de duas doses simples ou duas doses duplas da vacina contra A(H1N1)pdm09; (2) comparar a resposta imune dos grupos HIV-positivos com a dos adultos sadios imunizados com uma dose simples da mesma vacina; e (3) avaliar a segurança e a tolerabilidade da vacina contra o A(H1N1)pdm09 nas diferentes doses e esquemas de administração.

O tamanho da amostra foi calculado para um estudo de não-inferioridade levando em consideração os seguintes parâmetros: proporção de soroconversão de 0,95, diferença aceitável para não inferioridade de 10%, nível de significância de 0,05 e potência do teste de equivalência de 90%. Obteve-se um número de 82 voluntários para cada braço do estudo, número este arredondado para 90.

Neste estudo, foram considerados os dados do grupo controle do ensaio clínico de modo a analisar resposta a imune à vacinação em indivíduos HIV-negativos e as covariáveis associadas, tais como sexo, idade e outras características dos participantes. Trata-se, portanto, de um estudo observacional usando dados de um grupo não randomizado do ensaio clínico.

Foi feita uma avaliação da intensidade da resposta imune à vacina contra A(H1N1)pdm09 e da associação com fatores sociodemográficos e o estado de saúde presentes à época da vacinação. Todos os dados a serem utilizados para este trabalho foram coletados e são provenientes das fichas clínicas do estudo principal.

### **4.2. População do estudo**

A população do estudo foi constituída por funcionários da área da saúde da FIOCRUZ, integrantes do Instituto de Pesquisa Clínica Evandro Chagas (IPEC) e de outras unidades da

FIOCRUZ, isto é, um grupo de adultos com potencial para informar sobre a resposta à vacinação em indivíduos HIV-negativos. Trata-se de uma amostra não probabilística de 90 voluntários que atenderam ao convite a todos os funcionários elegíveis do IPEC. Eram profissionais da saúde com indicação de receber a vacina contra A(H1N1)pdm09.

Se fossemos calcular o tamanho da amostra necessária para este estudo levaríamos em consideração os seguintes parâmetros: proporção de soroconversão de 70%, nível de significância de 0,05, erro relativo de 10% o que daria 79 voluntários. Considerando erro relativo de 12% , diminuindo a precisão, teríamos 57 voluntários.

### **4.3. Critérios de elegibilidade**

Os participantes eram de ambos os sexos, com idade entre 18 e 59 anos, com sorologia para HIV-negativa e teste para gravidez negativo, realizados na triagem antes do recebimento da vacina contra influenza A(H1N1)pdm09. As mulheres com possibilidade de engravidar deviam utilizar um método contraceptivo durante o período de duração do estudo (preservativos masculinos ou femininos ou anticoncepcionais hormonais).

Além destes critérios, na triagem foram feitos exames laboratoriais, cujos resultados deveriam apresentar: hemoglobina  $> 8,0\text{g/dL}$ ; bilirrubina direta em níveis inferiores a 2,5 vezes o limite normal superior; aminotransferase alanina – ALT (TGP) – e aminotransferase aspartato – AST (TGO) – em níveis inferiores a 3 vezes o limite superior de normalidade e; contagem de plaquetas  $> 100.000/\text{mm}^3$ .

### **4.4. Critérios de exclusão**

Os critérios de exclusão foram estabelecidos de forma a diminuir os potenciais interferentes à resposta obtida com a vacinação contra A(H1N1)pdm09 ou fatores de risco para eventos adversos graves. São eles: (1) uso de qualquer tratamento sistêmico antineoplásico ou imunomodulador, corticóide sistêmico, vacinas experimentais, interleucinas, interferons, fatores do crescimento ou imunoglobulina intravenosa (IVIG) nos 45 dias que antecedem o ingresso no estudo; (2) gestação ou aleitamento; (3) alergia e/ou sensibilidade ou qualquer hipersensibilidade conhecida aos resíduos presentes na vacina (ovo, proteína de galinha, ovalbumina, formaldeído, sulfato de gentamicina e deoxicolato de sódio) e/ou ao tiomersal; (4) abuso de álcool ou dependência ou outros quadros que, na opinião do pesquisador do centro, possam interferir no cumprimento das exigências do estudo; (5) doença grave exigindo

tratamento sistêmico e/ou hospitalização nos 45 dias que antecedem o ingresso no estudo; (6) doença febril grave ou infecção aguda no momento da triagem para o estudo e/ou no dia de aplicação da vacina; (7) vacinação contra influenza sazonal nos últimos 3 meses antes da entrada no estudo; (8) vacinação contra influenza A(H1N1)pdm09 previamente; (9) história ou antecedente familiar de síndrome de Guillain-Barré (pais, irmãos, meio-irmãos ou filhos); (10) diagnóstico de quadro neurológico, incluindo (mas não se limitando a) ausência de reflexos profundos calcâneos e patelares em ambas as pernas (os quatro ausentes) nos últimos seis meses; (11) perda de força desproporcional no(s) membro(s) inferior(es) em comparação aos membros superiores nos últimos seis meses.

#### **4.5. Recrutamento dos participantes**

Os voluntários foram recrutados dentre os indivíduos, funcionários da FIOCRUZ, que procuraram o IPEC para receber a vacina contra a influenza A(H1N1)pdm09 de acordo com as prioridades definidas pelo Ministério da Saúde do Brasil. Além desses, houve uma campanha interna para alcançar o número de voluntários de forma mais rápida, considerando que o prazo para a realização do estudo estava subordinado à campanha de vacinação e ao início do período esperado de circulação do vírus de influenza.

Este estudo foi iniciado após aprovação do protocolo e do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) pelo Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) do IPEC em 8 de março de 2010 com CAAE 0009.0.009.000-10 Anexo 1). O ensaio clínico foi registrado no Clinical Trials Network (NCT01155037).

Ao ser identificado um candidato a participar do estudo, os detalhes foram cuidadosamente discutidos com o mesmo. O participante foi solicitado a ler e assinar o TCLE antes que qualquer procedimento do estudo fosse realizado (Anexo2).

#### **4.6 Procedimentos do estudo**

O estudo previa várias consultas desde a triagem até um ano após a vacinação (Quadro 3). Estes foram os momentos para obtenção das informações demográficas sobre os voluntários, os registros de eventos adversos e coleta do sangue para os exames laboratoriais (bioquímica e hematologia) e para sorologia contra A(H1N1)pdm09.

**Quadro 3** Consultas e procedimentos do estudo.

Consultas	Procedimentos
1. Consulta de triagem	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Obtenção do termo de consentimento;</li> <li>• Historia médica completa;</li> <li>• Exame físico e sinais vitais;</li> <li>• Exames de segurança;</li> <li>• Teste para HIV;</li> <li>• Teste de gravidez (mulheres com potencial reprodutivo);</li> <li>• Verificação de elegibilidade.</li> </ul>
2. Consulta vacinação anti A(H1N1)pdm09	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Atualização de história médica;</li> <li>• Exame físico e sinais vitais;</li> <li>• Teste de gravidez (mulheres com potencial reprodutivo);</li> <li>• Verificação de elegibilidade;</li> <li>• Coleta de sangue, processamento e armazenagem para sorologia A(H1N1)pdm09;</li> <li>• Aplicação da vacina Arepanrix™;</li> <li>• Avaliação de reatogenicidade (1 hora);</li> <li>• Registro de telefones para contato 24 horas após a vacinação;</li> <li>• Fornecimento de diário do voluntário.</li> </ul>
3 - Consulta telefônica (um dia após a vacinação)	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Avaliação dirigida de eventos adversos locais e sistêmicos (incluindo reatogenicidade).</li> </ul>
4. Consulta telefônica (sete dias após vacinação)	
5. Consulta 21º dia pós-vacinal	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Atualização de história médica;</li> <li>• Exame físico dirigido e sinais vitais;</li> <li>• Avaliação de reatogenicidade (1 hora);</li> <li>• Captura e registro de eventos adversos;</li> <li>• Captura e registro de medicações concomitantes;</li> <li>• Exames de segurança;</li> <li>• Coleta de sangue, processamento e</li> </ul>

	armazenagem para sorologia A(H1N1)pdm09; <ul style="list-style-type: none"> <li>• Recolhimento e verificação do diário do voluntário.</li> </ul>
6. Consulta 42º dia pós-vacinal	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Atualização de história médica;</li> <li>• Exame dirigido físico e sinais vitais;</li> <li>• Captura e registro de eventos adversos;</li> <li>• Captura e registro de medicações concomitantes;</li> <li>• Coleta de sangue, processamento e armazenagem para sorologia A(H1N1)pdm09.</li> </ul>
7. Consulta de oito semanas	
8. Consulta de dezesseis semanas	
9. Consulta de vinte e quatro semanas	
10. Consulta de trinta e duas semanas	
11. Consulta de quarenta semanas	
12. Consulta de quarenta e oito semanas	
13. Consulta de final do estudo (última consulta no estudo ou em qualquer momento no qual o voluntário se retire)	

História médica: foram obtidos história médica completa e dados demográficos incluindo data de nascimento, etnia, queixas atuais, patologias pregressas, antecedentes familiares, hábitos (tabagismo, etilismo, uso de drogas ilícitas), medicação concomitante, resultados de exames subsidiários prévios. Em todas as outras consultas do estudo a história médica tem sido atualizada com dados sobre sintomas, sinais, diagnósticos, achados de exame físico e resultados alterados de exames laboratoriais que apareçam durante o período de participação do voluntário. Os achados após a vacinação que representarem agravo clínico foram registrados como evento adverso.

Exame físico e sinais vitais: medidas de sinais vitais, incluindo frequência cardíaca, frequência respiratória, pressão arterial e temperatura axilar, são feitas em todas as consultas do estudo. O peso é monitorado em todas as consultas, e a altura só na consulta de triagem.

Exames laboratoriais de segurança: hemograma completo, bilirrubinas totais e frações, TGO e TGP – foram realizados nas amostras de sangue coletadas em todas as visitas.

#### **4.7. Vacinação**

A vacina utilizada no estudo foi a Arepanrix™ H1N1 produzida pela GSK. O fabricante é ID Biomedical Corporation of Québec, da GlaxoSmithKline Biologicals, Québec City, Canada G1P 4R8. É uma vacina antigripal pandêmica A(H1N1)pdm09 de vírus fracionados,

inativados e com adjuvantes. Esta vacina está em conformidade com as recomendações da OMS e com as decisões da União Europeia para a pandemia.

O produto vem acondicionado em duas embalagens: suspensão (frasco de 2,5mL, com tampa de borracha, contendo o antígeno) e a emulsão (frasco de 2,5mL, com tampa de borracha, contendo o adjuvante), ambos os frascos são multidose.

Composição qualitativa e quantitativa Arepanrix, após a mistura, por dose (0,5ml): vírus da gripe fracionados, inativados, que contém antígeno (cultivados em ovos) equivalente a vírus do tipo A/Califórnia/7/2009 (H1N1) v-like strain (X-179A) 3,75mcg (hemaglutinina). Adjuvante ASO3 composto de esqualeno (10,69mg), DL- $\alpha$ -tocoferol (11,86mg) e polissorbato 80 (4,86 mg).

Lista de excipientes: frasco de suspensão com o antígeno (timerosal, cloreto de sódio, fosfato de hidrogênio dissódico, fosfato dihidrogênio de potássio, cloreto de potássio e água para injetáveis); frasco de emulsão com o adjuvante (cloreto de sódio, fosfato de hidrogênio dissódico, fosfato dihidrogênio de potássio, cloreto de potássio e água para injetáveis).

A embalagem do produto contém 50 frascos de suspensão e 50 frascos de emulsão. O produto deve ser conservado entre 2°C e 8°C e deve ser mantido na embalagem original, protegido contra a luz.

O produto deve ser reconstituído imediatamente antes do uso, respeitando-se os seguintes procedimentos:

- Tirar um frasco de suspensão e um frasco de emulsão da geladeira e aguardar até atingirem a temperatura ambiente;
- Agitar e inspecionar visualmente cada frasco – caso se verifique a presença de qualquer partícula estranha o produto não deverá ser aplicado;
- Aspirar o conteúdo do frasco de emulsão com seringa estéril e injetar no frasco de suspensão;
- Agitar bem o frasco reconstituído (o produto deve ter aspecto de um líquido turvo esbranquiçado, sem partículas, com volume de 5mL);
- Aspirar o volume equivalente à dose prescrita para o voluntário usando seringa descartável e injetar imediatamente (cada 0,5mL contém 3,75 $\mu$ g de antígeno).

Após a reconstituição o produto pode ser conservado em temperatura ambiente (25°C) ou na geladeira e usado em no máximo 24 horas. Caso tenha ficado na geladeira, o produto deve atingir a temperatura ambiente antes da aplicação.

Imediatamente antes de cada aplicação o frasco reconstituído deve ser agitado e inspecionado visualmente.

Os participantes do estudo receberam a vacina contra o A(H1N1)pdm09 por via intramuscular na região deltóide do membro superior, com aplicação de uma dose (0,5mL = 3,75µg). A vacina contra o A(H1N1)pdm09 foi administrada de acordo com o cronograma de visitas do estudo (descrito no item 4.6 *Procedimentos do Estudo*).

#### **4.8. Coleta de dados**

Para cada indivíduo que assinou o TCLE e se submeteu aos procedimentos de seleção para este estudo, foi completada uma Ficha Clínica de Estudo (FCE), especialmente desenvolvida para esse projeto. Isto se aplica também aos que se submeteram aos procedimentos de seleção, mas não foram admitidos e aos que tiveram a participação interrompida antes da conclusão do estudo. A razão pela qual um indivíduo não foi admitido ou a razão para descontinuação foi descrita no documento fonte e na FCE.

Qualquer referência aos voluntários era feita usando-se suas iniciais e números específicos do protocolo, nunca pelos nomes.

Após a vacinação, cada voluntário recebeu um Diário do Voluntário onde ele fez o registro de qualquer reação, sintoma ou doença que o mesmo tenha apresentado entre a vacinação e a próxima consulta. Ele registrou também se fez uso de alguma medicação neste período.

Os voluntários foram acompanhados por 48 semanas com consultas presenciais, por telefone e exames laboratoriais. Foram obtidas informações demográficas, clínicas, registros pós-vacinais, uso de medicação concomitante, resultados laboratoriais. Todas estas informações fazem parte das FCE. Estas fichas foram revisadas pela equipe do pesquisador responsável pelo estudo para verificar sua precisão.

Foi montado um banco de dados específico para o estudo e as informações constantes das FCE transferidas para o mesmo. O banco de dados foi monitorado para verificação dos registros bem como de sua consistência e completude.

As FCE – Fichas Clínicas do Estudo bem como o Diário do Voluntário estão no Anexo 3.

#### **4.9. Controle de qualidade dos dados**

A entrada dos dados no banco foi feita na Unidade Central de Dados do Laboratório de Pesquisa Clínica em DST e AIDS do IPEC. Um profissional da equipe da central de dados foi responsável pelo controle de qualidade dos dados inseridos no banco, incluindo verificações internas de inconsistências e geração de questionamentos para os pesquisadores para eventuais correções que sejam necessárias. É responsabilidade, desta central, assegurar a qualidade dos dados de informática deste estudo.

Todos os registros do estudo estão disponíveis para a equipe de pesquisadores, para o CEP do IPEC, para a Comissão Nacional de Ética em Pesquisa (CONEP) e para a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA).

#### **4.10. Métodos laboratoriais**

As amostras de sangue coletadas neste estudo foram analisadas no Laboratório de Vírus Respiratórios e do Sarampo – Instituto Oswaldo Cruz (IOC) – FIOCRUZ – Ministério da Saúde. O método utilizado para a titulação dos anticorpos presentes nas amostras foi a reação de inibição da hemaglutinação, usando hemácia de cobaio como concentrado de hemácia.

O teste de inibição de hemaglutinação (HAI) foi originalmente descrito por Hirst em 1942 e modificado por Salk em 1944. Este método utiliza da propriedade que as hemaglutininas, proteínas das viroses de influenza, têm de se ligar às hemáceas causando a hemaglutinação. Quando anticorpos contra a hemaglutinina específica da influenza ligam-se aos sítios da proteína da hemaglutinina, ocupando este lugar, há a impossibilidade de ligação com as hemáceas inibindo-se a hemaglutinação. Esta é a base para os testes de inibição da hemaglutinação <sup>2</sup>.

De acordo com os POP LVRS-TVR-008 e POP LVRS-TVR-009 do Laboratório de Vírus Respiratório e do Sarampo – IOC – FIOCRUZ – Ministério da Saúde (Anexo 4), as amostras são tratadas com a enzima destruidora de receptores (RDE; Denka-Seiken, Japão) e incubadas com quatro unidades de hemaglutinação do antígeno padronizado A/California/07/2009 (H1N1pdm09) por uma hora. Em seguida a suspensão de hemáceas de cobaio (0,5%) é adicionada e os tubos incubados novamente por uma hora, depois da qual é feita a leitura dos títulos inibidores da hemaglutinação.

O título de inibição da hemaglutinação refere-se à última diluição do anti-soro que inibiu completamente a hemaglutinação. Para este estudo, títulos inibidores da hemaglutinação menores do que 1:8 foram considerados como 1:4 para efeito de cálculo.

Neste procedimento existem aspectos que devem ser observados para que se obtenha um resultado confiável, tais como, remoção total de inibidores não específicos da reação, controle da concentração da suspensão viral, controle do tempo e temperatura da incubação do vírus e do soro e, muito importante, dependência do observador para a leitura final do teste (hemaglutinação ou ausência de hemaglutinação) <sup>2</sup>.

Os possíveis eventos adversos já relatados ou inesperados foram descritos através da observação de sinais ou sintomas no local da vacina ou sistêmicos. A reatogenicidade foi avaliada durante uma hora imediatamente após cada dose da vacina, por consulta telefônica 20 a 36 horas após a vacinação e presencialmente sete dias após a vacina.

A tabela para graduação de eventos adversos (Anexo 5) que faz parte do estudo principal foi utilizada para classificar os eventos adversos relatados pelos voluntários.

#### **4.11. Acompanhamento pós-vacinação**

Os voluntários foram acompanhados por 48 semanas após a vacinação. Conforme descrito no fluxograma do estudo, durante este período eles estiveram sob contínua observação na busca por eventos adversos. No dia da vacinação, o voluntário recebeu o Diário do Voluntário, para registro de qualquer reação ou sintoma apresentado após a vacina até a primeira consulta. Neste diário já existem perguntas que caracterizam as principais reações vacinais como febre maior do que 37,5°C e as locais: dor, desconforto, rubor, nódulo. O diário solicita também a anotação de outros tipos de eventos adversos, bem como a medicação que foi utilizada.

Foram feitas também neste período de 48 semanas, oito coletas de sangue para a realização de testes de avaliação da resposta sorológica à vacina anti-A(H1N1)pdm09.

#### **4.12. Plano de análise**

Os dados utilizados nas análises foram obtidos nas visitas de seguimento dos voluntários e são provenientes de entrevistas com questionários estruturados e perguntas abertas, exames clínicos iniciais e ao longo das visitas, bem como de exames laboratoriais (bioquímicos e hematológicos) e das análises sorológicas.

As variáveis de interesse para a análise dos voluntários HIV-negativos são: sexo; idade do participante; índice de massa corporal (IMC); tabagismo; título de anticorpos contra A(H1N1)pdm09 antes e depois da vacinação; soroproteção; soroconversão; eventos adversos pós-vacinais e; intensidade do evento adverso.

O laboratório que realizou as análises para este estudo apresentou os resultados com fator de diluição 2: 1:8, 1:16, 1:32 etc. Desta forma, considerou-se como soroproteção títulos de anticorpos inibidores da hemaglutinação maior ou igual a 1:32. Miller et al. <sup>26</sup> usa esta escala justificando título para inibição da hemaglutinação de 1:8 como igual ou superior ao limite mínimo de detecção para este ensaio e 1:32 como um título de pelo menos 4 vezes o limite de detecção o que considera uma resposta significativa.

Foi realizada a análise descritiva das variáveis explicativas sumarizadas e apresentadas as frequências absolutas e relativas das variáveis categóricas, e a média, o desvio-padrão (DP), a mediana para variáveis contínuas.

Foi calculada a proporção de soroconversão, os títulos médios geométricos e a frequência dos eventos adversos, estabelecendo-se um intervalo de 90% de confiança (IC90%) para as estimativas. Para ajuste simultâneo de múltiplas variáveis de confusão, um modelo de regressão logística foi aplicado tendo a variável dicotômica “soroconversão” como variável resposta, com variáveis explanatórias biológica ou estatisticamente ( $p < 0,20$ ) mais relevantes introduzidas passo a passo e mantidas no modelo quando  $p < 0,10$  ou quando justificado do ponto de vista lógico.

Da comparação da proporção de soroconversão entre categorias das variáveis explicativas foram gerados riscos relativos com intervalos de 95% de confiança (IC95%). A transformação logarítmica (base 10) da recíproca dos títulos de anticorpos foi aplicada para atenuar a assimetria típica da distribuição dos dados sorológicos. O log 10 dos títulos constituiu a variável resposta dos modelos de regressão linear. As variáveis explanatórias biológica ou estatisticamente ( $p < 0,20$ ) mais relevantes foram introduzidas passo a passo no modelo, e mantidas quando  $p < 0,10$  ou quando justificado do ponto de vista lógico.

Para a análise de reatogenicidade foi tabulado a frequência e a intensidade dos eventos adversos.

Estudos clínicos que tem como produto investigacional as vacinas contra H1N1, Arepanrix™ e Pandemrix, que já estavam em andamento, de acordo com registros no Clinical Trials, cujos achados já estavam publicados no momento de análise e discussão dos resultados deste projeto foram utilizados para eventual comparação, considerando suas metodologias e populações de estudo.

#### **4.13. Considerações sobre a eticidade do estudo**

O protocolo do *Estudo de Fase II para Avaliar a Segurança e a Imunogenicidade da Vacina Anti A(H1N1)pdm09 em Pacientes Infectados pelo HIV* – do qual este estudo faz parte – foi elaborado em conformidade com a *Resolução n.º. 196/96* do Conselho Nacional de Saúde sobre pesquisa envolvendo seres humanos, e foi aprovado pelo CEP do IPEC. Este projeto maior está registrado no Sistema Nacional de Informação sobre Ética em Pesquisa envolvendo Seres Humanos (SISNEP) – um sistema de informações via Internet (<http://dtr2002.saude.gov.br/sisnep>).

A equipe de pesquisadores forneceu a cada participante explicações claras dos objetivos, métodos, benefícios antecipados e riscos potenciais deste estudo. Cada participante voluntariamente assinou o TCLE aprovado pelo CEP antes da participação no estudo. Além disso, também foi explicado que os participantes tinham o direito de se recusar a participar no estudo ou de se retirar a qualquer momento por qualquer razão, sem que isso lhes trouxesse qualquer tipo de constrangimento ou prejuízo.

O TCLE, em duas vias assinadas, foi obtido antes da realização de qualquer procedimento relacionado ao estudo, sendo que uma via original foi mantida com os registros do estudo e a outra via foi entregue ao voluntário.

Este projeto, *Resposta Imune à Vacina Contra A(H1N1)pdm09 Constituída por Vírus A/Califórnia/7/2009, Fracionados, Inativados e com Adjuvantes, em Adultos*, com Certificado de Apresentação para Apreciação Ética (CAAE) 0128.0.031.009-11, foi submetido ao CEP da Escola Nacional de Saúde Pública Sergio Arouca (ENSP) da FIOCRUZ, onde recebeu o número de protocolo 124/11 e foi aprovado em 1º de junho de 2011.

## **5. Resultados**

### **5.1. Imunogenicidade**

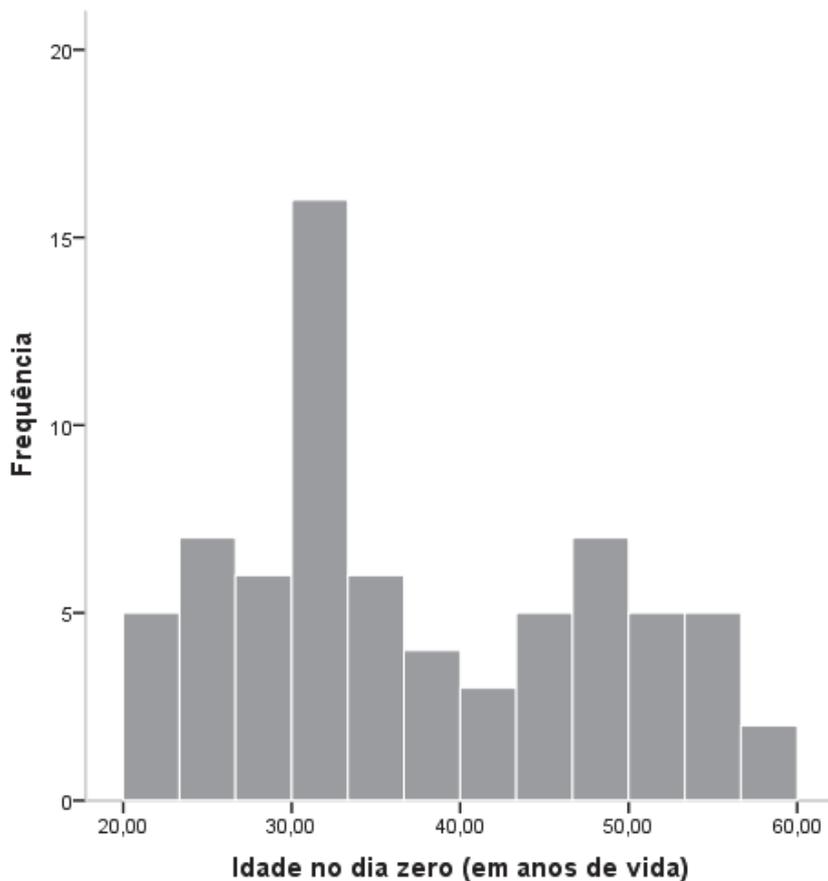
Seguindo a ordenação definida no item 4.6 *Procedimentos do Estudo*, no período de 11 de março a 7 de junho de 2010 foi realizada a triagem (consulta de triagem) dos voluntários do que foi chamado grupo de controle do estudo principal. Neste momento foram considerados como passíveis de inclusão 71 participantes.

Num segundo momento, na consulta de vacinação anti A(H1N1)pdm09, entre 16 de março e 22 de junho de 2010 foi feita a inclusão de 70 voluntários na pesquisa, pois houve uma perda.

Os 71 voluntários que foram considerados como aptos à inclusão na pesquisa formam um grupo composto por 25 homens (35,2%) e 46 mulheres (64,8%).

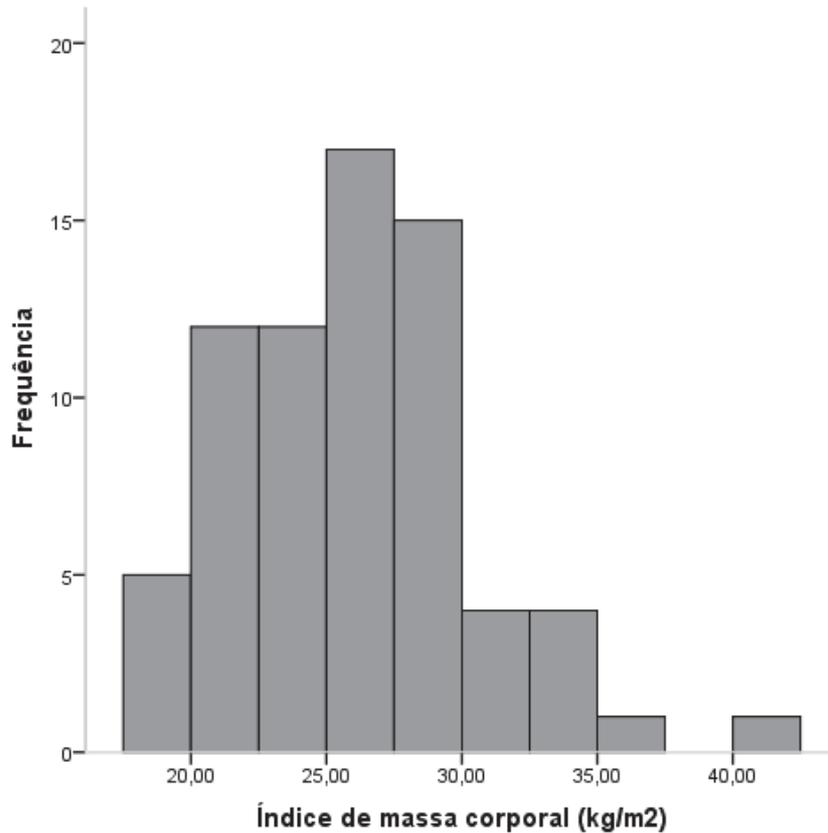
O grupo incluído apresentava mediana de 33,7 anos (mínima de 21,3 anos e máxima de 59,2 anos) e média de 37,3 anos (DP: 10,5 anos) (Figura 2).

**Figura 2** Idade dos voluntários no dia da vacinação.



O peso dos voluntários aferido no dia da consulta de triagem tinha mediana de 72kg (mínimo de 49kg; máximo de 124,5kg), e média igual a 73,8kg (DP: 15,5kg). O IMC (peso/altura<sup>2</sup>) tinha mediana de 26,3 (mínimo de 18,2; máximo de 40,8) e média igual a 26,2 (DP: 4,6) (Figura 3). Considerando-se IMC por faixas, encontramos 29 voluntários (40,8%) com IMC até 24,9kg/m<sup>2</sup> (baixo peso e normal), 32 voluntários (45,1%) com IMC entre 25,0 e 29,9kg/m<sup>2</sup> (sobrepeso) e 10 voluntários (14,1%) com IMC igual ou maior do que 30,0kg/m<sup>2</sup> (obesidade).

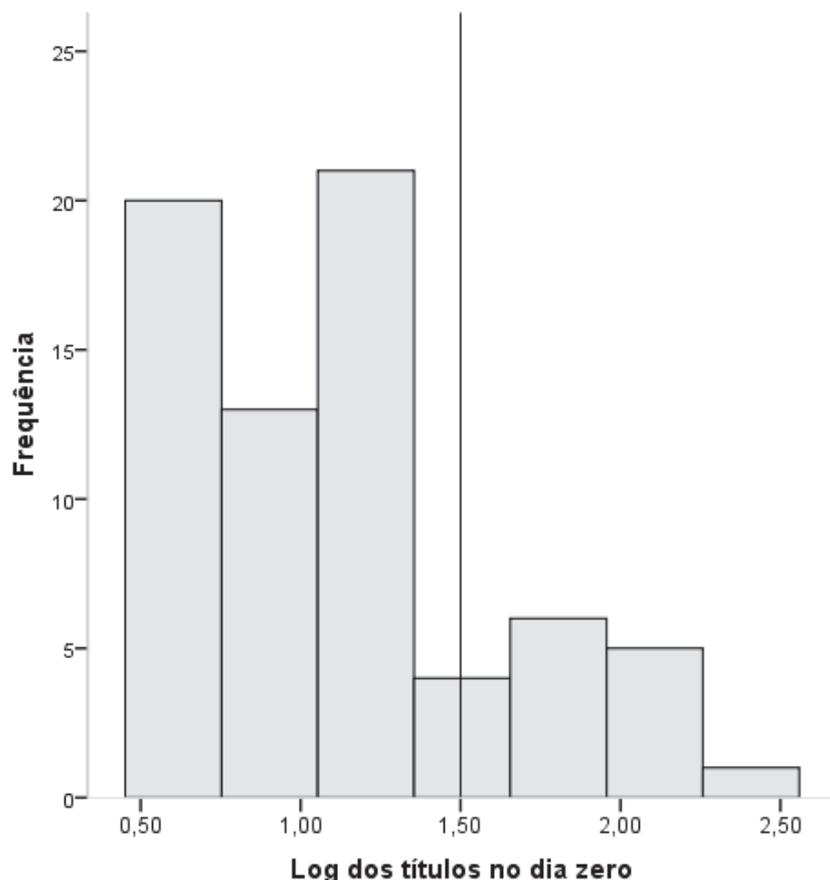
**Figura 3** Frequência do índice de massa corporal (IMC: kg/m<sup>2</sup>) dos voluntários no dia da vacinação.



Em relação à variável tabagismo, encontramos 52 voluntários (73,2%) que nunca fumaram, 10 voluntários (14,1%) eram ex-fumantes e 9 voluntários (12,7%) eram fumantes.

Como resultado da sorologia prévia à vacinação, evidenciou-se que 16 dos voluntários (22,9%), IC95% (12,9-32,9) já apresentavam níveis de anticorpos contra A(H1N1)pdm09 iguais ou maiores que 1:32 (soroproteção), e 54 (77,1%), IC 95% (67,1-87,1) não tinham a mesma proteção (Figura 4 e Tabela 1). A proporção era um pouco maior em indivíduos até 40 anos de idade, porém sem significância estatística ( $p = 0,671$ ). Os homens apresentaram proporção de soropositividade um pouco menor também sem significância estatística (Tabela 2;  $p = 0,309$ ). Um voluntário desistiu de participar antes da coleta de sangue para sorologia prévia à vacinação.

**Figura 4** Logaritmo (base 10 – log 10) dos títulos (recíproca da diluição) de anticorpos contra A(H1N1)pdm09, nos voluntários antes da vacinação – método de inibição da hemaglutinação.



Nota: a linha vertical no eixo das abscissas indica o valor limite de soroproteção (recíproca da diluição 1:32).

**Tabela 1** Soroproteção anterior à vacinação, segundo idade.

Soroproteção no dia zero	Idade (anos)		Total
	Menor que 41	41 ou mais	
Não			
n	34	20	54
%	75,6	80,0	77,1
Sim			
n	11	5	16
%	24,4	20,0	22,9
Total			
n	45	25	70
%	100,0	100,0	100,0

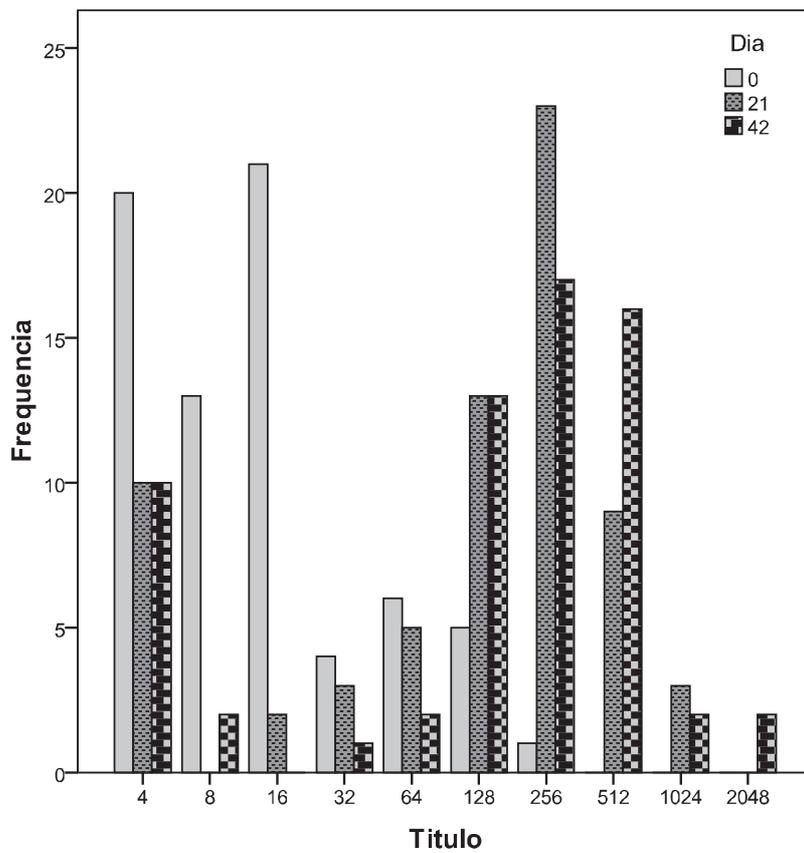
**Tabela 2** Soroproteção anterior à vacinação, segundo sexo.

Soroproteção no dia zero	Sexo		Total
	Masculino	Feminino	
Não			
n	21	33	54
%	84,0	73,3	77,1
Sim			
n	4	12	16
%	16,0	26,7	22,9
Total			
n	25	45	70
%	100,0	100,0	100,0

A primeira coleta pós-vacinal (21 dias) foi feita com algumas variações cronológicas: 44,9% ocorreram na data prevista, 27,5% entre 22 e 23 dias após a vacina e as demais distribuídas até o máximo de 36 dias (1 coleta).

As amostras de sangue coletadas na consulta de 21º dia pós-vacinal foram obtidas para 67 voluntários, e mostraram soroconversão de 74,6% dos voluntários, IC 95% (63,4-85,4). Coerentemente, a distribuição dos títulos mostra um deslocamento para a zona de soroproteção do dia zero para o dia 21, mantido no dia 42 (Figura 5). A proporção de soroconversão foi maior nas mulheres e nos mais velhos, sem significância estatística (Tabela 3). As diferenças segundo categorias de IMC e tabagismo eram de pequena magnitude e sem significância estatística.

**Figura 5** Títulos pré-vacinais, 21 dias pós-vacinais e 42 pós-vacinais.



**Tabela 3** Soroconversão após 21 dias, segundo covariáveis selecionadas.

Variáveis	Soroconversão		Valor de p
	Sim	Não	
	n (%)	n (%)	
Sexo			
Feminino	34 (81,0)	8 (19,0)	0,123
Masculino	16 (64,0)	9 (36,0)	
Total	50 (74,6)	17 (25,4)	
Idade (anos)			
Até 41	29 (69,0)	13 (31,0)	0,174
41 ou mais	21 (84,0)	4 (16,0)	
Total	50 (74,6)	17 (25,4)	
IMC (kg/m <sup>2</sup> )			
Até 24,94	21 (75,0)	7 (25,0)	0,892
24,95 a 29,94	21 (72,4)	8 (27,6)	
> 29,95	8 (80,0)	2 (20,0)	
Total	50 (74,6)	17 (25,4)	
Tabagismo			
Nunca fumaram	35 (72,9)	13 (27,0)	0,872
Ex-fumantes	8 (80,0)	2 (20,0)	
Fumantes	7 (77,7)	2 (22,2)	
<b>Total</b>	<b>50 (74,6)</b>	<b>17 (25,4)</b>	

IMC: índice de massa corporal.

Considerando soroconversão como variável resposta, aplicou-se um modelo de regressão logística onde entraram como variáveis explanatórias sexo e idade categorizada. As outras variáveis, tabagismo e IMC, não entraram no modelo, pois apresentaram  $p > 0,20$  (Tabela 4). No modelo observa-se que mesmo não sendo significantes estatisticamente as OR encontradas apresentam grande magnitude.

**Tabela 4** Variáveis relevantes do modelo logístico multivariado para soroconversão no dia 21 pós-vacinal.

Variáveis	OR	IC95%	OR ajustado	IC95%
Sexo (masc)	2,39	0,73-7,35	2,29	0,74-7,14
Idade (< 41anos)	2,35	0,67-8,24	2,24	0,63-7,99

IC95%: intervalo de 95% de confiança; OR: *odds ratio*.

No dia zero, encontramos 50 voluntários, 71,4% com títulos maiores ou iguais a 1:8, isto é, soropositividade prévia. Destes 50 voluntários, 16 (22,8%) estavam soroprotetidos.

Ao cruzarmos os dados de soroproteção no dia zero com soroproteção no dia 21, observa-se que dos 51 voluntários que não estavam soroprotégidos no dia zero, 40 (78,4%) passaram a estar soroprotégidos no dia 21.

Dez dos 18 voluntários soronegativos (título < 1:8) antes da vacinação permaneceram sem anticorpos detectáveis pelo teste de hemaglutinação. Dos 33 voluntários com anticorpos detectáveis com títulos de abaixo do nível de soroproteção (1:32 > Título ≥ 1:8), somente 2 não apresentaram variação dos títulos de 4 vezes ou mais (soroconversão) embora um deles tenha alcançado níveis de soroproteção (Quadro 4).

**Quadro 4** Comparação entre títulos pré e pós-vacinais.

Dia zero	Dia 21									Total
	4	8	16	32	64	128	256	512	1.024	
4	10	0	0	2	0	2	3	1	0	18
8	0	0	0	0	2	4	6	1	0	13
16	0	0	1	1	2	5	8	3	0	20
32	0	0	0	0	0	0	1	2	1	4
64	0	0	1	0	0	0	3	1	1	6
128	0	0	0	0	1	1	1	1	1	5
256	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1
<b>Total</b>	10	0	2	3	5	13	22	9	3	67

Na primeira sorologia pós-vacinal, a média geométrica dos títulos (MGT) aumentou 7,7 vezes comparada à MGT pré-vacinal.

O aumento na MGT observado na primeira amostra de sangue após a vacina (dia 21) foi substancial, um pouco maior na segunda coleta (dia 42) e um pouco menor após 6 meses (Tabela 5). No dia 42 a MGT nos voluntários mais velhos foi muito superior à dos mais jovens, embora os intervalos de confiança indiquem que a diferença não foi estatisticamente significativa.

**Tabela 5** Títulos médios geométricos estratificados por faixa etária e razão pós e pré-vacinal

Tempo/Faixa etária	Títulos médios geométricos (IC95%)	Razão das médias geométricas (IC95%)
Dia zero (n = 70)		
< 41 anos	13,5 (9,8-19,6)	
≥ 41 anos	13,1 (9,3-19,5)	
Total	13,4 (10,6-17,5)	
Dia 21 (n = 68)		
< 41 anos	103,8 (62,0-166,0)	7,1 (4,4-11,5)
≥ 41 anos	114,5 (57,6-198,0)	8,7 (5,1-14,1)
Total	107,6 (73,0-155,3)	7,6 (5,4-10,9)
Dia 42 (n = 65)		
< 41 anos	105,7 (58,6-184,8)	7,3 (4,2-12,8)
≥ 41 anos	178,5 (92,0-330,9)	13,5 (6,5-26,7)
Total	129,3 (80,1-200,3)	9,3 (6,1-14,3)
6 meses (n = 61)		
< 41 anos	94,8 (61,0-143,7)	6,3 (3,5-10,9)
≥ 41 anos	85,4 (62,0-122,5)	6,9 (4,2-11,5)
Total	91,0 (68,1-122,0)	6,9 (4,4-9,7)

Na análise dos preditores do título (log 10) de anticorpos após 21 dias de vacinação, a idade, o IMC e o tabagismo não se mostraram covariáveis relevantes. No modelo multivariado (regressão linear) o nível de anticorpos pré-vacinais foi a variável explanatória mais importante, ajustada para sexo (Tabela 6).

A intensidade da resposta imune à vacinação foi explicada em parte pelo nível de anticorpos prévios. No conjunto das covariáveis só duas mostraram efeitos tanto na soroproteção quanto no nível de anticorpos pós-vacinais: nível dos anticorpos pré-vacinais e sexo (Tabela 6).

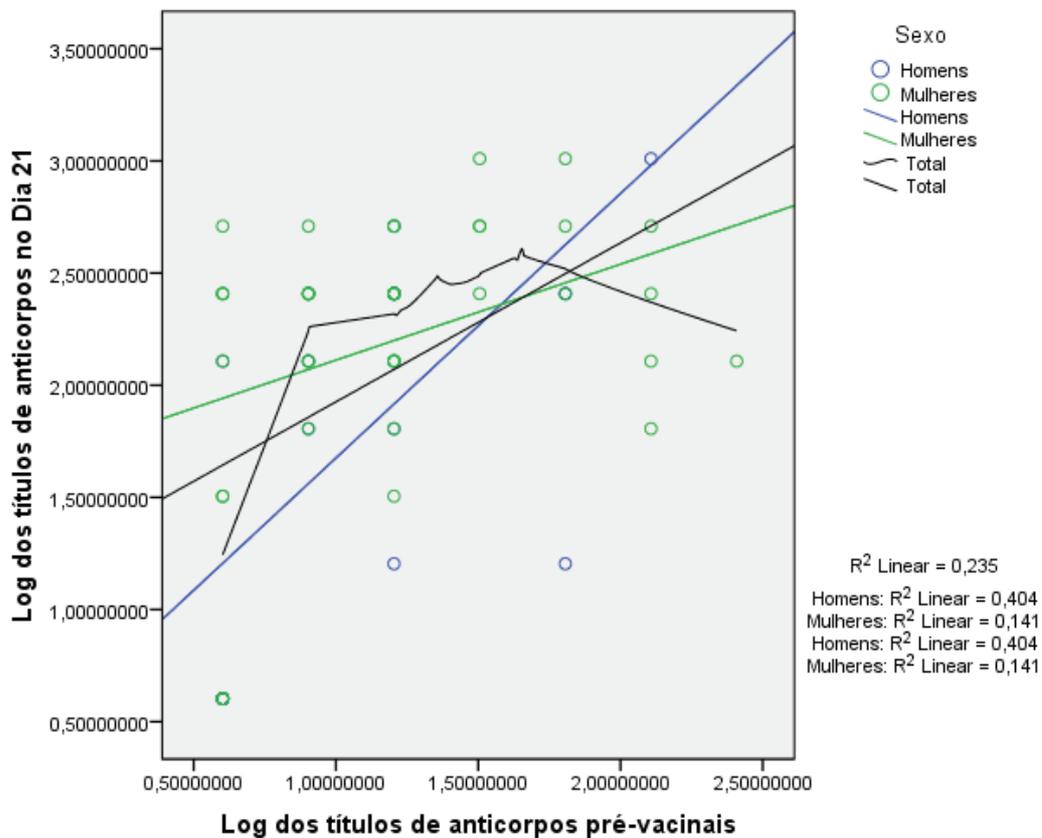
**Tabela 6** Variáveis relevantes do modelo linear multivariado para log 10 dos títulos do dia 21 pós-vacinal.

	β bruto	β ajustado	Valor de p
Intercepto	1,045		0,0
Log títulos pré-vacinais	0,661	0,453	0,0
Sexo (masculino-feminino)	0,361	0,249	0,022

Nota: com estas variáveis, obtemos a equação:  $\log \text{ título no dia 21} = 1,045 + 0,453 \log \text{ do título pré-vacinal} + 0,249 \text{ sexo}$ .

Observando a Figura 6, verifica-se que a correlação dos títulos pré e pós-vacinais não parece bem representado por uma linha reta. A discreta tendência de aumento no título pós-vacinal é mais nítida até o nível de soroproteção (1,5) quando os níveis pós-vacinais se estabilizam.

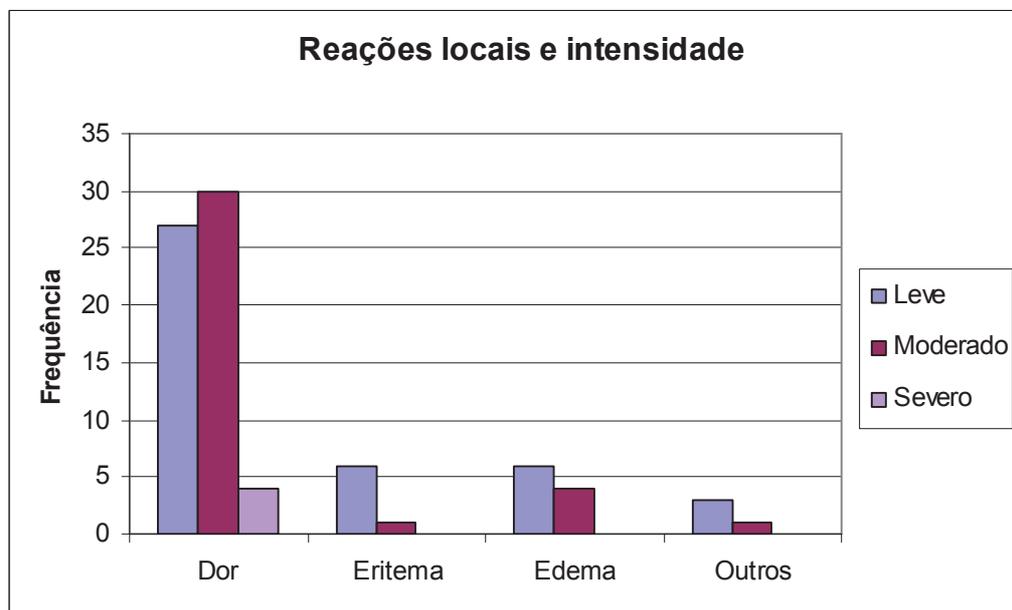
**Figura 6** Correlação entre o log dos títulos de anticorpos no dia 21 e o log dos títulos pré-vacinais estratificados por sexo.



## 5.2. Reatogenicidade

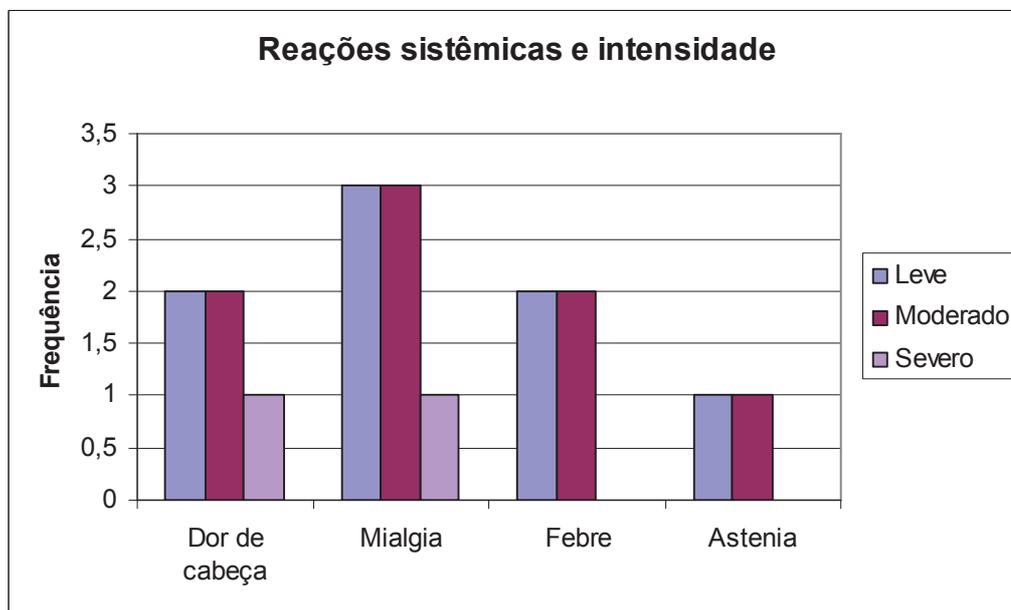
Os eventos adversos referidos pelos voluntários, no local de injeção da vacina foram: dor (n = 61), eritema (n = 7), edema (n = 10) e outras reações locais (lesão vesicular e endurecimento local; n = 4). Estes eventos adversos eram de intensidade leve ou moderada, na grande maioria dos casos (Figura 7).

**Figura 7** Frequência de eventos adversos no local da injeção da vacina, segundo tipo e intensidade.



Os eventos adversos sistêmicos relatados foram: dor de cabeça (n = 5), mialgia (n = 7), febre (n = 4), astenia (n = 1), calafrios (n = 1), náusea (n = 3), tosse (n = 2), espirros (n = 2) e vertigem (n = 1). Apenas 2 episódios (1 cefaleia e 1 mialgia) foram considerados de maior gravidade (Figura 8).

**Figura 8** Frequência de sinais e sintomas após a injeção da vacina, segundo tipo e intensidade.



Eventos adversos relacionados à síndrome gripal ocorreram até 24 semanas depois da vacinação. Foram relatados 12 episódios, sendo 2 de grau 1 e 10 de grau 2.

## **6. Discussão**

De modo geral, estudos de pós-comercialização geram informação relevante para complementar os estudos clínicos que embasam o licenciamento de fármacos e imunobiológicos. No caso da vacina contra A(H1N1)pdm09, o processo acelerado de testes de campo e licenciamento, imposto pela conjuntura epidemiológica, propiciava uma avaliação da imunogenicidade e segurança em uma população e em contextos diferentes daqueles em que a vacina havia sido testada.

### **6.1. Sorologia prévia**

Na coleta realizada antes da vacina para verificação de imunidade prévia encontrou-se 22,9% dos voluntários soroprotégidos, sem grande diferença entre as faixas etárias. Estes resultados são compatíveis com os dados sobre a circulação do vírus e com estudos anteriores apresentados abaixo. As amostras para este estudo foram depois da primeira onda, e são provenientes de profissionais da saúde que poderiam ter tido contato com o vírus, tanto no seu ambiente de trabalho quanto no seu dia a dia. Além disso, estes profissionais têm acesso à vacinação anual contra a influenza sazonal.

A imunidade preexistente para o vírus A(H1N1)pdm09 ainda é um assunto pouco conhecido. Alguns estudos iniciais sugerem que no caso de crianças com menos de 10 anos de idade pode ser baixa ou inexistente, mas para adultos com mais de 60 anos pode haver presença de anticorpos reativos o que pode estar associado a uma prévia infecção por influenza ou uma recente vacinação contra influenza sazonal <sup>27</sup>.

Greenberg et al. <sup>28</sup> em um estudo na Austrália com adultos saudáveis, com faixas etárias de 18 a 49 anos e 50 a 64 anos, usando o ensaio de inibição de hemaglutinação encontraram 26,8% de indivíduos com imunidade prévia, sendo que em maior número na faixa etária menor.

Zhou et al. <sup>29</sup>, num estudo para determinar a soroprevalência de anticorpos contra a influenza A(H1N1)pdm09 em Hong Kong, China, em profissionais da saúde, encontraram 12% com título  $\geq 1:40$  (neutralização). Eles compararam este resultado com amostras de doadores da comunidade. Este estudo foi realizado depois da primeira onda da influenza pandêmica no local e os pesquisadores não tinham amostras pré-pandemia dos profissionais da saúde para comparar. As amostras da comunidade no mesmo período apresentaram resultados próximos aos dos profissionais de saúde.

Ikematsu et al.<sup>30</sup>, avaliando uma vacina com a mesma composição que a deste estudo em uma população de faixa etária semelhante, no Japão, encontraram, antes da vacinação, 44% de soropositividade e 6% de soroproteção. Os autores propuseram duas explicações alternativas: exposição a cepas de H1N1 com epítomos similares que tenham circulado antes de 2009 ou infecções assintomáticas com o vírus pandêmico à época do estudo.

## **6.2. Soroconversão**

A soroconversão de 74,6% observada no estudo está dentro da faixa esperada para promover a imunogenicidade de acordo com os órgãos regulatórios ( $\geq 70\%$ ). Entretanto, Yin et al.<sup>18</sup>, numa revisão sistemática encontraram 93,8% (IC95%: 79,1-98,4) de soroconversão após uma dose de vacina com adjuvantes MF59 ou AS03 em adultos de 18 a 60 anos. Eles apontam como uma das limitações do seu trabalho a possível variabilidade inter-laboratórios na medida dos anticorpos.

O título médio geométrico do dia 21 pós-vacinal foi de 107,6 (IC95%: 73,0-155,3) com razão de média geométrica de 7,6 (IC95%: 5,4-10,9). Foram encontrados valores maiores 230,3 (IC95%: 177,7-298,4) e razão de 26,3 (IC95%: 20,6-33,5) com uso da mesma vacina<sup>28</sup>.

Segundo dados do estudo original, ainda não publicados, nos grupos de voluntários HIV positivos após a segunda dose da vacina a soroconversão encontrada foi de 77.2% e 83.8% usando dose simples e dupla respectivamente.

Idealmente, a frequência de gripe A(H1N1)pdm09 confirmada informaria sobre eficácia da vacina, mas a circulação viral diminuiu em 2010, comparada a de 2009 e a capacidade protetora da vacina não foi totalmente posta à prova. A avaliação de eficácia/efetividade foi limitada. A vigilância epidemiológica no Brasil detectou a circulação de influenza A H3N2 e B, mas não do vírus A(H1N1)pdm09 concomitantemente em 2010<sup>31</sup>. A redução da circulação do A(H1N1)pdm09 nos leva a crer que o aumento da imunidade está restrito à ação imunogênica induzida pela vacina.

Nosso estudo usou inibição da hemaglutinação, com hemáceas de cobaio, considerado o método convencional para avaliar a soroconversão. Não foram realizados testes de microneutralização para comparar e/ou validar os resultados.

O método de inibição da hemaglutinação apresenta uma longa história de uso na pesquisa e na vigilância da influenza, usa equipamentos simples, não requer muito tempo e pode ser validado. Em contrapartida, a sensibilidade do vírus aos inibidores não específicos varia muito, a interpretação do *end point* (formação de um botão ou halo nos poços

correspondentes à hemaglutinação) pode variar de observador para observador, e em alguns casos pode haver variação inter-laboratorial na resposta ao mesmo soro <sup>2</sup>. A confiança nos resultados depende da pesquisa contínua para melhorar as técnicas dos ensaios, da implementação de medidas de qualidade como validações de métodos e desenvolvimento de novos padrões <sup>2</sup>.

Como observado no Quadro 4, três voluntários no nosso estudo apresentaram títulos pós-vacinais inferiores aos títulos pré-vacinais, sugerindo que além de não terem se beneficiado da vacinação (um deles tinha título de 1:128 antes da vacinação), podem ter apresentado flutuações dos títulos ou falha do teste sorológico (em um deles o título pós-vacinal foi 4 vezes menor). Estas flutuações e/ou falhas metodológicas também poderiam, teoricamente, explicar uma parte do aumento dos títulos, ou seja, a soroconversão estaria inflada por uma pequena margem de erro.

O método de inibição da hemaglutinação tem sido usado como padrão no licenciamento das vacinas. A correlação entre um título de inibição da hemaglutinação de pelo menos 1:40 e soroproteção é baseada na observação de que um título de 1:42 para A(H1N1)pdm09 promove 50% de proteção contra infecção <sup>32</sup>. Anteriormente, Hobson et al. <sup>33</sup> haviam determinado que uma inibição da hemaglutinação com título maior que 1:96 era necessário para completa proteção contra influenza A e B.

Coudeville et al. <sup>34</sup>, usando um modelo de inferência bayesiano, observaram uma relação positiva entre os títulos de inibição de hemaglutinação e a proteção clínica conferida pela vacina. Mesmo considerando as limitações existentes na obtenção dos dados usados nos modelos, eles puderam demonstrar que existe a possibilidade de prever a eficácia de vacinas de influenza inativadas quando somente os dados de imunogenicidade estão disponíveis.

Outro método utilizado em estudos epidemiológicos, bem como na avaliação da imunogenicidade das vacinas de influenza é a microneutralização um ensaio altamente sensível e específico para a detecção de anticorpos neutralizantes para o vírus da influenza. Este teste pode responder de forma precisa se o indivíduo possui ou não anticorpos capazes de neutralizar a ação de uma determinada cepa viral <sup>2</sup>.

A microneutralização dá a medida dos parâmetros funcionais imunológicos e detecta outros componentes antigênicos relevantes na proteção da imunidade que podem não estar ligados diretamente aos receptores. Este também é um método com potenciais limitações como a dificuldade em comparar resultados entre diferentes laboratórios <sup>2</sup>.

O ensaio de microneutralização quando realizado de forma convencional é trabalhoso e demorado, mas utilizando placas de microtítulo combinado com ELISA, o resultado é dado

em dois dias. Inicialmente o vírus é misturado com diluições de soro e incubado, depois a mistura é inoculada no sistema hospedeiro apropriado e incubada novamente. No dia seguinte é realizado o ELISA para detectar células infectadas. A ausência de infectividade corresponde a uma reação de neutralização positiva e indica a presença de anticorpos específicos na amostra analisada <sup>2</sup>.

A microneutralização é um método mais sensível, mas não está sendo correlacionado com proteção da mesma forma como a inibição da hemaglutinação <sup>35</sup>.

Os pesquisadores se dividem na escolha sobre a utilização dos métodos para definir a soroconversão. Yin et al. <sup>18</sup>, numa revisão sistemática e meta-análise sobre a imunogenicidade e segurança das vacinas contra A(H1N1)pdm09, só incluíram estudos que usaram o teste da inibição da hemaglutinação justificando como sendo este o método usado no licenciamento das vacinas e o que está associado à proteção clínica da vacina.

Zhou et al. <sup>29</sup>, num estudo realizado em Hong Kong, usaram o ensaio de microneutralização como padrão por considerar este mais sensível do que o de inibição da hemaglutinação.

Vequila et al. <sup>36</sup>, ao determinarem a sensibilidade e especificidade dos ensaios sorológicos para detecção de infecção humana pelo A(H1N1)pdm09, concluíram que a inibição de hemaglutinação é mais específica para detectar anticorpos contra A(H1N1)pdm09 e o método da microneutralização é mais sensível principalmente para detectar títulos baixos de soroconversão.

Grund et al. <sup>37</sup> testaram 43 pares de soros obtidos em 2009, antes e 21 dias após vacinação com Pandemrix (GSK, Londres, Inglaterra), usando o método de inibição da hemaglutinação, o teste de microneutralização (Elisa-MNT) e o método colorimétrico de microneutralização. O objetivo era comparar os títulos médios geométricos e o aumento dos títulos depois da vacinação. Concluiu-se que os três métodos apresentaram taxas similares de soroconversão para os pares de amostras analisadas. O teste de microneutralização pareceu ser o melhor para comparar os títulos geométricos pré e pós-vacinais, pois o estudo demonstrou que títulos pós-vacinais, aumento nos títulos e amplitude dos títulos foi maior neste do que nos outros métodos. O método colorimétrico de microneutralização, por ser menos trabalhoso, foi considerado mais uma ferramenta para ser usado nas amostras de ensaios clínicos. Comparando os três métodos em relação ao custo, o método de inibição da hemaglutinação seria o de menor custo, o que é mais um motivo de escolha para ser usado em estudos de coorte onde temos muitas amostras.

Papenburg et al.<sup>38</sup> avaliaram os métodos de microneutralização e inibição de hemaglutinação comparando os resultados obtidos com resultados confirmados por PCR (RT-PCR). Nesta comparação, microneutralização apresenta maior nível de concordância com RT-PCR do que a inibição da hemaglutinação ( $\kappa = 0,69$  versus  $\kappa = 0,60$ ) e maior sensibilidade (83% versus 71%;  $p = 0,016$ ). O ensaio de inibição de hemaglutinação usou hemácea de peru e o autor afirmou que o uso de outro tipo de hemácea pode não garantir a mesma performance do teste.

A sensibilidade do teste da inibição da hemaglutinação pode ser baixa, no caso de soropositividade ser definida como título  $\geq 1:40$ , comparando com RT-PCR. Papenburg et al.<sup>38</sup> encontraram 60,3% (IC95%: 46,6-72,7). Esta condição produz um número maior de falsos negativos em relação à soroconversão, pois poderemos ter indivíduos que soroconverteram classificados como negativos.

Hobson et al.<sup>33</sup> mostraram a correlação entre os títulos obtidos no HAI e a proteção conferida contra a infecção. No caso de A(H1N1)pdm09 considera-se 1:32 como o possível correlato sorológico de proteção. Ainda não foi estabelecido correlato de proteção para os títulos de microneutralização.

A proporção de indivíduos considerados protegidos vai depender do correlato de proteção que ainda não está totalmente definido para esta nova cepa de influenza, mas pode ser relacionado à presença de anticorpos funcionais<sup>26</sup>.

Os dois métodos sorológicos medem os anticorpos neutralizantes, havendo uma correlação positiva entre eles. O método da microneutralização detecta uma gama maior de anticorpos neutralizantes, sendo assim apresenta títulos maiores e conseqüentemente considera mais indivíduos protegidos. O método da inibição da hemaglutinação nos dá estimativas mais conservadoras sobre a soroproteção<sup>26</sup>.

A maior parte dos trabalhos publicados que apresentam resultados de soroconversão para vacinas contra A(H1N1)pdm09, mostra valores maiores do que os que foram encontrados neste estudo.

É difícil fazer uma comparação entre estes estudos, pois existem vários tipos de vacina, com e sem adjuvante, adjuvantes diferentes, concentrações diferentes, populações com sorologia prévia diferente (estudos realizados antes, durante e após a onda da pandemia). Os métodos laboratoriais para detectar soroconversão variaram entre microneutralização e inibição de hemaglutinação (este também com adaptações locais e uso de hemáceas diferentes: peru, frango, cobaio).

Estas questões limitam a comparabilidade dos resultados e a avaliação de que os resultados deste estudo não são coerentes com a potencial eficácia da vacina aplicada.

Yin et al.<sup>18</sup> num trabalho de revisão sistemática e metanálise sobre o resultado das vacinas pandêmicas aplicadas em população saudável mostrou que estas com ou sem adjuvantes geralmente são capazes de induzir a soroproteção com uma dose e são seguras entre pessoas saudáveis com idade maior do que 36 meses. Crianças com idade entre 6 e 36 meses necessitam duas doses de vacinas sem adjuvante ou uma dose de vacina com adjuvante AS03A/B para garantir a soroproteção.

Embora nossos resultados sejam provenientes de um estudo clínico, podemos avaliá-los como os de uma coorte de fase IV, um estudo de farmacovigilância de uma nova vacina.

Neste caso, para tentar verificar possíveis causas para o resultado obtido se poderia: (1) reanalisar as amostras de sangue por outro método e comparar as diferenças entre os títulos médios geométricos encontrados; (2) rastrear os lotes de vacina utilizados no estudo junto ao PNI e verificar a existência de notificações de eventos adversos ou queixas técnicas sobre os mesmos e; (3) fazer um novo estudo de acompanhamento, incluindo mais voluntários e ampliando a faixa etária.

Outros fatores que poderiam limitar o desempenho da vacina, como falhas no manejo e conservação das vacinas, são improváveis, considerando a estrutura de rede de frio existente e a capacitação dos recursos humanos para vacinação.

### **6.3. Reatogenicidade**

Entre dezembro de 2009 e agosto de 2010 as agências regulatórias europeias disponibilizaram dados de segurança atualizados obtidos sobre as vacinas contra A(H1N1)pdm09 com adjuvantes e sem adjuvantes. A análise destes dados nos permite concluir que o risco-benefício de sua utilização é positivo, pois a maior parte dos eventos adversos pós-vacinação relatados foram de leves a moderados<sup>18</sup>.

Os eventos adversos relatados bem como sua intensidade estão comparáveis aos descritos por Yin et al.<sup>18</sup>, isto é, intensidade de episódios locais e sistêmicos variando de leve a moderada apesar de alguns deles aparecerem em altas proporções como dor (88,9%) e febre e dor de cabeça serem os mais comuns em todos os estudos.

Uma fração indeterminada destes eventos sistêmicos mais comuns (como febre e dor de cabeça) não é explicada pela ação da vacina, isto é, podem ser induzidos por outros fatores com as mais variadas causas.

A maior parte dos eventos adversos esperados para esta vacina como dor de cabeça, mialgia, febre, astenia, calafrios, náusea, tosse, espirros e vertigem são sinais e sintomas inespecíficos que podem ser explicados por comorbidade.

Assim como na maior parte dos estudos clínicos, o perfil de reatogenicidade é afetado pelos critérios de exclusão que deixam de fora voluntários supostamente com maior propensão para eventos adversos. Na rotina dos serviços de saúde em que a aplicação da vacina é feita em larga escala, em condições não tão controladas como em ambiente de pesquisa e com menos restrições, a frequência e tipo de eventos adversos podem ser um pouco diferentes.

## 7. Considerações finais

Este estudo mostrou que a vacina aplicada induziu 74,6% de soroconversão nos participantes do grupo controle. Comparando esta taxa de soroconversão com a de outros estudos já publicados, podemos pensar que ela está bem menor do que o esperado. Entretanto, para o registro da vacina, as autoridades regulatórias exigem um mínimo de 70% de soroconversão, o que foi obtido considerando os resultados apresentados.

Precisamos levar em conta algumas das limitações deste estudo como o número de participantes (efetivamente 67) o que provavelmente deveu-se a premência do tempo extremamente curto para organizar todo o trabalho da pesquisa. Foi usado o tempo de uma campanha de vacinação definido pelo Ministério da Saúde e subordinado à sazonalidade da pandemia. O estudo usou o calendário proposto pelo Ministério da Saúde para vacinar profissionais da saúde (8 a 12 e de 15 a 19 de março de 2010), o que para uma pesquisa clínica com critérios de inclusão e exclusão que dependem de resultados de exames médicos e laboratoriais pré-vacinais, fica muito difícil de cumprir. Desta forma, os primeiros voluntários entraram no estudo no dia 11 de março e o último no dia 7 de junho, tempo muito curto para captação de voluntários.

A validade externa também pode ser limitada. A população do estudo foi composta por pessoas que trabalham na mesma instituição pública no Rio de Janeiro e cumpriu critérios rigorosos de inclusão e exclusão, apesar de termos variações na idade, sexo, IMC e outras características que permitem que esta população possa responder à vacina.

A pesquisa foi desenvolvida em um só centro e com população reduzida, seriam necessários resultados obtidos em outros centros com populações diversas: crianças e adolescentes e idosos, por exemplo, para complementarmos este trabalho.

Seria também muito interessante e complementar nossos resultados se houvesse sido constituído mais um grupo de estudo no qual tivesse sido aplicada a vacina sem adjuvante o que nos possibilitaria a comparação dos resultados de imunogenicidade e reatogenicidade entre as vacinas usadas na campanha nacional.

Ainda não temos resultados sobre a eficácia clínica da vacina nem dados suficientes sobre a doença para avaliar o resultado desta campanha de vacinação no Brasil, mesmo porque, a circulação viral esteve reduzida nesta época no país. A efetividade da vacina poderia ser inferior aos níveis de soroconversão, dependendo do *antigenic match*.

A campanha de vacinação foi desencadeada como resposta à pandemia e aplicou vacinas que foram rapidamente desenvolvidas para tentar minimizar os danos. Avaliando os

resultados em termos da saúde pública, a vacina produziu resultados importantes. No nosso estudo encontramos 22,9% dos voluntários soroprotégidos antes da aplicação da vacina. Dentre os que não estavam soroprotégidos houve 74,6% de soroconversão. E, também importantíssimo considerando-se a saúde pública, 6 meses após a vacinação os títulos médios geométricos mantinham-se num patamar elevado comparados aos títulos médios geométricos de 21 dias pós vacinais.

Os resultados da campanha vacinal foram tão significativos que o vírus A/California/07/2009 (H1N1pdm09) foi incluído na composição da vacina sazonal contra influenza a ser aplicada em 2011 e 2012.

Outra questão importante a ser discutida é a necessidade de métodos laboratoriais de maior acurácia para permitir avaliações precisas do desempenho que não dependam da detecção de casos confirmados.

Os dois métodos mais utilizados para determinar respostas significativas sobre os títulos de anticorpos induzidos pela vacina, a inibição da hemaglutinação e a microneutralização são comparados a todo momento. A microneutralização consegue captar um número maior de anticorpos o que faz com que seus resultados sejam melhores em termos de soroconversão.

O método da inibição da hemaglutinação, como vimos no Quadro 4, pode apresentar resultados menos precisos por suas próprias características laboratoriais.

De qualquer forma, seria interessante que todas as amostras de sangue dos voluntários fossem analisadas pelos dois métodos e tentasse se estabelecer uma correlação entre os resultados. Enquanto persistirem questionamentos sobre os resultados obtidos por um ou por outro método, a avaliação da imunogenicidade da vacina pode ficar comprometida.

Há ainda a necessidade de se estabelecer correlatos sorológicos de proteção para as novas cepas que estão surgindo a partir das mutações virais para uso em futuras avaliações.

## 8. Referências

1. Novel Swine-Origin Influenza A (H1N1) Virus Investigation Team; Dawood FS, Jain S, Finelli L, Shaw MW, Lindstrom S, et al. Emergence of a novel swine-origin influenza A(H1N1) virus in humans. *N Engl J Med* 2009; 360:2605-15.
2. World Health Organization. Manual for laboratory diagnosis and virological surveillance of influenza. Geneva: World Health Organization; 2011.
3. Roman F, Vaman T, Gerlach B, Markendorf A, Gillard P, Devaster JM. Immunogenicity and safety in adults of one dose of influenza A H1N1v 2009 vaccine formulated with and without AS03A-adjuvant: preliminary report of an observer-blind, randomised trial. *Vaccine* 2010; 28:1740-5.
4. Delaney JW, Fowler RA. 2009 influenza A (H1N1): a clinical review. *Hosp Pract (Minneapolis)* 2010; 38:74-81.
5. Narain JP, Kumar R, Bhatia R. Pandemic (H1N1) 2009: epidemiological, clinical and prevention aspects. *Natl Med J India* 2009; 22:242-7.
6. Programa Nacional de Vacinação, Departamento de Vigilância Epidemiológica, Secretaria de Vigilância em Saúde, Ministério da Saúde. Estratégia nacional de vacinação contra o vírus influenza pandêmico (H1N1) 2009. 8 de março a 21 de maio. Informe técnico operacional. [http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/informe\\_tecnico\\_vacina\\_18\\_03.pdf](http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/informe_tecnico_vacina_18_03.pdf) (acessado em 25/Jan/2011).
7. Michaelis M, Doerr HW, Cinatl Jr. J. An influenza A H1N1 virus revival – pandemic H1N1/09 virus. *Infection* 2009; 37:381-9.
8. Gotera J, Valero N. Influenza a (H1N1): temor a una pandemia. *Invest Clín* 2009; 50:279-81.
9. Petrosillo N, Di Bella S, Drapeau CM, Grilli E. The novel influenza A (H1N1) virus pandemic: an update. *Ann Thorac Med* 2009; 4:163-72.
10. World Health Organization. Pandemic (H1N1) 2009 - update 77. [http://www.who.int/csr/don/2009\\_12\\_04/en/](http://www.who.int/csr/don/2009_12_04/en/) (acessado em 26/Jan/2011)
11. Departamento de Vigilância Epidemiológica, Secretaria de Vigilância em Saúde, Ministério da Saúde. Nota Técnica nº 05/2010 DEVEP/SVS/MS. Estratégia de vacinação contra o vírus de influenza A(H1N1) 2009 pandêmico e sazonal. [http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/nota\\_tecnica\\_05\\_2010\\_atual.pdf](http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/nota_tecnica_05_2010_atual.pdf) (acessado em 14/Jul/2010).

12. Secretaria de Vigilância em Saúde, Ministério da Saúde. Informe técnico mensal de influenza. Influenza pandêmica (H1N1) 2009 – monitoramento de síndrome respiratória aguda grave (SRAG) em hospitalizados. [http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/informe\\_influenza\\_5\\_julho\\_2010.pdf](http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/informe_influenza_5_julho_2010.pdf) (acessado em 14/Jul/2010).
13. Centers for Disease Control and Prevention. Serum cross-reactive antibody response to a novel influenza A (H1N1) virus after vaccination with seasonal influenza vaccine. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 2009; 58:521-4.
14. Chan M. World now at the start of 2009 influenza pandemic. [http://www.who.int/mediacentre/news/statements/2009/h1n1\\_pandemic\\_phase6\\_20090611/en/index.html](http://www.who.int/mediacentre/news/statements/2009/h1n1_pandemic_phase6_20090611/en/index.html) (acessado em 20/Jan/2011).
15. Collin N, Briand S. Influenza vaccine: globalization of public health stakes. *Med Trop (Mars)* 2009; 69:322.
16. Collin N, de Radiguès X; World Health Organization H1N1 Vaccine Task Force. Vaccine production capacity for seasonal and pandemic (H1N1) 2009 influenza. *Vaccine* 2009; 27:5184-6.
17. Abelin A, Colegate T, Gardner S, Hehme N, Palache A. Lessons from pandemic influenza A(H1N1): the research-based vaccine industry's perspective. *Vaccine* 2011; 29:1135-8.
18. Yin J, Kevin, Khandaker G, Rashid H, Heron L, Ridha I, et al. Immunogenicity and safety of pandemic influenza A (H1N1) 2009 vaccine: systematic review and meta-analysis. *Influenza Other Respi Viruses* 2011; 5:299-305.
19. Agência Nacional de Vigilância Sanitária, Secretaria de Vigilância em Saúde, Ministério da Saúde. Protocolo de vigilância epidemiológica de eventos adversos pós-vacinação: estratégia de vacinação contra o vírus influenza pandêmico (H1N1). [http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/prot\\_de\\_vig\\_epi\\_e\\_adventos\\_adversos\\_pos\\_vac.pdf](http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/prot_de_vig_epi_e_adventos_adversos_pos_vac.pdf) (acessado em 20/Jan/2011).
20. Leroux-Roels I, Borkowski A, Vanwolleghem T, Dramé M, Clement F, Hons E, et al. Antigen sparing and cross-reactive immunity with an adjuvanted rH5N1 prototype pandemic influenza vaccine: a randomised controlled trial. *Lancet* 2007; 370:580-9.
21. ClinicalTrials.gov. H1N1 vaccin: list results. <http://www.clinicaltrials.gov/ct2/results?term=H1N1+vaccin> (acessado em 17/Jul/2010).
22. Montana M, Verhaeghe P, Ducros C, Terme T, Vanelle P, Rathelot P. Safety review: squalene and thimerosal in vaccines. *Therapie* 2010; 65:533-41.

23. World Health Organization. Influenza updates. [http://www.who.int/csr/don/2010\\_09\\_10/en/index.html](http://www.who.int/csr/don/2010_09_10/en/index.html) (acessado em 24/Jan/2011).
24. World Health Organization. Recommended composition of influenza virus vaccines for use in the 2011 southern hemisphere influenza season. <http://www.who.int/csr/disease/influenza/recommendations2011south/en/index.html> (acessado em 25/Jan/2011).
25. Dormitzer P, Galli G, Castellino F, Golding H, Khurana S, Del Giudice G, et al. Influenza vaccine immunology. *Immunol Rev* 2011; 239:167-77.
26. Miller E, Hoschler K, Hardelid P, Stanford E, Andrews N, Zambon M. Incidence of 2009 pandemic influenza A H1N1 infection in England: a cross-sectional serological study. *Lancet* 2010; 375:100-8.
27. Hancock K, Veguilla V, Lu X, Zhong W, Butler E, Sun H, et al. Cross-reactive antibody responses to the 2009 pandemic H1N1 influenza virus. *N Engl J Med* 2009; 361:1945-52.
28. Greenberg M, Lai M, Hartel G, Wichems C, Gittleson C, Bennet J, et al. Response to a monovalent 2009 influenza a (H1N1) vaccine. *N Engl Med* 2009; 361:2405-13.
29. Zhou Y, Ng DMW, Seto W-H, Ip DKM, Kwok HKH, Ma ESK, et al. Seroprevalence of antibody to pandemic influenza A (H1N1) 2009 among healthcare workers after the first wave in Hong Kong. *J Hosp Infect* 2011; 78:308-11.
30. Ikematsu H, Nagai H, Kawashima M, Kawakami Y, Tenjinbaru K, Maeda L, et al. Immunogenicity and safety of a novel AS03(A)-adjuvanted H1N1 2009 pandemic influenza vaccine in adults in Japan. *Hum Vaccin* 2010; 6:888-893.
31. World Health Organization. FluNet. [http://www.who.int/influenza/gisrs\\_laboratory/flunet/en/](http://www.who.int/influenza/gisrs_laboratory/flunet/en/) (acessado em 18/Nov/2011).
32. Al-Khayatt R, Jennings R, Potter C. Interpretation of response and protective levels of antibody against attenuated influenza A viruses using single radial haemolysis. *J Hyg (Lond)* 1984; 93:301-12.
33. Hobson D, Curry R, Beare A, Ward-Gardner A. The role of serum haemagglutination-inhibiting antibody in protection against challenge infection with influenza A2 and B viruses. *J Hyg (Lond)* 1972; 70:767-77.
34. Coudeville L, Bailleux F, Riche B, Megas F, Andre P, Ecochard R. Relationship between haemagglutination-inhibiting antibody titres and clinical protection against influenza: development and application of a bayesian random-effects model. *BMC Med Res Methodol* 2010; 10:18

35. Kelly H, Barr I. Large trials confirm immunogenicity of H1N1 vaccines. *Lancet* 2010; 375:6-9
36. Vequilla V, Hancock K, Schiffer J, Gargiullo P, Lu x, Aranio D, et al. Sensitivity and specificity of serologic assays for detection of human infection with 2009 pandemic H1N1 virus in U.S. populations. *J Clin Microbiol* 2011; 49:2210-5.
37. Grund S, Adams O, Wählisch, Schweiger B. Comparison of hemagglutination inhibition assay, an ELISA-based micro-neutralization assay and colorimetric microneutralization assay to detect antibody responses to vaccination against influenza A H1N1 2009 virus. *J Virol Methods* 2011; 171:369-73.
38. Papenburg J, Baz M, Hamelin ME, Rhéaume C, Carbonneau J, Ouakki M, et al. Evaluation of serological diagnostic methods for the 2009 pandemic influenza A (H1N1) virus. *Clin Vaccine Immunol* 2011; 18:520-2.

## ANEXO 1

Aprovação do CEP do IPEC

## ANEXO 2

Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE)

## ANEXO 3

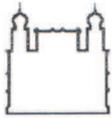
### Fichas Clínicas e Diário do Voluntário

## ANEXO 4

POP LVRS-TVR-008 e POP LVRS-TVR-009 do Laboratório de Vírus Respiratório e do Sarampo – Instituto Oswaldo Cruz – Fundação Oswaldo Cruz – Ministério da Saúde

## ANEXO 5

### Tabela de Gradação de Eventos Adversos



Ministério da Saúde

FIOCRUZ  
Fundação Oswaldo Cruz

Instituto de Pesquisa Clínica Evandro Chagas



## Comitê de Ética em Pesquisa

### PARECER CONSUBSTANCIADO – 010/2010

Protocolo 0009.0.009.000-10

#### 1. Identificação:

**Título do Projeto:** "Estudo de Fase II para avaliar a segurança e a imunogenicidade da vacina anti H1N1 em pacientes infectados pelo HIV", Versão 1.0 de 02 de fevereiro de 2010. Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, Versão 1.0 de 02 de fevereiro de 2010. Material de Divulgação.

**Pesquisadora Responsável:** Beatriz Grinsztejn.

**Instituição Responsável:** Instituto de Pesquisa Clínica Evandro Chagas –IPEC/ FIOCRUZ.

**Data de Apresentação ao CEP:** 11/02/2010.

**Área Temática Especial:** Grupo II – Vacina.

#### 2. Sumário:

Trata-se de um estudo randomizado, aberto, de fase II, para avaliar a segurança e a imunogenicidade de dois diferentes esquemas de vacinação contra a influenza A H1N1 em indivíduos infectados pelo HIV, no qual cada um dos grupos randomizados será comparado com voluntários HIV negativos vacinados com esquema indicado pelo Programa Nacional de Imunização. Cada participante permanecerá no estudo por cerca de 12 meses. Visa a determinar o desenvolvimento, em cada estrato de contagem de células CD4+, de títulos de anticorpos protetores contra o H1N1 após a série vacinal da vacina contra o H1N1 e avaliar a segurança e a tolerabilidade da vacina contra o H1N1 nas diferentes doses e esquemas de administração. A duração total do estudo será de 16 meses, considerando um período de inclusão de 4 meses. Pacientes infectados pelo HIV que preencham os critérios de inclusão para o estudo serão aleatoriamente selecionados para participar do estudo e posteriormente randomizados para receber um de dois possíveis esquemas: Esquema 1 - Aplicações de 3,75  $\mu$  da vacina (uma dose via IM) nos dias 0 e 21 e Esquema 2 - Aplicações de 7,5  $\mu$ g da vacina (uma dose via IM) nos dias 0 e 21. Os voluntários do grupo receberão uma aplicação única de 3,75  $\mu$  da vacina, via IM. O estudo irá selecionar 180 pacientes infectados pelo HIV-1 em cada um dos dois estratos de contagem de células CD4, posteriormente randomizados para receber um dos dois esquemas vacinais do estudo, totalizando 360 pacientes HIV positivos incluídos para análise. Os dois estratos de CD4 serão abertos simultaneamente para inclusão. Estrato A (n=180): contagem de células CD4 > 200 células/mm<sup>3</sup> – 90 voluntários desse estrato receberão o esquema vacinal 1 e outros 90 o esquema vacinal 2. Os participantes serão selecionados aleatoriamente para receber um dos dois esquemas. Estrato B (n= 180): contagem de células CD4  $\leq$  200 células/mm<sup>3</sup> - 90 voluntários desse estrato receberão o esquema vacinal 1 e outros 90 o esquema vacinal 2. Os participantes serão selecionados aleatoriamente para receber um dos dois esquemas. Serão recrutados 90 indivíduos sem infecção pelo HIV, que receberão o esquema vacinal clássico (3,75  $\mu$ g em dose única). Adicionalmente, todos os participantes do estudo receberão vacina contra influenza sazonal, em dose única, 21 dias após a primeira dose (ou a dose única, para o grupo controle) da vacina contra H1N1. Os 10 primeiros voluntários incluídos em cada um dos cinco sub-grupos (dois estratos de CD4, dois diferentes esquemas vacinais e indivíduos HIV negativos)

"Estudo de Fase II para avaliar a segurança e a imunogenicidade da vacina anti H1N1 em pacientes infectados pelo HIV".

colherão para a validação de resposta celular à vacina. O tratamento do estudo é definido como sendo a vacina A/H1N1 S-OIV, produzida pela GSK e será fornecido pela equipe do estudo aos voluntários. A equipe do estudo também fornecerá a vacina contra a influenza sazonal. Os pesquisadores negociaram com o Ministério da Saúde brasileiro o fornecimento de vacinas do mesmo fabricante em quantidade suficiente para todos os voluntários.

**3. Observações Gerais: (Atendendo à Resolução CNS 196/96).**

Projeto com delineamento adequado. O Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, Versão 1.0 de 02 de fevereiro de 2010, foi elaborado em linguagem acessível ao sujeito da pesquisa. Foi apresentado o material de divulgação que será utilizado em forma de cartaz, folder e página da internet.

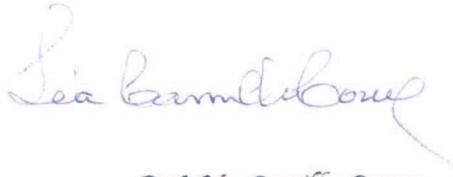
**4. Diligências:**

Não houve.

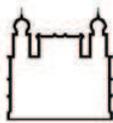
**5. Parecer: APROVADO.**

**Data da Reunião: 08 de março de 2010.**

**Assinatura do Coordenador:**



*Dr<sup>a</sup> Lécia Carolina Coura*  
Coordenadora do Comitê  
de Ética em Pesquisa  
IPEC / FIOCRUZ



Ministério da Saúde

FIOCRUZ  
Fundação Oswaldo Cruz

Instituto de Pesquisa Clínica Evandro Chagas



## TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

**Estudo de Fase II para avaliar a segurança e a imunogenicidade da vacina anti H1N1 em pacientes infectados pelo HIV - Versão 1.0 de 02 de Fevereiro de 2010**

**Pesquisador Responsável:**

**Dra. Beatriz Grinsztejn**

**Telefone:**

**(21) 2270-7064**

### INTRODUÇÃO

Você está sendo convidado a participar de uma pesquisa sobre a vacina contra a influenza A H1N1, também conhecida como gripe suína. Este documento é um Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE), que fornecerá a você informações sobre a pesquisa. Queremos que você conheça os detalhes da pesquisa antes de decidir se quer ou não participar. A equipe do estudo conversará com você sobre estas informações. Você é livre para perguntar, a qualquer momento, suas dúvidas.

A participação neste estudo é voluntária. Se você decidir não participar, você continuará sendo atendido neste ambulatório, ou seja, sua decisão não afetará seu cuidado médico.

O médico responsável pela pesquisa no IPEC é a Dra. Beatriz Grinsztejn. Se você concordar em participar deste estudo, uma via assinada desse termo de consentimento será mantida pela equipe do estudo e outra ficará com você.

### POR QUE ESTE ESTUDO ESTÁ SENDO FEITO?

A influenza (ou gripe) causada por um novo vírus, o A H1N1 disseminou-se no mundo em 2009. Como toda pandemia causada por um vírus novo, a gripe suína atingiu milhares de pessoas em todas as regiões de mundo, causando doença mais grave e mais mortes que a gripe sazonal, aquela que é causada pelo vírus influenza já conhecido. Como parte dos esforços para combater essa nova epidemia foram rapidamente desenvolvidas vacinas contra o novo vírus. O Ministério da Saúde do Brasil comprou milhões de doses dessas vacinas e planeja-se iniciar a vacinação das pessoas que têm maior chance de ter contato com o vírus (por exemplo, os profissionais de saúde) e também dos grupos que têm maiores riscos de terem doença mais grave (por exemplo, indivíduos com imunodeficiência, como os que têm infecção pelo HIV). O início da vacinação está planejado para março de 2010 e espera-se que as pessoas recebam a vacina antes do começo do inverno, época em que a disseminação da gripe é maior.

***TCLE - Estudo de Fase II para avaliar a segurança e a imunogenicidade da vacina anti H1N1 em pacientes infectados pelo HIV - Versão 1.0 de 02 de Fevereiro de 2010***

Pesquisas feitas nos últimos anos com outras vacinas mostraram que em pessoas com HIV e AIDS a proteção obtida é menor que em indivíduos que não tem a infecção. Isso ocorre pois o HIV prejudica o sistema imune do organismo, que é estimulado pelas vacinas a produzir mecanismos de defesa contra as doenças. Estas pesquisas com outras vacinas mostram ainda que a proteção é menor em portadores do HIV com a imunidade mais prejudicada, com CD4 (célula de defesa) no sangue menor que 200 células por  $\text{mm}^3$ . Por causa disso os portadores do HIV precisam, geralmente, receber doses maiores e/ou maior número de doses de vacinas para ficarem protegidos.

A vacina contra o vírus influenza A H1N1 é nova. A dose recomendada para adultos é uma injeção única de 0,5 mL. Não se sabe se essa dose é adequada para pessoas com infecção pelo HIV. Estamos fazendo essa pesquisa usando doses maiores da vacina, para saber qual a dose que deixa os portadores de HIV tão protegidos contra a gripe quanto os indivíduos que não têm o vírus. Como a vacina é nova, também foi pouco testada na população em geral, em pessoas sem HIV e AIDS. Por esse motivo a pesquisa incluirá também um grupo de voluntários HIV negativos, que serão comparados aos HIV positivos.

Outra descoberta das pesquisas com vacinas é a de que em pessoas com HIV a proteção dura menos tempo que nas que não têm o vírus. Para saber se isso ocorre também com a vacina contra a influenza A H1N1 dosaremos os anticorpos contra o vírus da gripe a cada 2 meses, durante 1 ano após a vacina, com o objetivo de saber por quanto tempo as pessoas permanecem protegidas.

Não se sabe também se tomar a vacina contra a gripe comum (influenza sazonal) depois de receber a vacina contra o vírus da influenza A H1N1 tem alguma consequência em relação à proteção contra os vírus ou a efeitos colaterais. Para investigar esse aspecto daremos, durante a pesquisa, a vacina contra influenza sazonal 21 dias após a primeira dose da vacina contra influenza A H1N1.

Em resumo, essa pesquisa tem como objetivos determinar:

1. Se doses maiores vacina contra a influenza A H1N1 são mais eficazes para portadores do HIV, resultando em proteção equivalente a dose recomendada para a população em geral;
2. Se a proteção dada pela vacina a pessoas com infecção pelo HIV é a mesma com CD4 acima ou abaixo de 200 células por  $\text{mm}^3$ ;
3. Se doses maiores da vacina produzem mais efeitos colaterais que a dose única;
4. Quanto tempo depois de receber as doses maiores da vacina os HIV positivos continuam com anticorpos contra a gripe no sangue, comparados com pessoas HIV negativas que receberam dose única da vacina;
5. Os efeitos protetores e colaterais da vacina contra a influenza sazonal aplicada após a vacina contra influenza A H1N1 em voluntários HIV negativos e positivos.

## **POR QUE VOCÊ ESTÁ SENDO CONVIDADO A PARTICIPAR DESTE ESTUDO?**

Você está sendo convidado a participar deste estudo por ter indicação de receber vacina contra a influenza A H1N1 e:

- Ter infecção pelo HIV

OU

- Não ter infecção pelo HIV (nesse caso você participará do estudo para que a resposta à vacina seja comparada à resposta dos HIV positivos, ou seja, você fará parte do grupo controle)

## **QUANTAS PESSOAS PARTICIPARÃO DESTE ESTUDO?**

Participarão desta pesquisa 450 pessoas: 90 voluntários sem infecção pelo HIV, que serão convidados dentre os profissionais de saúde que procurarem o IPEC para receber a vacina; 180 pessoas HIV positivas com contagem de CD4 menor ou igual a 200 células por mm<sup>3</sup> e outras 180 com CD4 maior que 200 células por mm<sup>3</sup>.

## **QUANTO TEMPO VOCÊ FICARÁ/PARTICIPARÁ NESTE ESTUDO?**

Você participará deste estudo durante cerca de um ano e nesse período serão realizadas entre 10 (voluntários HIV negativos) e 16 consultas (voluntários HIV positivos) programadas. Serão feitas consultas extras se durante a participação no estudo você tiver gripe.

## **QUE DOSE DE VACINA VOCÊ RECEBERÁ?**

Se você é um voluntário HIV negativo receberá a dose recomendada pelo fabricante da vacina, ou seja, dose simples única de 0,5 mL, via intramuscular, no braço ou na coxa.

Se você é um voluntário HIV positivo receberá um de dois diferentes esquemas de vacinação:

1. Duas doses simples (0,5 mL) de vacina, com 21 dias de intervalo entre cada

Ou

- duas doses duplas (1 mL) de vacina, com 21 dias de intervalo entre cada.

Todos os voluntários (HIV negativos e positivos) receberão também vacina contra a gripe comum (influenza sazonal) no 21º dia de estudo, ou seja, 21 dias depois da dose única (HIV negativos) ou da 1ª dose (HIV positivos) de vacina contra a influenza A H1N1.

## **COMO SERÃO ESCOLHIDOS OS DIFERENTES ESQUEMAS DE DOSES DE VACINA CONTRA INFLUENZA A H1N1 QUE SERÃO DADOS AOS VOLUNTÁRIOS HIV POSITIVOS?**

O esquema de doses de vacina a ser dado aos voluntários HIV positivos será feito de forma aleatória, por sorteio. Tanto você quanto a equipe da pesquisa saberão qual o esquema sorteado apenas no dia da 1ª dose de vacina. Esse sorteio será feito de forma a garantir que um número igual de voluntários com  $CD4 \leq 200$  cels/mm<sup>3</sup> e com  $CD4 > 200$  cels/mm<sup>3</sup> participem dos dois diferentes esquemas de vacinação. Você tem chances iguais de cair no grupo que receberá duas doses simples ou duas doses duplas da vacina.

## **O QUE VOCÊ DEVE FAZER SE DECIDIR PARTICIPAR DESTE ESTUDO?**

### Se você participar do grupo controle (voluntários HIV negativos)

Você virá a 10 consultas programadas durante o ano de participação na pesquisa. Na primeira consulta será feito um questionário sobre sua saúde, um exame físico, alguns exames para saber como está sua saúde e uma sorologia anti-HIV, por teste rápido, para saber se você é ou não portador do vírus (para fazer estes exames serão colhidos cerca de 40 mL de sangue, equivalentes a 2 colheres de sopa). A sorologia será acompanhada por aconselhamento pré e pós-teste. Se seu resultado for positivo você não poderá participar desta pesquisa, será encaminhado para acompanhamento médico no IPEC ou em outro local que seja mais conveniente para você,

Na segunda consulta do estudo, realizada 1 a 20 dias após a anterior, será feito outro questionário sobre sua saúde, exame físico e serão colhidos cerca de 40 mL de sangue para pesquisar anticorpos contra o vírus da influenza A H1N1 no seu organismo (exame chamado sorologia) e para estudar como suas células de defesa reagem ao vírus da influenza (estudo da imunidade celular). Nessa consulta você receberá a aplicação da vacina contra a influenza A H1N1 e ficará no IPEC por mais ou menos 1 hora, para observar se aparecem efeitos colaterais. Você receberá nesse dia um diário, para levar para casa e anotar tudo o que sentiu e os medicamentos que tomou.

Um profissional da equipe da pesquisa telefonará para você um e sete dias após a 1ª dose da vacina, para saber se você teve algum problema de saúde. Os telefonemas serão feitos para os números que você fornecer e em horários combinados.

A terceira consulta da pesquisa será feita 21 dias depois da primeira dose. Nessa consulta serão feitos novamente questionário, exame físico, sorologia e estudo de imunidade celular. Você receberá a a vacina contra influenza sazonal e ficará uma hora no IPEC para observar os efeitos colaterais. Você devolverá o diário preenchido e receberá um novo.

Um profissional da equipe da pesquisa telefonará para você um e sete dias após essa consulta, para saber se você teve algum problema de saúde. Os telefonemas serão feitos para os números que você fornecer e em horários combinados.

A quarta consulta da pesquisa será feita 21 dias depois da vacina contra influenza sazonal. Nessa consulta serão feitos novamente questionário, exame físico, sorologia e estudo de imunidade celular. Você devolverá o diário preenchido.

Depois da quarta consulta você virá ao IPEC mais 6 vezes, a cada dois meses depois da vacina contra influenza A. Nestas consultas de dois meses serão feitos questionários sobre sua saúde, um exame físico se você tiver algum problema de saúde, sorologia para influenza A H1N1 (todas as consultas) e estudo da resposta imune celular (meses 6 e 12). Em cada uma destas consultas serão colhidos 20 mL de sangue, equivalentes a uma ou colher de sopa.

Se você interromper sua participação na pesquisa a qualquer momento antes da última consulta será feita uma avaliação final, com coleta de 40 mL de sangue, questionário sobre sua saúde e exame físico.

Se durante o estudo você tiver quadro de doença respiratório (febre de 38°C ou mais, com tosse e qualquer outro sintoma) deverá vir ao IPEC o mais breve

possível, para uma consulta extra. Nessa consulta faremos uma avaliação médica de sua doença e colheremos amostras de material de seu nariz e da sua garganta, para saber qual microorganismo está causando o quadro. Você receberá o tratamento recomendado pelo Ministério da Saúde do Brasil para quadros gripais.

#### Se você for do grupo de HIV positivos

Você virá a 16 consultas programadas durante o ano de participação na pesquisa. Na primeira consulta será feito um questionário sobre sua saúde, um exame físico, alguns exames para saber como está sua saúde e uma contagem de CD4 para saber como está sua imunidade (para fazer estes exames serão colhidos cerca de 40 mL de sangue, equivalentes a 2 colheres de sopa).

Na segunda consulta do estudo, realizada 1 a 20 dias após a anterior, será feito outro questionário sobre sua saúde, exame físico e o sorteio para saber qual esquema de vacinação você receberá. Além disso, serão colhidos cerca de 40 mL de sangue para dosar a quantidade de HIV no seu sangue (carga viral do HIV), para pesquisar anticorpos contra o vírus da influenza A H1N1 no seu organismo (exame chamado sorologia) e para estudar como suas células de defesa reagem ao vírus da influenza (estudo da imunidade celular). Nessa consulta você receberá a primeira aplicação da vacina contra a influenza A H1N1 e ficará no IPEC por mais ou menos 1 hora, para observar se aparecem efeitos colaterais. Você receberá nesse dia um diário, para levar para casa e anotar tudo o que sentiu e os medicamentos que tomou.

Um profissional da equipe da pesquisa telefonará para você um e sete dias após a 1ª dose da vacina, para saber se você teve algum problema de saúde. Os telefonemas serão feitos para os números que você fornecer e em horários combinados.

A terceira consulta da pesquisa será feita 21 dias depois da primeira dose. Nessa consulta serão feitos novamente questionário, exame físico, carga viral do HIV, contagem de CD4, sorologia e estudo de imunidade celular. Você receberá a 2ª dose de vacina contra a influenza A H1N1, a vacina contra influenza sazonal e ficará uma hora no IPEC para observar os efeitos colaterais. Você devolverá o diário preenchido e receberá um novo.

Um profissional da equipe da pesquisa telefonará para você um e sete dias após essa 2ª dose da vacina, para saber se você teve algum problema de saúde. Os telefonemas serão feitos para os números que você fornecer e em horários combinados.

A quarta consulta da pesquisa será feita 21 dias depois da 2ª dose da vacina. Nessa consulta serão feitos novamente questionário, exame físico, carga viral do HIV, contagem de CD4, sorologia e estudo de imunidade celular. Você devolverá o diário preenchido.

Depois da quarta consulta você virá ao IPEC mais 10 vezes, a cada dois meses depois da 1ª dose da vacina e a cada 2 meses depois da 2ª dose da vacina. Nestas consultas de dois meses serão feitos questionários sobre sua saúde, um exame físico se você tiver algum problema de saúde, dosagem de CD4 e de carga viral do HIV (nos meses 2, 6 e 12), sorologia para influenza A H1N1 (todas as consultas) e estudo da resposta imune celular (meses 6 e 12).

Em cada uma destas consultas serão colhidos 20 a 40 mL de sangue, equivalentes a uma ou duas colheres de sopa.

Se você interromper sua participação na pesquisa a qualquer momento antes da última consulta será feita uma avaliação final, com coleta de 40 mL de sangue, questionário sobre sua saúde e exame físico.

Se durante o estudo você tiver quadro de doença respiratório (febre de 38°C ou mais, com tosse e qualquer outro sintoma) deverá vir ao IPEC o mais breve possível, para uma consulta extra. Nessa consulta faremos uma avaliação médica de sua doença e colheremos amostras de material de seu nariz e da sua garganta, para saber qual microorganismo está causando o quadro. Você receberá o tratamento recomendado pelo Ministério da Saúde do Brasil para quadros gripais.

### **QUANDO VOCÊ RECEBERÁ OS RESULTADOS DOS EXAMES?**

Os resultados de seus exames de segurança (hemograma, enzimas do fígado) serão dados a você pelo médico da pesquisa na consulta imediatamente após a coleta. O mesmo ocorrerá com os resultados de exames de HIV (para os voluntários HIV negativos), de CD4 e de carga viral dos voluntários HIV positivos.

Os exames de anticorpos contra o vírus influenza A H1N1, de estudo da imunidade celular e de diagnóstico da causa de quadros respiratórios serão realizados apenas no final da pesquisa, depois que todos os voluntários tiverem completado os 12 meses de participação e, portanto, não estarão disponíveis no momento das consultas. Os resultados destes exames não são importantes para as decisões médicas sobre seu tratamento. Se você tiver interesse em saber os resultados informe a equipe da pesquisa, que entrará em contato com você assim que os mesmos estejam disponíveis.

### **EXISTEM BENEFÍCIOS POR PARTICIPAR DESTA ESTUDO?**

Você poderá não ter nenhum benefício por participar desse estudo. As informações que teremos com esse estudo poderão beneficiar outras pessoas que têm infecção pelo HIV e que precisam receber doses adequadas da vacina.

### **NOVOS ACHADOS**

Você será informado de qualquer nova descoberta sobre a vacina contra influenza A H1N1 feita durante o decorrer do estudo, o que poderá mudar sua vontade de continuar participando da pesquisa. Ao final do estudo, você será informado quando os resultados estarão disponíveis e como tomar conhecimento dos mesmos.

### **EXISTEM RISCOS POR PARTICIPAR NESTE ESTUDO?**

A vacina contra influenza A H1N1 foi desenvolvida há um ano e as informações sobre os efeitos colaterais causados por ela são limitadas. Com base nas informações sobre vacinas contra outros tipos de vírus influenza, sobre estudos realizados em animais e em seres humanos com esta vacina, sabe-se que os efeitos esperados desta vacina são:

- Reação no local da aplicação das injeções, incluindo dor, calor (aumento de temperatura), vermelhidão e “caroços” embaixo da pele;

- Alergias, caracterizadas por manchas avermelhadas na pele do corpo com ou sem febre;
- Reações alérgicas graves, com lesões nas mucosas (boca e olhos, por exemplo), dificuldade para respirar e queda de pressão arterial;
- Reações do organismo como um todo, incluindo febre, mal-estar, cansaço, perda de apetite, insônia, dor de cabeça, tonturas, diarreia, vômitos, dores na barriga, dor muscular, dor nas articulações, calafrios, sintomas de gripe, aumento dos linfonodos (gânglios), convulsões, diminuição das plaquetas no sangue (células que participam da coagulação), alteração da função dos rins.
- Reações do sistema nervoso, incluindo paralisias, perda de força nas pernas e braços, inflamação no cérebro e nos nervos. Esse tipo de complicação pode ser grave, apesar de raro. Se você já teve alguma doença nos nervos e no cérebro não deverá participar deste estudo. O médico da pesquisa discutirá esse aspecto com você na primeira consulta do estudo. Se seus pais, irmãos ou filhos tiverem apresentado uma doença chamada Síndrome de Guillan-Barré, caracterizada por paralisia que vai progredindo pernas acima, você também não deverá participar desta pesquisa.

Durante a pesquisa você virá às consultas com frequência e fará exames a fim de diagnosticar e tratar precocemente qualquer complicação que possa ocorrer. Se você tiver algum evento clínico de maior gravidade após a 1ª dose da vacina você permanecerá na pesquisa, porém não receberá a segunda dose. A gravidade dos efeitos será explicada a você pelo seu médico da pesquisa.

Retirar sangue pode causar desconforto no local da coleta, possivelmente machucados ao redor do local e raramente desmaio e infecção no local da picada da agulha. A equipe do estudo fará todos os procedimentos indicados para minorar estes efeitos.

Fazer exame para saber se você tem ou não infecção pelo HIV pode causar ansiedade e angústia. Os membros da equipe da pesquisa farão aconselhamento antes e depois do teste para minimizar estes problemas.

### **EXISTEM RISCOS RELACIONADOS À GRAVIDEZ?**

A vacina contra influenza A H1N1 não causou prejuízos a mulheres grávidas nem a fetos nos estudos em animais de laboratório. Vacinas contra outros tipos de influenza não são contra-indicadas para grávidas. Não há informações suficientes sobre essa vacina em mulheres gestantes. Se você estiver grávida não será incluída nesta pesquisa. Se você engravidar após a 1ª dose da vacina não receberá a 2ª, porém permanecerá na pesquisa.

### **O QUE OCORRE SE VOCÊ FOR PREJUDICADO POR PARTICIPAR DESSA PESQUISA?**

Se você for prejudicado como resultado de sua participação neste estudo, você receberá tratamento imediato. Ao assinar este termo de consentimento você não estará desistindo de quaisquer direitos legais.

### **QUE OUTRAS ESCOLHAS VOCÊ TEM ALÉM DESTA PESQUISA?**

Você não tem que tomar parte nesta pesquisa. Você pode obter cuidados médicos e vacina contra a gripe comum e a influenza A H1N1 como parte de seu acompanhamento de rotina no IPEC. Por favor, discuta com seu médico pessoal sobre os riscos e os benefícios de participar deste estudo e sobre outras escolhas disponíveis para você.

### **A RESPEITO DA CONFIDENCIALIDADE**

Seu nome e qualquer outra informação que o identifique serão mantidos em sigilo e apenas a equipe de pesquisa terá acesso a sua identificação. Qualquer publicação deste estudo não utilizará seu nome ou o identificará pessoalmente.

### **QUAIS SERÃO OS SEUS CUSTOS?**

Os procedimentos e exames exigidos para o estudo serão feitos sem nenhum custo para você.

### **VOCÊ RECEBERÁ ALGUM PAGAMENTO?**

Não. Você não receberá nenhum pagamento por estar participando desse estudo.

### **QUAIS SÃO OS SEUS DIREITOS COMO VOLUNTÁRIO DA PESQUISA?**

A participação neste estudo é voluntária. Você pode decidir não participar do mesmo. Você pode se retirar do estudo a qualquer momento e por qualquer razão/motivo. Se você decidir retirar-se do estudo, sua decisão não afetará o recebimento de cuidados médicos. Se você decidir se retirar do estudo você deverá informar a pessoa que cuida de sua saúde.

### **PARA QUEM LIGAR EM CASO DE DÚVIDAS OU PROBLEMAS?**

Para questões sobre este estudo ou qualquer dano relacionado à pesquisa entre em contato com:

Dra. Beatriz Grinsztejn  
Laboratório de Pesquisa em DST e AIDS do IPEC/FIOCRUZ  
Avenida Brasil, 4365 - Manguinhos - Rio de Janeiro.  
Tel: (021) 2270-7064

Para emergências médicas, durante finais de semana, feriados e noites, entre em contato com um plantonista do IPEC, no telefone 39865-9595.

Para questões sobre seus direitos como participante de uma pesquisa entre em contato com:

Comitê de Ética em Pesquisa do IPEC  
Avenida Brasil, 4365 - Manguinhos - Rio de Janeiro.  
Tel: (021) 3865-9585.

## PÁGINA DE ASSINATURA

Se você leu este termo de consentimento e entendeu as informações nelas contidas (ou alguém explicou o conteúdo a você), todas as suas dúvidas foram esclarecidas e você concorda em **participar da pesquisa**, favor anotar o seu nome, a data de hoje e assinar abaixo.

\_\_\_\_\_

Nome do voluntário em letra legível

\_\_\_\_\_

Assinatura do(a) voluntário(a)  
ano

Data \_\_\_ / \_\_\_ / \_\_\_\_\_  
dia mês

\_\_\_\_\_

Nome da pessoa que obteve o consentimento em letra legível

\_\_\_\_\_

Assinatura da pessoa que obteve o consentimento  
ano

Data \_\_\_ / \_\_\_ / \_\_\_\_\_  
dia mês

\_\_\_\_\_

Nome da testemunha imparcial, se necessário, em letra legível

\_\_\_\_\_

Assinatura da testemunha imparcial se necessário, em letra de forma  
mês ano

Data \_\_\_ / \_\_\_ / \_\_\_\_\_  
dia

**Estudo de Fase II para avaliar a segurança e a  
imunogenicidade da vacina anti H1N1 em pacientes  
infectados pelo HIV**

**PROTOCOLO**

**VIP-H1N1**

**Versão 1.0 de 4 de março de 2010**

**FICHA CLÍNICA DE ESTUDO**

**INICIAIS** \_\_\_\_\_

**Número de triagem** \_\_\_\_\_

**Número no Estudo** \_\_\_\_\_

# PROCOLO

## VIP-H1N1

Iniciais

\_\_\_\_\_

Triagem

\_\_\_\_\_

Estudo

\_\_\_\_\_

## CRITÉRIOS DE INCLUSÃO E EXCLUSÃO

Versão 1.0 de 04/MAR/10

<b>PROTOCOLO</b>	<b>GRUPO</b>	<b>Consulta</b>	<b>Iniciais</b>	<b>No de triagem</b>	<b>Data</b>
VIP-H1N1	<input type="checkbox"/> Controle <input type="checkbox"/> HIV	<b>TRIAGEM</b>	□□□	□□□□	□□-□□-□□
Página 1					

1. CRITÉRIOS DE INCLUSÃO PARA TODOS OS PARTICIPANTES	SIM	NÃO
O voluntário tem entre 18 e 59 anos de idade?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
O voluntário consentiu em participar do estudo e assinou o TCLE?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
A voluntária tem teste de gravidez negativo na triagem?	<input type="checkbox"/> ou <input type="checkbox"/> NA (homem ou sem potencial reprodutivo)	<input type="checkbox"/>
A voluntária concorda em usar método contraceptivo durante o estudo?	<input type="checkbox"/> ou <input type="checkbox"/> NA (homem ou sem potencial reprodutivo)	<input type="checkbox"/>
O resultado de hemoglobina na consulta de triagem foi > 8,0 g/dL?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
O resultado de bilirrubina direta na consulta de triagem foi < 2,5 x o limite normal superior de normalidade?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
O resultado de TGO e TGP na consulta de triagem foi < 3 x o limite superior de normalidade?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
O resultado de plaquetas na consulta de triagem foi > 100.000/mm <sup>3</sup> ?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<b>2. CRITÉRIOS DE INCLUSÃO EXCLUSIVOS PARA VOLUNTÁRIOS HIV+</b>	<input type="checkbox"/> NA –GRUPO CONTROLE	
	<b>SIM</b>	<b>NÃO</b>
O voluntário tem infecção pelo HIV confirmada?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
O voluntário está sem alteração de tratamento ARV nas últimas 8 semanas?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Planeja-se manter os mesmos ARV, ou não iniciar o tratamento, nos próximos 6 meses?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<b>3. CRITÉRIOS DE INCLUSÃO EXCLUSIVOS PARA DO GRUPO CONTROLE (HIV -)</b>	<input type="checkbox"/> NA –GRUPO HIV+	
	<b>SIM</b>	<b>NÃO</b>
O voluntário possui resultado negativo no teste rápido anti-HIV?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
O voluntário é um profissional de saúde com indicação de receber vacina contra influenza H1N1?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>



Se houver alguma resposta marcada nas **caixas escuras** o voluntário deve ser **excluído** do estudo

Rubrica \_\_\_\_\_

Data \_\_\_\_\_

## CRITÉRIOS DE INCLUSÃO E EXCLUSÃO

Versão 1.0 de 04/MAR/10

<b>PROTOCOLO</b>  VIP-H1N1	<b>GRUPO</b>  <input type="checkbox"/> Controle <input type="checkbox"/> HIV	<b>Consulta</b>  <b>TRIAGEM</b>  Página 1a	<b>Iniciais</b>  □□□	<b>No de triagem</b>  □□□□	<b>Data</b>  □□-□□-□□
----------------------------------	---	--	----------------------------	----------------------------------	-----------------------------

4. CRITÉRIOS DE EXCLUSÃO PARA TODOS OS PARTICIPANTES	SIM	NÃO
O voluntário usou qualquer tratamento sistêmico antineoplásico ou imunomodulador, corticóide sistêmico, vacinas experimentais, interleucinas, interferons, fatores do crescimento ou imunoglobulina intravenosa (IVIG) nos 45 dias que antecedem a triagem?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
A voluntária está grávida ou amamentando?	<input type="checkbox"/>  <input type="checkbox"/> NA (homem ou sem potencial reprodutivo)	<input type="checkbox"/>
O voluntário tem alergia e/ou sensibilidade ou qualquer hipersensibilidade conhecida aos resíduos presentes na vacina (ovo, proteína de galinha, ovalbumina, formaldeído, sulfato de gentamicina e deoxicolato de sódio) e/ou ao tiomersal?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
O voluntário tem história de uso de álcool ou dependência ou outros quadros que, na opinião do pesquisador possam interferir no cumprimento das exigências do estudo?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
O voluntário teve doença grave exigindo tratamento sistêmico e/ou hospitalização nos 45 dias que antecedem o ingresso no estudo?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
O voluntário apresenta doença febril grave ou infecção aguda no momento da triagem para o estudo e/ou no dia de aplicação da vacina?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
O voluntário recebeu vacinação contra influenza sazonal nos últimos 12 meses antes da entrada no estudo?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
O voluntário recebeu vacinação contra influenza A H1N1 previamente?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
O voluntário tem história ou antecedente familiar de síndrome de Guillain-Barré (pais, irmãos, meio-irmãos ou filhos)?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
O voluntário teve diagnóstico de quadro neurológico incluindo (mas não se limitando a) ausência de reflexos profundos calcâneos e patelares em ambas as pernas (os quatro ausentes) nos últimos seis meses?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
O voluntário teve perda de força desproporcional no(s) membro(s) inferior(es) em comparação aos membros superiores nos últimos seis meses?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>



Se houver alguma resposta marcada nas **caixas escuras** o voluntário deve ser **excluído** do estudo

Rubrica \_\_\_\_\_

Data \_\_\_\_\_

## DADOS DEMOGRÁFICOS E HISTÓRIA MÉDICA 1

Versão 1.0 de 04/MAR/10

<b>PROTOCOLO</b>  VIP-H1N1	<b>GRUPO</b> <input type="checkbox"/> Controle <input type="checkbox"/> HIV	<b>Consulta</b>  <b>TRIAGEM</b>  Página 2	<b>Iniciais</b>  □□□	<b>No de triagem</b>  □□□□	<b>Data</b>  □□-□□-□□
----------------------------------	---	---	----------------------------	----------------------------------	-----------------------------

<b>5. Data de nascimento</b>  □□-□□-□□	<b>6. Raça</b> <input type="checkbox"/> Branca <input type="checkbox"/> Negra <input type="checkbox"/> Asiática <input type="checkbox"/> Parda <input type="checkbox"/> Outras	<b>7. Sexo</b> <input type="checkbox"/> Masculino <input type="checkbox"/> Feminino	<b>8. Data da assinatura do TCLE</b>  □□-□□-□□
--	---	---	--

9. O voluntário possui alguma condição prévia ou concomitante não relacionada à infecção pelo HIV?

Sim                       Não (vá para a questão 10)



Condição			Descrição	Está ativa?		Ano de diagnóstico
	Sim	Não		Sim	Não	
Doenças congênitas						
Doenças pulmonares						
Doenças cardíacas						
Doenças vasculares						
Hipertensão arterial						
Doenças renais						
Doenças ósseas						
Doenças reumatológicas						
Diabetes melito						
Outras doenças endócrinas						
Doenças hepáticas						

Rubrica \_\_\_\_\_

Data \_\_\_\_\_

**HISTÓRIA MÉDICA 2**  
Versão 1.0 de 04/MAR/10

<b>PROTOCOLO</b>  VIP-H1N1	<b>GRUPO</b> <input type="checkbox"/> Controle <input type="checkbox"/> HIV	<b>Consulta</b>  <b>TRIAGEM</b>  Página 3	<b>Iniciais</b>  □□□	<b>No de triagem</b>  □□□□	<b>Data</b>  □□-□□-□□
----------------------------------	---	---	----------------------------	----------------------------------	-----------------------------

9 (continuação). O voluntário possui alguma condição prévia ou concomitante não relacionada à infecção pelo HIV?

Condição	Descrição		Está ativa?		Ano de diagnóstico
	Sim	Não	Sim	Não	
Doenças do TGI					
Doenças de pele e anexos					
Doenças neurológicas					
Doenças neoplásicas					
Doenças hematológicas					
Doenças dos olhos, ouvidos, nariz e garganta					
Doenças geniturinárias					
Doenças de transmissão sexual					
Cirurgias prévias					
Outras (listar)					

Rubrica \_\_\_\_\_

Data \_\_\_\_\_

**HISTÓRIA MÉDICA 3**  
 Versão 1.0 de 04/MAR/10

<b>PROTOCOLO</b> VIP-H1N1	<b>GRUPO</b> <input type="checkbox"/> Controle <input type="checkbox"/> HIV	<b>Consulta</b> <b>TRIAGEM</b> Página 4	<b>Iniciais</b> □□□	<b>No de triagem</b> □□□□	<b>Data</b> □□-□□-□□
------------------------------	---	---	------------------------	------------------------------	-------------------------

10. O paciente possui alguma condição prévia ou concomitante relacionada à infecção pelo HIV?  
 Sim       Não (vá para a pergunta 11)       Não se aplica – grupo controle (vá para a pergunta 11)



Diagnóstico	Está ativa?		Ano de diagnóstico
	Sim	Não	

Rubrica \_\_\_\_\_

Data \_\_\_\_\_

<b>PROTOCOLO</b>  VIP-H1N1	<b>GRUPO</b> <input type="checkbox"/> Controlé <input type="checkbox"/> HIV	<b>Consulta</b>  <b>TRIAGEM</b>  Página 5	<b>Iniciais</b>  □□□	<b>No de triagem</b>  □□□□	<b>Data</b>  □□-□□-□□
----------------------------------	---	---	----------------------------	----------------------------------	-----------------------------

### 11. HÁBITOS

Hábito	Situação				
	Nunca teve	Teve no passado		Tem no presente	
Tabagismo		Por quanto tempo?		Com que idade começou?	
		Há quanto tempo parou?		Quantos cigarros por dia?	
		Quantos cigarros por dia?			
Etilismo		Por quanto tempo?		Com que idade começou?	
		Há quanto tempo parou?		Tipo de bebida	<input type="checkbox"/> Destilados <input type="checkbox"/> Fermentados <input type="checkbox"/> Ambos
				Frequência	<input type="checkbox"/> Mais de 7/semana <input type="checkbox"/> Menos de 7/semana
Uso de drogas ilícitas		Por quanto tempo?		Com que idade começou?	
		Há quanto tempo parou?		Tipo(s) de drogas	
		Tipo(s) de droga		Frequência	

### 12. HISTÓRICO VACINAL

O voluntário recebeu alguma vacina na vida adulta?

Sim       Não (vá para a questão 13)       Não sabe



Vacina (citar cada dose separadamente)	Data	Vacina (citar cada dose separadamente)	Data

Rubrica \_\_\_\_\_

Data \_\_\_\_\_

<b>PROTOCOLO</b>  VIP-H1N1	<b>GRUPO</b> <input type="checkbox"/> Controle <input type="checkbox"/> HIV	<b>Consulta</b>  TRIAGEM  Página 6	<b>Iniciais</b>  □□□	<b>No de triagem</b>  □□□□	<b>Data</b>  □□-□□-□□
----------------------------------	---	--	----------------------------	----------------------------------	-----------------------------

13. Data do diagnóstico da infecção pelo HIV: □□-□□-□□  
 Não se aplica – controle

**HISTÓRICO DE USO DE ARV**

14. O voluntário já usou ARV em algum momento?  
 Sim       Não (vá para a questão 16)       Não se aplica – controle (vá para a questão 18)

Esquema (preencher usando o código abaixo e sinal de +. Ex: AZT + 3TC + EFV)	Data início (dd – mm – aaaa)	Data de fim (dd – mm – aaaa)	Motivo do início (ver códigos abaixo)	Motivo do fim (ver código abaixo)

15. Qual é o esquema ARV em uso nesse momento?

Esquema (preencher usando o código abaixo e sinal de +. Ex: AZT + 3TC + EFV)	Data início (dd – mm – aaaa)	Motivo do início (ver códigos abaixo)

Códigos para os ARV: AZT, 3TC, d4T, ddl, ddC, TDF, ABC, EFV, NVP, DLV, RTV, SQV, SQV/r, IDV, IDV/r, NFV, LPV/r, ATV; DRV, T20, RAL, MARAVIROC

Motivos de início: 1. Imunodeficiência, 2. Gestação, 3. Outros (qual?)

Motivos de fim: 1. Suspensão temporária pelo médico, 2. Decisão da paciente / abandono, 3. Final de gestação, 4. Toxicidade / intolerância, 5. Intensificação, 6. Falha, 7. Outro (qual?)

16. Qual o CD4 mais abaixo apresentado pela paciente desde o diagnóstico da infecção pelo HIV?

Nunca mediu CD4 (vá para a questão 18)

Valor: □□□□ células/mm<sup>3</sup> □□ %      data □□-□□-□□□□

17. Qual o último valor de CD4 obtido?

Valor: □□□□ células/mm<sup>3</sup> □□ %      data □□-□□-□□□□

18. Paciente está em uso ou usou nos últimos 30 dias qualquer tipo de medicamento, para qualquer indicação?

Não       Sim (preencher formulário de medicação concomitante)

Rubrica \_\_\_\_\_

Data \_\_\_\_\_

## SINAIS VITAIS, MEDIDAS E EXAME FÍSICO

Versão 1.0 de 04/MAR/10

<b>PROTOCOLO</b>  VIP-H1N1	<b>GRUPO</b> <input type="checkbox"/> Controle <input type="checkbox"/> HIV	<b>Consulta</b>  TRIAGEM  Página 7	<b>Iniciais</b>  □□□	<b>No de triagem</b>  □□□□	<b>Data</b>  □□-□□-□□
----------------------------------	---	--	----------------------------	----------------------------------	-----------------------------

### 19. SINAIS VITAIS E MEDIDAS

Não realizado

Pressão arterial (mmHg) sistólica e diastólica	
Frequência cardíaca (bpm)	
Temperatura axilar (graus centígrados)	
Frequência respiratória (mipm)	
Peso (kg)	
Altura (cm)	

### 20. EXAME FÍSICO

Não realizado

	Não realizado	Normal	Anormal - descrever	
Cabeça e pescoço	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Cardiovascular	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Respiratório	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Abdômen	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Pele e anexos	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Linfonodos	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
<b>Neurológico</b>				
Geral	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Reflexos patelares e calcâneos	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Força muscular em membros inferiores e posteriores	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
<b>Outros (riscar, rubricar e datar linhas em branco):</b>				
	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	

Rubrica \_\_\_\_\_

Data \_\_\_\_\_

**EXAMES LABORATORIAIS – HEMATOLOGIA**

Versão 1.0 de 04/MAR/10

<b>PROTOCOLO</b>  VIP-H1N1	<b>GRUPO</b>  <input type="checkbox"/> Controle <input type="checkbox"/> HIV	<b>Consulta</b>  TRIAGEM  Página 8	<b>Iniciais</b>  □□□	<b>No de triagem</b>  □□□□	<b>Data</b>  □□-□□-□□
----------------------------------	---	--	----------------------------	----------------------------------	-----------------------------

**21. HEMOGRAMA**

Exame	Resultado		Não realizado	Comentários
	Valor	Unidade		
Hemácias	□□□□□□	/mm <sup>3</sup>		
Hemoglobina	□□,□	g/dL		
Hematócrito	□□,□	%		
VCM	□□□,□	μm <sup>3</sup>		
Leucócitos totais	□□□□□	/mm <sup>3</sup>		
Basófilos	□□			
Eosinófilos	□□			
Mielócitos	□□			
Metamielócitos	□□ <sub>2</sub>			
Bastões	□□			
Segmentados	□□			
Linfócitos	□□			
Linfócitos atípicos	□□			
Monócitos	□□			
Plaquetas	□□□□□□			
Observações				

Data da coleta: □□-□□-□□

Rubrica \_\_\_\_\_  
Data \_\_\_\_\_

**EXAMES LABORATORIAIS – BIOQUÍMICA E OUTROS**

Versão 1.0 de 04/MAR/10

<b>PROTOCOLO</b> VIP-H1N1	<b>GRUPO</b> <input type="checkbox"/> Controle <input type="checkbox"/> HIV	<b>Consulta</b> <b>TRIAGEM</b>  Página 9	<b>Iniciais</b> □□□	<b>No de triagem</b> □□□□	<b>Data</b> □□-□□-□□
------------------------------	---	---	------------------------	------------------------------	-------------------------

**22. BIOQUÍMICA**

Exame	Resultado		Não realizado	Comentários
	Valor	Unidade		
TGO/AST	□□□□	U/L		
TGP/ALT	□□□□	U/L		
Bilirrubina total	□□,□	mg/dL		
Direta	□□,□	mg/dL		
Indireta	□□,□	mg/dL		

Data da coleta: □□-□□-□□

**23. TESTE DE GRAVIDEZ**

Não se aplica (mulheres sem potencial reprodutivo ou homens)

Tipo de teste	Resultado		Não realizado	Comentários
	Valor	Unidade		

Data da coleta: □□-□□-□□

**24. TESTE RÁPIDO – HIV**

Não se aplica (voluntários do grupo HIV +)

Tipo de teste	Resultado		Não realizado	Comentários
	Valor	Unidade		

Data da coleta: □□-□□-□□

**25. SUBTIPAGEM DE LINFÓCITOS**

Não se aplica (voluntários do grupo controle)

Exame	Resultado		Não realizado	Comentários
	Valor	Unidade		
CD4	□□□□	cels/mm <sup>3</sup>		
CD8	□□□□	cels/mm <sup>3</sup>		
CD3	□□□□	cels/mm <sup>3</sup>		

Data da coleta: □□-□□-□□

Rubrica \_\_\_\_\_  
Data \_\_\_\_\_

**CONDUTA**  
Versão 1.0 de 04/MAR/10

<b>PROTOCOLO</b>  VIP-H1N1	<b>GRUPO</b> <input type="checkbox"/> Controle <input type="checkbox"/> HIV	<b>Consulta</b>  TRIAGEM  Página 10	<b>Iniciais</b>  □□□	<b>No de triagem</b>  □□□□	<b>Data</b>  □□-□□-□□
----------------------------------	---	---	----------------------------	----------------------------------	-----------------------------

Ao final desta consulta:

Conduta	Responsável (rubrica)	Data	Observações
Verificar se todos os exames laboratoriais foram colhidos e encaminhados para o laboratório			
Verificar se os dados do prontuário são completos para a captura nessa ficha			
Marcar consulta de vacinação em 1 a 20 dias Data □□-□□-□□			
Preencher páginas de exames laboratoriais quando os resultados estiverem disponíveis			
Preencher os formulários páginas 1 a 9			
Preencher a planilha de triagem de voluntários			
Preencher a planilha de identificação dos voluntários			

Rubrica \_\_\_\_\_  
Data \_\_\_\_\_

## HISTÓRIA MÉDICA

<b>PROTOCOLO</b>  VIP-H1N1	<b>GRUPO</b> <input type="checkbox"/> Controle <input type="checkbox"/> HIV	<b>Consulta</b>  DIA ZERO  Página 11	<b>Iniciais</b>  □□□	<b>No de Triagem</b> □□□□  <b>No de inclusão</b> □-□□□	<b>Data</b> □□-□□-□□
----------------------------------	---	--	----------------------------	--	-------------------------

**26. Algum novo sintoma, sinal, alteração de exame laboratorial ou diagnóstico foi identificado desde a triagem?**

Não  Sim (preencher folha de eventos adversos)

**27. O voluntário usou algum medicamento desde a triagem até hoje?**

Não  Sim (preencher folha de medicação concomitante)

**28. O voluntário cumpre todos os critérios de elegibilidade do estudo?**

Não (interromper a participação) – excluído devido a:

Critério de exclusão – qual? \_\_\_\_\_

Retirada de consentimento

Outro motivo – qual? \_\_\_\_\_

Sim (passar para o item 29)

### **29. RANDOMIZAÇÃO**

Não se aplica – grupo controle

**Originalmente selecionado para estrado de CD4:**

$\leq 200$  células/mm<sup>3</sup>        $> 200$  células/mm<sup>3</sup>

**Resultado de CD4 colhido na triagem:**

$\leq 200$  células/mm<sup>3</sup> – abrir envelope da série A com o próximo número sequencial

$> 200$  células/mm<sup>3</sup> - abrir envelope da série B com o próximo número sequencial

**Voluntário randomizado para:**

Grupo 1: uma dose (0,5 mL - 3,75 µg de antígeno) da vacina a cada 21 dias

Grupo 2: duas doses (1,0 mL contém – 7,50 µg de antígeno) da vacina a cada 21 dias

**Número de inclusão no estudo** □-□□□

**30. O voluntário foi selecionado para o subestudo de imunidade celular?**

Não       Sim

Rubrica \_\_\_\_\_

Data \_\_\_\_\_

## SINAIS VITAIS, MEDIDAS E EXAME FÍSICO

<b>PROTOCOLO</b>  VIP-H1N1	<b>GRUPO</b> <input type="checkbox"/> Controle <input type="checkbox"/> HIV	<b>Consulta</b>  DIA ZERO  Página 12	<b>Iniciais</b>  □□□	<b>No de Triagem</b> □□□□  <b>No de inclusão</b> □-□□□	<b>Data</b> □□-□□-□□
----------------------------------	---	--	----------------------------	--	-------------------------

### 31. SINAIS VITAIS E MEDIDAS

Não realizado

Pressão arterial (mmHg) sistólica e diastólica	
Frequência cardíaca (bpm)	
Temperatura axilar (°C)	
Frequência respiratória (mipm)	
Peso (kg)	

### 32. EXAME FÍSICO

Não realizado

	Não realizado	Normal	Anormal - descrever	
Cabeça e pescoço	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Cardiovascular	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Respiratório	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Abdômen	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Pele e anexos	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Linfonodos	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
<b>Neurológico</b>				
Geral	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Reflexos patelares e calcâneos	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Força muscular em membros inferiores e posteriores	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
<b>Outros (riscar, rubricar e datar linhas em branco):</b>				
	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	

Rubrica \_\_\_\_\_

Data \_\_\_\_\_

**EXAMES LABORATORIAIS**

<b>PROTOCOLO</b>  VIP-H1N1	<b>GRUPO</b> <input type="checkbox"/> Controle <input type="checkbox"/> HIV	<b>Consulta</b>  DIA ZERO  Página 13	<b>Iniciais</b>  □□□	<b>No de Triagem</b> □□□□  <b>No de inclusão</b> □-□□□	<b>Data</b> □□-□□-□□
----------------------------------	---	--	----------------------------	--	-------------------------

**33. TESTE DE GRAVIDEZ**

Não se aplica (mulheres sem potencial reprodutivo ou homens)

Tipo de teste	Resultado		Não realizado	Comentários
	Valor	Unidade		

Data da coleta: □□-□□-□□

**34. CARGA VIRAL DO HIV**

Não se aplica (voluntários do grupo controle))

Exame	Resultado		Não realizado	Comentários
	Valor	Unidade		
Quantificação de RNA viral		cópias/mL		
		log <sub>10</sub>		

Data da coleta: □□-□□-□□

**35. SORO PARA REALIZAÇÃO DE SOROLOGIA H1N1**

O soro foi armazenado de acordo com o especificado no protocolo?

sim                       não – justifique: \_\_\_\_\_

**36. CÉLULAS PARA REALIZAÇÃO DE EXAMES DE IMUNIDADE CELULAR**

Não se aplica (voluntários não selecionado para o sub-estudo)

O material foi armazenado de acordo com o especificado no protocolo?

sim                       não – justifique: \_\_\_\_\_

Rubrica \_\_\_\_\_  
Data \_\_\_\_\_

**EXAMES LABORATORIAIS – VACINAÇÃO**

VERSÃO 1.0, 04/MAR/10

<b>PROTOCOLO</b> VIP-H1N1	<b>GRUPO</b> <input type="checkbox"/> Controle <input type="checkbox"/> HIV	<b>Consulta</b> <b>DIA ZERO</b>  Página 14	<b>Iniciais</b> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<b>No de Triagem</b> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>  <b>No de inclusão</b> <input type="checkbox"/> - <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<b>Data</b> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> - <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> - <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>
------------------------------	---	---	---	---	--

**37. VACINAÇÃO**Número do frasco de vacina: 

Dose aplicada:

 0,5 mL (3,75 mcg) 1,0 mL (7,50 mcg)

Local da aplicação:

 Região deltóide de membro superior  esquerdo  direito Outra – qual? \_\_\_\_\_Hora da aplicação (24 horas): : hs

Rubrica \_\_\_\_\_

Data \_\_\_\_\_

**REATOGENICIDADE**  
VERSÃO 1.0, 04/MAR/10

<b>PROTOCOLO</b>  VIP-H1N1	<b>GRUPO</b> <input type="checkbox"/> Controle <input type="checkbox"/> HIV	<b>Consulta</b>  DIA ZERO  Página 15	<b>Iniciais</b>  □□□	<b>No de Triagem</b> □□□□  <b>No de inclusão</b> □-□□□	<b>Data</b> □□-□□-□□
----------------------------------	---	--	----------------------------	--	-------------------------

**38. REATOGENICIDADE**

Algum dos sintomas ou sinais abaixo foi identificado durante o período de observação?

Sim       Não

Sinal ou sintoma	Hora de início	Hora da resolução *	Intensidade máxima alcançada
<b>No local de aplicação da vacina</b>			
Dor			
Reação ao toque			
Eritema / vermelhidão			
Nódulo			
Edema			
<b>Sistêmicos (listar de acordo com as instrução ao lado)</b>			

\* se continuar ao término do período de observação escrever CONT e anotar no diário do voluntário as informações, para que ele marque data e horário de término

Hora do término da observação (24 horas): □□:□□ hs

Rubrica \_\_\_\_\_  
Data \_\_\_\_\_

**CONDUTA**  
VERSÃO 1.1, 14/MAR/10

<b>PROTOCOLO</b>  VIP-H1N1	<b>GRUPO</b> <input type="checkbox"/> Controle <input type="checkbox"/> HIV	<b>Consulta</b>  DIA ZERO  Página 16	<b>Iniciais</b>  □□□	<b>No de Triagem</b> □□□□  <b>No de inclusão</b> □-□□□	<b>Data</b> □□-□□-□□
----------------------------------	---	--	----------------------------	--	-------------------------

Ao final desta consulta:

Conduta	Responsável (rubrica)	Data	Observações
Verificar se todos os exames laboratoriais foram colhidos e encaminhados para o laboratório			
Verificar se os dados do prontuário estão completos para a captura nessa ficha			
Marcar consulta telefônica para 20 a 36 horas após o horário da vacina Data □□-□□-□□ Hora □□:□□ h			
Marcar consulta telefônica para 7 dias (+ 1 dia) após o dia da vacinação Data □□-□□-□□ Hora □□:□□ h			
Marcar consulta para a segunda consulta de vacinação , 21 dias depois desta (janela de zero a mais 4 dias) Data □□-□□-□□			
Preencher páginas de exames laboratoriais quando os resultados estiverem disponíveis			
Preencher os formulários páginas 11 a 15			
Atualizar a planilha de identificação dos voluntários			
Fornecer diário do voluntário			

**CONSULTAS TELEFÔNICAS**

VERSÃO 1.0, 04/MAR/10

<b>PROTOCOLO</b>  VIP-H1N1	<b>GRUPO</b> <input type="checkbox"/> Controle <input type="checkbox"/> HIV	<b>Consulta</b>  DIAS 1 e 7  Página 17	<b>Iniciais</b>  <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<b>No de Triagem</b> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>  <b>No de inclusão</b> <input type="checkbox"/> - <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>
----------------------------------	---	--	---	---

**39. Contato telefônico 20 a 36 horas após a vacinação**

Não realizado – justifique: \_\_\_\_\_

Realizado em (dd/mm/aa) --, às : hs

**Nesse contato foi:**

Perguntado sobre reações à vacina?  Sim  Não

Reforçadas orientações sobre preenchimento do diário?  Sim  Não

Confirmado o próximo contato telefônico?  Sim  Não

**As informações estão registradas no prontuário?**  Sim  Não

Realizado por (rubrica): \_\_\_\_\_

**40. Contato telefônico 7 a 8 dias após a vacinação**

Não realizado – justifique: \_\_\_\_\_

Realizado em (dd/mm/aa) --, às : hs

**Nesse contato foi:**

Perguntado sobre reações à vacina?  Sim  Não

Reforçadas orientações sobre preenchimento do diário?  Sim  Não

Confirmada a próxima consulta?  Sim  Não

**As informações estão registradas no prontuário?**  Sim  Não

Realizado por (rubrica): \_\_\_\_\_

**HISTÓRIA MÉDICA**  
VERSÃO 1.0, 04/MAR/10

<b>PROTOCOLO</b>  VIP-H1N1	<b>GRUPO</b> <input type="checkbox"/> Controle <input type="checkbox"/> HIV	<b>Consulta</b>  DIA 21  Página 18	<b>Iniciais</b>  □□□	<b>No de Triagem</b> □□□□  <b>No de inclusão</b> □-□□□	<b>Data</b> □□-□□-□□
----------------------------------	---	--	----------------------------	--	-------------------------

Consulta não realizada – motivo: \_\_\_\_\_

**41. Algum novo sintoma, sinal, alteração de exame laboratorial ou diagnóstico foi identificado desde a triagem?**

Não  Sim (preencher folha de eventos adversos)

**42. O voluntário usou algum medicamento desde a última consulta até hoje?**  Não  Sim (preencher folha de medicação concomitante)

**43. O voluntário continua participando do estudo?**

Sim  Não – motivo:  perda de acompanhamento  
 Retirada de consentimento  
 Outro – qual? \_\_\_\_\_

**44. Houve alguma alteração de exame físico em relação à consulta anterior?**  Não  Sim (preencher folha de eventos adversos)

**45. EXAME NEUROLÓGICO**

	Não realizado	Normal	Anormal - descrever	
Geral	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Reflexos patelares e calcâneos	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Força muscular em membros inferiores e posteriores	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	

**46. SINAIS VITAIS E MEDIDAS**

Não realizado

Pressão arterial (mmHg) sistólica e diastólica	
Frequência cardíaca (bpm)	
Temperatura axilar (graus centígrados)	
Frequência respiratória (mipm)	
Peso (kg)	

Rúbrica \_\_\_\_\_

Data \_\_\_\_\_

**EXAMES LABORATORIAIS – HEMATOLOGIA**

Versão 1.0 de 04/MAR/10

<b>PROTOCOLO</b>  VIP-H1N1	<b>GRUPO</b> <input type="checkbox"/> Controle <input type="checkbox"/> HIV	<b>Consulta</b>  DIA 21	<b>Iniciais</b>  □□□	<b>No de triagem</b>  □□□□	<b>Data</b>  □□-□□-□□
		Página 19		<b>No de inclusão</b>  □-□□□	

**47. HEMOGRAMA**

Exame	Resultado		Não realizado	Comentários
	Valor	Unidade		
Hemácias	□□□□□□	/mm <sup>3</sup>		
Hemoglobina	□□,□	g/dL		
Hematócrito	□□,□	%		
VCM	□□□,□	μm <sup>3</sup>		
Leucócitos totais	□□□□□	/mm <sup>3</sup>		
Basófilos	□□			
Eosinófilos	□□			
Mielócitos	□□			
Metamielócitos	□□ <sub>2</sub>			
Bastões	□□			
Segmentados	□□			
Linfócitos	□□			
Linfócitos atípicos	□□			
Monócitos	□□			
Plaquetas	□□□□□□			
Observações				

Data da coleta: □□-□□-□□

Rubrica \_\_\_\_\_  
Data \_\_\_\_\_

**EXAMES LABORATORIAIS – BIOQUÍMICA, CD4 E CV**

Versão 1.0 de 04/MAR/10

PROTOCOLO  VIP-H1N1	GRUPO <input type="checkbox"/> Controle <input type="checkbox"/> HIV	Consulta	Iniciais	No de triagem	Data
		DIA 21	□□□	□□□□ No de inclusão □-□□□	□□-□□-□□
		Página 20			

**48. BIOQUÍMICA**

Exame	Resultado		Não realizado	Comentários
	Valor	Unidade		
TGO/AST	□□□□	U/L		
TGP/ALT	□□□□	U/L		
Bilirrubina total	□□,□	mg/dL		
Direta	□□,□	mg/dL		
Indireta	□□,□	mg/dL		

Data da coleta: □□-□□-□□

**49. CARGA VIRAL DO HIV**

Não se aplica (voluntários do grupo controle)

Exame	Resultado		Não realizado	Comentários
	Valor	Unidade		
Quantificação de RNA viral		cópias/mL		
		log <sub>10</sub>		

Data da coleta: □□-□□-□□

**50. SUBTIPAGEM DE LINFÓCITOS**

Não se aplica (voluntários do grupo controle)

Exame	Resultado		Não realizado	Comentários
	Valor	Unidade		
CD4	□□□□	cels/mm <sup>3</sup>		
CD8	□□□□	cels/mm <sup>3</sup>		
CD3	□□□□	cels/mm <sup>3</sup>		

Data da coleta: □□-□□-□□

Rubrica \_\_\_\_\_  
Data \_\_\_\_\_

**EXAMES LABORATORIAIS - OUTROS**

VERSÃO 1.0, 04/MAR/10

<b>PROTOCOLO</b> VIP-H1N1	<b>GRUPO</b> <input type="checkbox"/> Controle <input type="checkbox"/> HIV	<b>Consulta</b> DIA 21 Página 21	<b>Iniciais</b> □□□	<b>No de Triagem</b> □□□□ <b>No de inclusão</b> □-□□□	<b>Data</b> □□-□□-□□
------------------------------	---	--	------------------------	--	-------------------------

**51. TESTE DE GRAVIDEZ**

Não se aplica (mulheres sem potencial reprodutivo ou homens)

Tipo de teste	Resultado		Não realizado	Comentários
	Valor	Unidade		

Data da coleta: □□-□□-□□

**52. SORO PARA REALIZAÇÃO DE SOROLOGIA H1N1**

O soro foi armazenado de acordo com o especificado no protocolo?

sim                       não – justifique: \_\_\_\_\_

**53. CÉLULAS PARA REALIZAÇÃO DE EXAMES DE IMUNIDADE CELULAR**

Não se aplica (voluntários não selecionado para o sub-estudo)

O material foi armazenado de acordo com o especificado no protocolo?

sim                       não – justifique: \_\_\_\_\_

Rubrica \_\_\_\_\_

Data \_\_\_\_\_

VACINAÇÃO – H1N1  
VERSÃO 1.0, 04/MAR/10

<b>PROTOCOLO</b> VIP-H1N1	<b>GRUPO</b> <input type="checkbox"/> Controle <input type="checkbox"/> HIV	<b>Consulta</b> DIA 21 Página 22	<b>Iniciais</b> □□□	<b>No de Triagem</b> □□□□ <b>No de inclusão</b> □-□□□	<b>Data</b> □□-□□-□□
------------------------------	---	--	------------------------	--	-------------------------

54. VACINAÇÃO CONTRA INFLUENZA A H1N1 – SEGUNDA DOSE

Não se aplica (voluntário do grupo controle)

Não indicada – motivo:

Voluntário teve evento adverso graus 3 ou 4, atribuído à vacina, após 1ª. dose

Teste de gravidez com resultado positivo hoje

Alteração de força muscular e/ou reflexos de MMII após 1ª dose

Voluntário com doença clínica relevante nesse momento

Outro – qual? \_\_\_\_\_

Realizada:

Número do frasco de vacina: □□□

Dose aplicada:  0,5 mL (3,75 mcg)       1,0 mL (7,50 mcg)

Local da aplicação:

Região deltóide de membro superior  esquerdo       direito

Outra – qual? \_\_\_\_\_

Hora da aplicação (24 horas): □□:□□ hs

Rúbrica \_\_\_\_\_

Data \_\_\_\_\_

VACINAÇÃO - SAZONAL  
VERSÃO 1.0, 04/MAR/10

<b>PROTOCOLO</b> VIP-H1N1	<b>GRUPO</b> <input type="checkbox"/> Controle <input type="checkbox"/> HIV	<b>Consulta</b> DIA 21 Página 23	<b>Iniciais</b> □□□	<b>No de Triagem</b> □□□□  <b>No de inclusão</b> □-□□□	<b>Data</b> □□-□□-□□
------------------------------	---	--	------------------------	--	-------------------------

**55. VACINAÇÃO CONTRA INFLUENZA SAZONAL**

- Não indicada – motivo:
- Voluntário teve evento adverso graus 3 ou 4, atribuído à vacina contra influenza sazonal, após 1ª dose
  - Teste de gravidez com resultado positivo hoje
  - Alteração de força muscular e/ou reflexos de MMII após 1ª dose
  - Voluntário com doença clínica relevante nesse momento
  - Outro – qual? \_\_\_\_\_

Realizada:

Nome da vacina \_\_\_\_\_ Fabricante: \_\_\_\_\_

Número do lote de vacina: □□□

Dose aplicada: □, □ mL

**Local da aplicação:**

- Região deltóide de membro superior  esquerdo  direito
- Outra – qual? \_\_\_\_\_

**Hora da aplicação (24 horas):** □□:□□ hs

Rubrica \_\_\_\_\_

Data \_\_\_\_\_

**REATOGENICIDADE**  
VERSÃO 1.0, 04/MAR/10

<b>PROTOCOLO</b>  VIP-H1N1	<b>GRUPO</b> <input type="checkbox"/> Controle <input type="checkbox"/> HIV	<b>Consulta</b>  DIA 21  Página 24	<b>Iniciais</b>  □□□	<b>No de Triagem</b> □□□□  <b>No de inclusão</b> □-□□□	<b>Data</b> □□-□□-□□
----------------------------------	---	--	----------------------------	--	-------------------------

**56. REATOGENICIDADE**

Algum dos sintomas ou sinais abaixo foi identificado durante o período de observação?

Sim       Não

Sinal ou sintoma	Hora de início	Hora da resolução *	Intensidade máxima alcançada
<b>No local de aplicação da vacina</b>			
Dor			
Reação ao toque			
Eritema / vermelhidão			
Nódulo			
Edema			
<b>Sistêmicos (listar de acordo com as instrução ao lado)</b>			

\* se continuar ao término do período de observação escrever CONT e anotar no diário do voluntário as informações, para que ele marque data e horário de término

**Hora do término da observação (24 horas):** □□:□□ hs

Rubrica \_\_\_\_\_  
Data \_\_\_\_\_

<b>PROTOCOLO</b>  VIP-H1N1	<b>GRUPO</b> <input type="checkbox"/> Controle <input type="checkbox"/> HIV	<b>Consulta</b>  DIA 21  Página 25	<b>Iniciais</b>  □□□	<b>No de Triagem</b> □□□□  <b>No de inclusão</b> □-□□□	<b>Data</b> □□-□□-□□
----------------------------------	---	--	----------------------------	--	-------------------------

Ao final desta consulta:

Conduta	Responsável (rubrica)	Data	Observações
Verificar se todos os exames laboratoriais foram colhidos e encaminhados para o laboratório			
Verificar se os dados do prontuário estão completos para a captura nessa ficha			
Marcar consulta telefônica para 20 a 36 horas após o horário da vacina Data □□-□□-□□ Hora □□:□□ h			
Marcar consulta telefônica para 7 dias (+ 1 dia) após o dia da vacinação Data □□-□□-□□ Hora □□:□□ h			
Marcar consulta para a segunda consulta de vacinação , 21 dias depois desta (janela de zero a mais 4 dias) Data □□-□□-□□			
Preencher páginas de exames laboratoriais quando os resultados estiverem disponíveis			
Preencher os formulários páginas 18 a 23			
Atualizar a planilha de identificação dos voluntários			
Recolher o diário dado ao voluntário na consulta de dia zero			
Fornecer outro diário ao voluntário			

## CONSULTAS TELEFÔNICAS

VERSÃO 1.0, 04/MAR/10

<b>PROTOCOLO</b> VIP-H1N1	<b>GRUPO</b> <input type="checkbox"/> Controle <input type="checkbox"/> HIV	<b>Consulta</b> DIAS 22 e 27  Página 26	<b>Iniciais</b> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<b>No de Triagem</b> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>  <b>No de inclusão</b> <input type="checkbox"/> - <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>
------------------------------	---	--	---	---

**57. Contato telefônico 20 a 36 horas após a vacinação** Não realizado – justifique: \_\_\_\_\_Realizado em (dd/mm/aa) --, às : hs**Nesse contato foi:**Perguntado sobre reações à vacina?  Sim  NãoReforçadas orientações sobre preenchimento do diário?  Sim  NãoConfirmado o próximo contato telefônico?  Sim  NãoAs informações estão registradas no prontuário?  Sim  Não

Realizado por (rubrica): \_\_\_\_\_

**58. Contato telefônico 7 a 8 dias após a vacinação** Não realizado – justifique: \_\_\_\_\_Realizado em (dd/mm/aa) --, às : hs**Nesse contato foi:**Perguntado sobre reações à vacina?  Sim  NãoReforçadas orientações sobre preenchimento do diário?  Sim  NãoConfirmada a próxima consulta?  Sim  NãoAs informações estão registradas no prontuário?  Sim  Não

Realizado por (rubrica): \_\_\_\_\_

HISTÓRIA MÉDICA  
VERSÃO 1.0, 04/MAR/10

<b>PROTOCOLO</b>  VIP-H1N1	<b>GRUPO</b> <input type="checkbox"/> Controle <input type="checkbox"/> HIV	<b>Consulta</b>  DIA 42  Página 27	<b>Iniciais</b>  □□□	<b>No de Triagem</b>  □□□□  <b>No de inclusão</b>  □-□□□	<b>Data</b>  □□-□□-□□
----------------------------------	---	--	----------------------------	--	-----------------------------

Consulta não realizada – motivo: \_\_\_\_\_

**59. Algum novo sintoma, sinal, alteração de exame laboratorial ou diagnóstico foi identificado desde a triagem?**

Não  Sim (preencher folha de eventos adversos)

**60. O voluntário usou algum medicamento desde a última consulta até hoje?**  Não  Sim (preencher folha de medicação concomitante)

**61. O voluntário continua participando do estudo?**

Sim  Não – motivo:  perda de acompanhamento  
 Retirada de consentimento  
 Outro – qual? \_\_\_\_\_

**62. Houve alguma alteração de exame físico em relação à consulta anterior?**  Não  Sim (preencher folha de eventos adversos)

**63. EXAME NEUROLÓGICO**

	Não realizado	Normal	Anormal - descrever
Geral	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Reflexos patelares e calcâneos	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Força muscular em membros inferiores e posteriores	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

**64. SINAIS VITAIS E MEDIDAS**

Não realizado

Pressão arterial (mmHg) sistólica e diastólica	
Frequência cardíaca (bpm)	
Temperatura axilar (graus centígrados)	
Frequência respiratória (mipm)	
Peso (kg)	

Rubrica \_\_\_\_\_

Data \_\_\_\_\_

**EXAMES LABORATORIAIS – HEMATOLOGIA**

Versão 1.0 de 04/MAR/10

<b>PROTOCOLO</b>  VIP-H1N1	<b>GRUPO</b> <input type="checkbox"/> Controle <input type="checkbox"/> HIV	<b>Consulta</b>  DIA 42  Página 28	<b>Iniciais</b>  □□□	<b>No de triagem</b>  □□□□ <b>No de inclusão</b>  □-□□□	<b>Data</b>  □□-□□-□□
----------------------------------	---	--	----------------------------	--	-----------------------------

**65. HEMOGRAMA**

Exame	Resultado		Não realizado	Comentários
	Valor	Unidade		
Hemácias	□□□□□□	/mm <sup>3</sup>		
Hemoglobina	□□,□	g/dL		
Hematócrito	□□,□	%		
VCM	□□□,□	μm <sup>3</sup>		
Leucócitos totais	□□□□□	/mm <sup>3</sup>		
Basófilos	□□			
Eosinófilos	□□			
Mielócitos	□□			
Metamielócitos	□□ <sub>2</sub>			
Bastões	□□			
Segmentados	□□			
Linfócitos	□□			
Linfócitos atípicos	□□			
Monócitos	□□			
Plaquetas	□□□□□□			
Observações				

Data da coleta: □□-□□-□□

Rubrica \_\_\_\_\_  
Data \_\_\_\_\_

**EXAMES LABORATORIAIS – BIOQUÍMICA, CD4 E CV**

Versão 1.0 de 04/MAR/10

<b>PROTOCOLO</b>  VIP-H1N1	<b>GRUPO</b> <input type="checkbox"/> Controle <input type="checkbox"/> HIV	<b>Consulta</b>	<b>Iniciais</b>	<b>No de triagem</b>	<b>Data</b>
		DIA 42	□□□	□□□□ No de inclusão □-□□□	□□-□□-□□
		Página 29			

**66. BIOQUÍMICA**

Exame	Resultado		Não realizado	Comentários
	Valor	Unidade		
TGO/AST	□□□□	U/L		
TGP/ALT	□□□□	U/L		
Bilirrubina total	□□,□	mg/dL		
Direta	□□,□	mg/dL		
Indireta	□□,□	mg/dL		

Data da coleta: □□-□□-□□

**67. CARGA VIRAL DO HIV**

Não se aplica (voluntários do grupo controle)

Exame	Resultado		Não realizado	Comentários
	Valor	Unidade		
Quantificação de RNA viral		cópias/mL		
		log <sub>10</sub>		

Data da coleta: □□-□□-□□

**68. SUBTIPAGEM DE LINFÓCITOS**

Não se aplica (voluntários do grupo controle)

Exame	Resultado		Não realizado	Comentários
	Valor	Unidade		
CD4	□□□□	cels/mm <sup>3</sup>		
CD8	□□□□	cels/mm <sup>3</sup>		
CD3	□□□□	cels/mm <sup>3</sup>		

Data da coleta: □□-□□-□□

Rubrica \_\_\_\_\_  
Data \_\_\_\_\_

**EXAMES LABORATORIAIS - OUTROS**

VERSÃO 1.0, 04/MAR/10

PROTOCOLO	GRUPO	Consulta	Iniciais	No de Triagem	Data
VIP-H1N1	<input type="checkbox"/> Controle <input type="checkbox"/> HIV	DIA 42  Página 30	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>  No de inclusão <input type="checkbox"/> - <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> - <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> - <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>

**69. SORO PARA REALIZAÇÃO DE SOROLOGIA H1N1**

O soro foi armazenado de acordo com o especificado no protocolo?

 sim                       não – justifique: \_\_\_\_\_**70. CÉLULAS PARA REALIZAÇÃO DE EXAMES DE IMUNIDADE CELULAR** Não se aplica (voluntário não selecionado para o sub-estudo)

O material foi armazenado de acordo com o especificado no protocolo?

 sim                       não – justifique: \_\_\_\_\_

Rubrica \_\_\_\_\_

Data \_\_\_\_\_

**CONDUTA**  
VERSÃO 1.1, 14/MAR/10

<b>PROTOCOLO</b>  VIP-H1N1	<b>GRUPO</b> <input type="checkbox"/> Controle <input type="checkbox"/> HIV	<b>Consulta</b>  DIA 42  Página 31	<b>Iniciais</b>  □□□	<b>No de Triagem</b> □□□□  <b>No de inclusão</b> □-□□□	<b>Data</b> □□-□□-□□
----------------------------------	---	--	----------------------------	--	-------------------------

Ao final desta consulta:

Conduta	Responsável (rubrica)	Data	Observações
Verificar se todos os exames laboratoriais foram colhidos e encaminhados para o laboratório			
Verificar se os dados do prontuário estão completos para a captura nessa ficha			
Marcar consulta de 8 semanas pós 1ª dose de vacina , 15 dias depois desta (janela de mais ou menos 7 dias) Data □□-□□-□□			
Preencher páginas de exames laboratoriais quando os resultados estiverem disponíveis			
Preencher os formulários páginas 27 a 30			
Atualizar a planilha de identificação dos voluntários			
Recolher o diário dado ao voluntário na consulta de dia 21			

**HISTÓRIA MÉDICA**  
VERSÃO 1.0, 04/MAR/10

PROCOLO  VIP-H1N1	GRUPO <input type="checkbox"/> Controle <input type="checkbox"/> HIV	Consulta	Iniciais	No de Triagem	Data
		DIA 57  Página 32	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>  No de inclusão <input type="checkbox"/> - <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> - <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> - <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>

Consulta não realizada – motivo: \_\_\_\_\_

**71. Algum novo sintoma, sinal, alteração de exame laboratorial ou diagnóstico foi identificado desde a triagem?**

Não  Sim (preencher folha de eventos adversos)

**72. O voluntário usou algum medicamento desde a última consulta até hoje?**  Não  Sim (preencher folha de medicação concomitante)

**73. O voluntário continua participando do estudo?**

Sim  Não – motivo:  perda de acompanhamento  
 Retirada de consentimento  
 Outro – qual? \_\_\_\_\_

**74. Houve alguma alteração de exame físico em relação à consulta anterior?**  Não  Sim (preencher folha de eventos adversos)

**75. EXAME NEUROLÓGICO**

	Não realizado	Normal	Anormal - descrever
Geral	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Reflexos patelares e calcâneos	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Força muscular em membros inferiores e posteriores	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

**76. SINAIS VITAIS E MEDIDAS**

Não realizado

Pressão arterial (mmHg) sistólica e diastólica	
Frequência cardíaca (bpm)	
Temperatura axilar (graus centígrados)	
Frequência respiratória (mipm)	
Peso (kg)	

Rubrica \_\_\_\_\_

Data \_\_\_\_\_

**EXAMES LABORATORIAIS – BIOQUÍMICA, CD4 E CV**

Versão 1.0 de 04/MAR/10

PROTOCOLO  VIP-H1N1	GRUPO <input type="checkbox"/> Controle <input type="checkbox"/> HIV	Consulta	Iniciais	No de triagem	Data
		DIA 57	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> No de inclusão <input type="checkbox"/> - <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> - <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> - <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>
		Página 33			

**77. CARGA VIRAL DO HIV**

Não se aplica (voluntários do grupo controle)

Exame	Resultado		Não realizado	Comentários
	Valor	Unidade		
Quantificação de RNA viral		cópias/mL		
		log <sub>10</sub>		

Data da coleta: --

**78. SUBTIPAGEM DE LINFÓCITOS**

Não se aplica (voluntários do grupo controle)

Exame	Resultado		Não realizado	Comentários
	Valor	Unidade		
CD4	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	cels/mm <sup>3</sup>		
CD8	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	cels/mm <sup>3</sup>		
CD3	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	cels/mm <sup>3</sup>		

Data da coleta: --

**79. SORO PARA REALIZAÇÃO DE SOROLOGIA H1N1**

O soro foi armazenado de acordo com o especificado no protocolo?

sim                       não – justifique: \_\_\_\_\_

Rubrica \_\_\_\_\_

Data \_\_\_\_\_

<b>PROTOCOLO</b>  VIP-H1N1	<b>GRUPO</b> <input type="checkbox"/> Controle <input type="checkbox"/> HIV	<b>Consulta</b>  DIA 57  Página 34	<b>Iniciais</b>  □□□	<b>No de Triagem</b> □□□□  <b>No de inclusão</b> □-□□□	<b>Data</b> □□-□□-□□
----------------------------------	---	--	----------------------------	--	-------------------------

Ao final desta consulta:

Conduta	Responsável (rubrica)	Data	Observações
Verificar se todos os exames laboratoriais foram colhidos e encaminhados para o laboratório			
Verificar se os dados do prontuário estão completos para a captura nessa ficha			
<b>Para os voluntários do grupo controle:</b> Marcar consulta de 16 semanas pós 1ª dose de vacina, 56 dias depois desta (janela de mais ou menos 7 dias) Data □□-□□-□□			
<b>Para os voluntários do grupo HIV:</b> Marcar consulta de 8 semanas pós 2ª dose de vacina, 20 dias depois desta (janela de mais ou menos 7 dias) Data □□-□□-□□			
Preencher páginas de exames laboratoriais quando os resultados estiverem disponíveis			
Preencher os formulários páginas 32 e 33			
Atualizar a planilha de identificação dos voluntários			

**HISTÓRIA MÉDICA**  
**VERSÃO 1.0, 04/MAR/10**

<b>PROTOCOLO</b>  VIP-H1N1	<b>GRUPO</b> <input type="checkbox"/> Controle <input type="checkbox"/> HIV	<b>Consulta</b>  DIA 77  Página 35	<b>Iniciais</b>  □□□	<b>No de Triagem</b> □□□□  <b>No de inclusão</b> □-□□□	<b>Data</b> □□-□□-□□
----------------------------------	---	--	----------------------------	--	-------------------------

Consulta não realizada – motivo:  Voluntário do grupo controle  
 Outro – qual? \_\_\_\_\_

**80. Algum novo sintoma, sinal, alteração de exame laboratorial ou diagnóstico foi identificado desde a triagem?**

Não  Sim (preencher folha de eventos adversos)

**81. O voluntário usou algum medicamento desde a última consulta até hoje?**  Não  Sim (preencher folha de medicação concomitante)

**82. O voluntário continua participando do estudo?**

Sim  Não – motivo:  Perda de acompanhamento  
 Retirada de consentimento  
 Outro – qual? \_\_\_\_\_

**83. Houve alguma alteração de exame físico em relação à consulta anterior?**  Não  Sim (preencher folha de eventos adversos)

**84. EXAME NEUROLÓGICO**

	Não realizado	Normal	Anormal - descrever
Geral	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Reflexos patelares e calcâneos	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Força muscular em MMII e MMSS	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

**85. SINAIS VITAIS E MEDIDAS**

Não realizado

Pressão arterial (mmHg) sistólica e diastólica	
Frequência cardíaca (bpm)	
Temperatura axilar (graus centígrados)	
Frequência respiratória (mipm)	
Peso (kg)	

**86. SORO PARA REALIZAÇÃO DE SOROLOGIA H1N1**

O soro foi armazenado de acordo com o especificado no protocolo?

sim  não – justifique: \_\_\_\_\_

Rubrica \_\_\_\_\_

Data \_\_\_\_\_

**CONDUTA**  
VERSÃO 1.1, 14/MAR/10

<b>PROTOCOLO</b>  VIP-H1N1	<b>GRUPO</b> <input type="checkbox"/> Controle <input type="checkbox"/> HIV	<b>Consulta</b>  DIA 77  Página 36	<b>Iniciais</b>  □□□	<b>No de Triagem</b> □□□□  <b>No de inclusão</b> □-□□□	<b>Data</b> □□-□□-□□
----------------------------------	---	--	----------------------------	--	-------------------------

Ao final desta consulta:

Conduta	Responsável (rubrica)	Data	Observações
Verificar se o sangue para a sorologia foi colhido e encaminhado ao laboratório			
Verificar se os dados do prontuário estão completos para a captura nessa ficha			
Marcar consulta de 16 semanas pós 1ª dose de vacina, 36 dias depois desta (janela de mais ou menos 7 dias) Data □□-□□-□□			
Preencher o formulário página 35			
Atualizar a planilha de identificação dos voluntários			

<b>PROTOCOLO</b>  VIP-H1N1	<b>GRUPO</b> <input type="checkbox"/> Controle <input type="checkbox"/> HIV	<b>Consulta</b>  DIA 113  Página 37	<b>Iniciais</b>  □□□	<b>No de Triagem</b>  □□□□  <b>No de inclusão</b>  □-□□□	<b>Data</b>  □□-□□-□□
----------------------------------	---	---	----------------------------	--	-----------------------------

Consulta não realizada – motivo: \_\_\_\_\_

87. Algum novo sintoma, sinal, alteração de exame laboratorial ou diagnóstico foi identificado desde a triagem?

Não       Sim (preencher folha de eventos adversos)

88. O voluntário usou algum medicamento desde a última consulta até hoje?  Não  Sim (preencher folha de medicação concomitante)

89. O voluntário continua participando do estudo?

Sim       Não – motivo:  Perda de acompanhamento  
 Retirada de consentimento  
 Outro – qual? \_\_\_\_\_

90. Houve alguma alteração de exame físico em relação à consulta anterior?  Não  Sim (preencher folha de eventos adversos)

**91. EXAME NEUROLÓGICO**

	Não realizado	Normal	Anormal - descrever
Geral	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Reflexos patetares e calcâneos	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Força muscular em MMII e MMSS	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

**92. SINAIS VITAIS E MEDIDAS**

Não realizado

Pressão arterial (mmHg) sistólica e diastólica	
Frequência cardíaca (bpm)	
Temperatura axilar (graus centígrados)	
Frequência respiratória (mipm)	
Peso (kg)	

**93. SORO PARA REALIZAÇÃO DE SOROLOGIA H1N1**

O soro foi armazenado de acordo com o especificado no protocolo?

sim       não – justifique: \_\_\_\_\_

Rubrica \_\_\_\_\_

Data \_\_\_\_\_

**CONDUTA**  
VERSÃO 1.1, 14/MAR/10

<b>PROTOCOLO</b>  VIP-H1N1	<b>GRUPO</b> <input type="checkbox"/> Controle <input type="checkbox"/> HIV	<b>Consulta</b>  DIA 113  Página 38	<b>Iniciais</b>  □□□	<b>No de Triagem</b> □□□□  <b>No de inclusão</b> □-□□□	<b>Data</b> □□-□□-□□
----------------------------------	---	---	----------------------------	--	-------------------------

Ao final desta consulta:

Conduta	Responsável (rubrica)	Data	Observações
Verificar se o sangue para a sorologia foi colhido e encaminhado ao laboratório			
Verificar se os dados do prontuário estão completos para a captura nessa ficha			
<b>Para os voluntários do grupo controle:</b> Marcar consulta de 24 semanas pós 1ª dose de vacina, 56 dias depois desta (janela de mais ou menos 7 dias) Data □□-□□-□□			
<b>Para os voluntários do grupo HIV:</b> Marcar consulta de 16 semanas pós 2ª dose de vacina, 20 dias depois desta (janela de mais ou menos 7 dias) Data □□-□□-□□			
Preencher o formulário página 37			
Atualizar a planilha de identificação dos voluntários			

**HISTÓRIA MÉDICA**  
**VERSÃO 1.0, 04/MAR/10**

<b>PROTOCOLO</b>  VIP-H1N1	<b>GRUPO</b> <input type="checkbox"/> Controle <input type="checkbox"/> HIV	<b>Consulta</b>  DIA 133  Página 39	<b>Iniciais</b>  □□□	<b>No de Triagem</b> □□□□  <b>No de inclusão</b> □-□□□	<b>Data</b> □□-□□-□□
----------------------------------	---	---	----------------------------	--	-------------------------

Consulta não realizada – motivo:  Voluntário do grupo controle  
 Outro – qual? \_\_\_\_\_

**94. Algum novo sintoma, sinal, alteração de exame laboratorial ou diagnóstico foi identificado desde a triagem?**

Não  Sim (preencher folha de eventos adversos)

**95. O voluntário usou algum medicamento desde a última consulta até hoje?**  Não  Sim (preencher folha de medicação concomitante)

**96. O voluntário continua participando do estudo?**

Sim  Não – motivo:  Perda de acompanhamento  
 Retirada de consentimento  
 Outro – qual? \_\_\_\_\_

**97. Houve alguma alteração de exame físico em relação à consulta anterior?**  Não  Sim (preencher folha de eventos adversos)

**98. EXAME NEUROLÓGICO**

	Não realizado	Normal	Anormal - descrever
Geral	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Reflexos patelares e calcâneos	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Força muscular em MMII e MMSS	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

**99. SINAIS VITAIS E MEDIDAS**

Não realizado

Pressão arterial (mmHg) sistólica e diastólica	
Frequência cardíaca (bpm)	
Temperatura axilar (graus centígrados)	
Frequência respiratória (mipm)	
Peso (kg)	

**100. SORO PARA REALIZAÇÃO DE SOROLOGIA H1N1**

O soro foi armazenado de acordo com o especificado no protocolo?

sim  não – justifique: \_\_\_\_\_

Rubrica \_\_\_\_\_

Data \_\_\_\_\_

**CONDUTA**  
VERSÃO 1.1, 14/MAR/10

<b>PROTOCOLO</b>  VIP-H1N1	<b>GRUPO</b> <input type="checkbox"/> Controle <input type="checkbox"/> HIV	<b>Consulta</b>  DIA 133  Página 40	<b>Iniciais</b>  □□□	<b>No de Triagem</b> □□□□  <b>No de inclusão</b> □-□□□	<b>Data</b> □□-□□-□□
----------------------------------	---	---	----------------------------	--	-------------------------

Ao final desta consulta:

Conduta	Responsável (rubrica)	Data	Observações
Verificar se o sangue para a sorologia foi colhido e encaminhado ao laboratório			
Verificar se os dados do prontuário estão completos para a captura nessa ficha			
Marcar consulta de 24 semanas pós 1ª dose de vacina, 36 dias depois desta (janela de mais ou menos 7 dias) Data □□-□□-□□			
Preencher o formulário página 39			
Atualizar a planilha de identificação dos voluntários			

DIÁRIO DO VOLUNTÁRIO  
VERSÃO 1.0, 04/MAR/10

PROTOCOLO VIP-H1N1	Iniciais □□	No de Triagem □□□□ No de inclusão □-□□□	Página 1	Entregue ao voluntário em (dd - mm - aa) □□-□□-□□	Devolvido pelo voluntário em (dd - mm - aa) □□-□□-□□
-----------------------	----------------	--	----------	---	--

Prezado voluntário,

Por favor, anote (ou peça para alguém anotar) qualquer reação, sintoma ou doença que você apresente entre a vacinação e sua próxima consulta com a equipe do estudo. Tente não esquecer nenhuma informação e ser o mais exato possível ao anotar datas, horas e demais respostas. Suas anotações são muito importantes para avaliarmos os efeitos da vacina.

Reações no local da vacina

1. Você teve dor no local da vacina?

Não (passe para a pergunta 2)  Sim

Data de início \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_ ou  Continua com a dor

A dor interferiu em alguma de suas atividades?  Não  Sim

Você teve que usar algum analgésico comum por mais de 24 horas?

Não  Sim - qual? \_\_\_\_\_ quantas doses?

Você teve que usar algum analgésico de receituário especial?

Não  Sim - qual? \_\_\_\_\_ quantas doses?

A dor impediu que você fizesse todas as suas atividades diárias?  Não  Sim

Você teve que procurar atendimento de emergência por causa da dor?  Não  Sim

Você teve que ser hospitalizado por causa da dor?  Não  Sim

DIÁRIO DO VOLUNTÁRIO  
VERSÃO 1.0, 04/MAR/10

PROTÓCOLO VIP-H1N1	Iniciais □□	No de Triagem □□□□ No de inclusão □-□□□□	Página 2	Entregue ao voluntário em (dd - mm - aa) □□-□□-□□	Devolvido pelo voluntário em (dd - mm - aa) □□-□□-□□
-----------------------	----------------	---	----------	---	--

2. Você sentiu algum desconforto no local da vacina?

- Não (passe para a pergunta 3)  Sim      Data de início \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_  
Data de fim \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_ ou  Continua com a sensação

Como é essa sensação?

- Um discreto desconforto ao tocar o local  
 Um desconforto ao se movimentar, mesmo sem tocar no local  
 Um desconforto mesmo sem se movimentar

- Você teve que procurar atendimento de emergência por causa do desconforto?  Não  Sim  
 Você teve que ser hospitalizado por causa do desconforto?  Não  Sim

3. O local da vacina ficou vermelho?

- Não (passe para a pergunta 4)  Sim      Data de início \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_  
Data de fim \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_ ou  Continua vermelho

Por favor, meça com uma régua ou fita métrica o tamanho da mancha vermelha – quantos centímetros tem a mancha? \_\_\_\_\_ cm

- O centro da mancha ficou preto e afundado?  Não  Sim  
 A mancha descamou?  Não  Sim

DIÁRIO DO VOLUNTÁRIO  
VERSÃO 1.0, 04/MAR/10

PROTOCOLO VIP-H1N1	Iniciais □□□	No de Triagem □□□□ No de inclusão □-□□□	Página 3	Entregue ao voluntário em (dd - mm - aa) □□-□□-□□	Devolvido pelo voluntário em (dd - mm - aa) □□-□□-□□
-----------------------	-----------------	--	----------	---	--

4. Apareceu algum nódulo (endurecimento) ou inchaço no local da vacina?

- Não (passe para a pergunta 5)  Sim    Data de início \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_  
Data de fim \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_ ou  Ainda continua

Por favor, meça com uma régua ou fita métrica o tamanho do nódulo ou do inchaço – quantos centímetros tem a reação? \_\_\_ cm  
Essa reação interferiu em alguma de suas atividades?  Não  Sim  
Essa reação impediu que você fizesse todas as suas atividades diárias?  Não  Sim

5. Você teve febre maior que 37,5 °C?

- Não (passe para a pergunta 6)  Sim    Data de início \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_  
Data de fim \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_ ou  Ainda continua

Qual foi a temperatura mais alta que você teve? \_\_\_\_\_ °C

**DIÁRIO DO VOLUNTÁRIO**  
VERSÃO 1.0, 04/MAR/10

<b>PROTOCOLO</b> VIP-H1N1	<b>Iniciais</b> □□□	<b>No de Triagem</b> □□□□ <b>No de inclusão</b> □-□□□	<b>Página 4</b>	<b>Entregue ao voluntário em</b> (dd - mm - aa) □□-□□-□□	<b>Devolvido pelo voluntário em</b> (dd - mm - aa) □□-□□-□□
------------------------------	------------------------	--	-----------------	--	---

6. Você teve algum outro sintoma ou doença desde a aplicação da vacina?

- Não     Sim (preencha as informações abaixo)

Nome do sintoma ou doença	Data de início	Data de fim (se continua, deixar em branco)	Tomou algum remédio?		Se tomar, especifique:				
			Não	Sim	Nome	Doses por dia	Data de início	Data de fim	

**Não esqueça de trazer esse diário na sua próxima consulta do estudo.**

**Obrigada!**



CATEGORIA POP tecnico	REVISÃO 01	PÁGINA 1/9	CÓDIGO <b>POP-LVRS-TVR-008</b>
--------------------------	---------------	---------------	-----------------------------------

TÍTULO

## ***REAÇÃO DE HEMAGLUTINAÇÃO***

### **SUMÁRIO**

- 1. Objetivo*
- 2. Campo de Aplicação*
- 3. Definições*
- 4. Siglas*
- 5. Condições Gerais*
- 6. Condições de Biossegurança*
- 7. Equipamentos*
- 8. Materiais/Reagentes*
- 9. Lavagem das hemácias*
- 10. Realização do teste de hemaglutinação*
- 11. Interpretação do teste*
- 12. Referências Bibliográficas*
- 13. Histórico da última revisão*

ELABORADO MURILO KRAWCZUK	VERIFICADO THIAGO MORENO	APROVADO MARILDA SIQUEIRA	DATA 17/05/2010
------------------------------	-----------------------------	------------------------------	--------------------



CATEGORIA POP tecnico	REVISÃO 01	PÁGINA 2/9	CÓDIGO <b>POP-LVRS-TVR-008</b>
--------------------------	---------------	---------------	-----------------------------------

TÍTULO

## **REAÇÃO DE HEMAGLUTINAÇÃO**

### 1. **OBJETIVO**

Este POP fixa condições, padroniza, define e estabelece regras que devem ser aplicadas no LVRS, visando a realização de reação de hemaglutinação para detecção do vírus de influenza isolado em cultura de células e ovos embrionados.

### 2. **CAMPO DE APLICAÇÃO**

Este POP aplica-se ao procedimento da técnica de hemaglutinação em amostras isoladas em cultivo celular ou em ovos embrionados oriundos espécimes clínicas processadas no LVRS, IOC, FIOCRUZ.

### 3. **DEFINIÇÕES**

Devido a propriedade dos vírus influenza em aglutinar eritrócitos de algumas espécies animais, detectaremos a presença deste vírus em amostras isolados pela hemaglutinação.

### 4. **SIGLAS**

São usadas no texto deste POP as seguintes siglas:

FIOCRUZ	Fundação Oswaldo Cruz
IOC	Instituto Oswaldo Cruz
LVRS	Laboratório de Vírus Respiratórios e do Sarampo
HA	Reação de Hemaglutinação
rpm	Rotações por minuto
PBS	Solução salina tamponada 0,01 M, pH=7.3 ( $\pm$ 0.1)
EPI	Equipamento de proteção individual
CH	Controle de hemácias



CATEGORIA POP tecnico	REVISÃO 01	PÁGINA 3/9	CÓDIGO <b>POP-LVRS-TVR-008</b>
--------------------------	---------------	---------------	-----------------------------------

TÍTULO

## ***REAÇÃO DE HEMAGLUTINAÇÃO***

### **5. CONDIÇÕES GERAIS**

- 5.1. Cuidados especiais devem ser tomados para evitar a contaminação ambiental, contaminação cruzada e a infecção humana através aerossóis gerados durante a manipulação.
- 5.2. O ensaio de hemaglutinação deve ser realizado em placas de microtitulação em polipropileno, descartáveis com 96 orifícios de fundo em "V" ou em "U" de acordo com a tabela 1;
- 5.3. Todo o procedimento de distribuição e diluição das amostras a serem testadas, deve ser feito em capelas de segurança biológica do tipo II, evitando-se contaminação do operador ou do ambiente;
- 5.4. Todo o ensaio deverá ser realizado em temperatura ambiente;
- 5.5. Utilizar o formulário F13;
- 5.6. Durante a homogeneização das hemácias deve-se tomar cuidado para que seja feita de maneira suave, evitando-se a lise das mesmas;
- 5.7. A suspensão de hemácias deve ser guardada em geladeira;
- 5.8. A concentração das hemácias, o tempo de incubação da reação e o modelo animal utilizado no ensaio dependem do tipo de placa utilizado, conforme Tabela 1.
- 5.9. Antes da realização do ensaio, os seguintes cuidados devem ser tomados:
  - 5.9.1. As bancadas devem ser descontaminadas com hipoclorito a 5%;
  - 5.9.2. O interior das cabines de segurança biológica deve ser descontaminado com hipoclorito a 5% e UV por 15 minutos.
  - 5.9.3. Os pipetadores devem ser descontaminados com hipoclorito a 5%



CATEGORIA POP tecnico	REVISÃO 01	PÁGINA 4/9	CÓDIGO <b>POP-LVRS-TVR-008</b>
--------------------------	---------------	---------------	-----------------------------------

TÍTULO

## **REAÇÃO DE HEMAGLUTINAÇÃO**

TABELA 1- Concentração das hemácias, o tempo de incubação da reação e o modelo animal utilizado no ensaio

ANIMAL	GALINHA	PERU	COBAIO	HUMANO "O"
Concentração da hemácia	0,5 %	0,5 %	0,75%	0,75%
Tipo de poço da placa	"V"	"V"	"U"	"U"
Tempo de incubação	30 minutos	30 minutos	1 hora	1 hora
Controle de hemácias	botão	botão	halo	halo

### 5.10. Soluções e suspensões

#### 5.10.1. SOLUÇÃO DE PBS A 1X, 0.01M, pH=7.2, ±0,1:

5.10.1.1. Preparar uma solução estoque 25x concentrada, em um volume de 100 mL.

Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> (Fosfato de Sódio Dibásico Anidro) .....2,74g

NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> (Fosfato de Sódio Monobásico Monohidratado) .....0,79g

5.10.1.2. Para preparar a solução de PBS de uso, misturar e dissolver em água destilada:

40 mL da solução 25X concentrada



CATEGORIA POP tecnico	REVISÃO 01	PÁGINA 5/9	CÓDIGO <b>POP-LVRS-TVR-008</b>
--------------------------	---------------	---------------	-----------------------------------

TÍTULO

## **REAÇÃO DE HEMAGLUTINAÇÃO**

8,5 g de NaCl (Cloreto de Sódio)

q.s.p. ....1 litro.

- a. Misturar e checar o pH= 7.2, mais ou menos 0.1. Ajustar o pH com NaOH 1 N ou HCl 1 N, se necessário.
- b. Autoclavar para esterilizar;

### 5.10.2. Suspensão de hemácias

- 5.10.2.1. As hemácias são coletadas em solução de Alsever;
- 5.10.2.2. Lavar as hemácias com solução de PBS (pH= 7.3,  $\pm 0.1$ ), misturando levemente, evitando hemólise;
- 5.10.2.3. Centrifugar à 1200 rpm por 5 minutos para obter células compactadas;
- 5.10.2.4. Aspirar e descartar o sobrenadante;
- 5.10.2.5. Repetir a lavagem por pelo menos 3 vezes;
- 5.10.2.6. Na lavagem final, centrifugar à 1200 rpm por 10 minutos;
- 5.10.2.7. Ressuspender as células na concentração apropriada, de acordo com a Tabela 1;
- 5.10.2.8. Estocar em geladeira por até 2 semanas.

### 6. Condições de Biossegurança

- 6.1. Todo o procedimento deve ser feito em cabine de segurança biológica classe II, com uso de EPIs, como jalecos, luvas de borracha e máscaras descartáveis.
- 6.2. O ensaio deve ser realizado utilizando jaleco (restrito a cada sala), luvas sem talco e máscara.
- 6.3. O descarte das ponteiros, máscaras e luvas deve ser realizado nos recipientes designados nas respectivas salas como material contaminado, para posterior autoclavação.



CATEGORIA POP tecnico	REVISÃO 01	PÁGINA 6/9	CÓDIGO <b>POP-LVRS-TVR-008</b>
--------------------------	---------------	---------------	-----------------------------------

TÍTULO

## ***REAÇÃO DE HEMAGLUTINAÇÃO***

### 7. **EQUIPAMENTOS**

- 7.1. Centrífuga;
- 7.2. Cabine de segurança biológica classe II;
- 7.3. Geladeira.

### 8. **MATERIAIS / REAGENTES**

- 8.1. Pipetadores automáticos de 10 $\mu$ L e 100 $\mu$ L;
- 8.2. Pipetadores multicanal automático de 10 $\mu$ L a 100 $\mu$ L;
- 8.3. Agitador de placa;
- 8.4. Ponteiras descartáveis;
- 8.5. Pipetas descartáveis tipo Pasteur;
- 8.6. Placas de microtitulação com 96 poços, fundo em "U" ou "V";
- 8.7. Tampas para placas de microtitulação;
- 8.8. Gaze e algodão;
- 8.9. Solução de PBS, 0,01M, pH 7.3 ( $\pm$ 0.1);
- 8.10. Suspensão de hemácias (glóbulos vermelhos) conservados em solução de Alsever;
- 8.11. Tubos cônicos em polipropileno para centrifugação (17X119 mm), descartáveis, transparentes com tampa de rosca, volume de 15 mL;
- 8.12. Recipiente para descarte de material potencialmente infeccioso;
- 8.13. EPIs, como luvas descartáveis, óculos de segurança, máscara e jaleco descartável;
- 8.14. Solução de hipoclorito de sódio 5%;
- 8.15. Inóculos em cultura celular;
- 8.16. Formulário F013



CATEGORIA POP tecnico	REVISÃO 01	PÁGINA 7/9	CÓDIGO <b>POP-LVRS-TVR-008</b>
--------------------------	---------------	---------------	-----------------------------------

TÍTULO

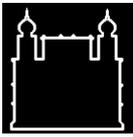
## ***REAÇÃO DE HEMAGLUTINAÇÃO***

### **9. LAVAGEM DAS HEMÁCIAS:**

- 9.1. Adicionar em um tubo cônico de 15mL a suspensão de hemácias recém coletada e completar o volume do tubo com PBS 0,01 M, pH 7.3 ( $\pm 0,1$ ).
- 9.2. Centrifugar durante 10 minutos à 1500 rpm em temperatura ambiente;
- 9.3. Aspirar todo o sobrenadante a fina camada de leucócitos depositada entre o sobrenadante e as hemácias.
- 9.4. Repetir o item A por mais duas vezes ou até que a suspensão não apresente coloração avermelhada.  
NOTA: caso ocorra a presença de coloração avermelhada após a quinta repetição do procedimento, descartar as hemácias e solicitar novo lote.
- 9.5. Preparar a suspensão de hemácias apropriada de acordo com a espécie animal a ser utilizado. Por exemplo, no caso de hemácias de aves, a suspensão utilizada será na concentração de 0,5%; por outro lado, caso seja utilizada hemácias de cobaio ou humana tipo "0", a concentração será de 0,75%. No preparo da suspensão de hemácias utilizaremos PBS 0,01 M, pH=7.3 ( $\pm 0.1$ );

### **10. REALIZAÇÃO DO TESTE DE HEMAGLUTINAÇÃO**

- 10.1. Selecionar o tipo de microplaca a ser utilizada, poços em "V" ou "U", dependendo da classe de hemácias disponível;
- 10.2. Distribuir 50 uL de PBS 0,01 M, pH 7.3  $\pm 0.1$  em todos os poços da placa com exceção dos poços da coluna 1;
- 10.3. Adicionar 100  $\mu$ L de isolado viral na coluna 1;
- 10.4. A primeira amostra a ser testada nos poços A1 e B1. A segunda nos poços C1 e D1. A terceira nos poços E1 e F1. E, a quarta nos poços G1 e H1;
- 10.5. Utilizando um pipetador multicanal automático, homogeneizar a primeira coluna e transferir de 50  $\mu$ L poço para segunda coluna e homogeneizar. Repetir



CATEGORIA POP tecnico	REVISÃO 01	PÁGINA 8/9	CÓDIGO <b>POP-LVRS-TVR-008</b>
--------------------------	---------------	---------------	-----------------------------------

TÍTULO

## **REAÇÃO DE HEMAGLUTINAÇÃO**

o processo até a 12<sup>o</sup> coluna (diluição seriada de base 2).

- 10.6. Desprezar os 50 µL finais da 12<sup>o</sup> coluna. O volume final, por poço, deverá ser de 50 µL (anexo 1).
- 10.7. Assim obtém-se diluições que vão desde a diluição 1/2, 1/4, 1/8..., até o final da linha até a diluição 1/1024;
- 10.8. Homogeneizar a suspensão de hemácias por agitação suavemente e adicionar 50 uL em todos os poços da placa;
- 10.9. Deve-se incluir no ensaio um controle de hemácias e controle negativo de cultivo.
  - 10.9.1. O controle de hemácias é composto por 50 uL de PBS e 50 uL de hemácias
  - 10.9.2. O controle de negativo de cultivo é composto por 50 uL de meio de cultivo e 50 uL de hemácias
- 10.10. Agitar a placa suavemente, para completa homogeneização;
- 10.11. Tampar a placa evitando evaporação;
- 10.12. Incubar durante 30 minutos ou 1 hora (Tabela 1), à temperatura ambiente;
- 10.13. Fazer leitura da placa quando formar botão ou halo nos poços correspondentes ao controle de hemácias.

## **11. INTERPRETAÇÃO E VALIDAÇÃO DO TESTE**

- 11.1. O título hemaglutinante se define como o inverso da máxima diluição onde se observa aglutinação.
- 11.2. Exemplo: Um teste que apresenta aglutinação até a diluição 1/32, diz-se que o título hemaglutinante foi de 32UHA/50uL.
- 11.3. Controle de qualidade. Nos poços correspondentes ao controle de hemácias e o controle negativo deve ser observada a formação de um botão. Do contrário, o teste será considerado inválido e deverá ser repetido.



CATEGORIA POP tecnico	REVISÃO 01	PÁGINA 9/9	CÓDIGO <b>POP-LVRS-TVR-008</b>
--------------------------	---------------	---------------	-----------------------------------

TÍTULO

## ***REAÇÃO DE HEMAGLUTINAÇÃO***

### 12. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 12.1. ABNT NBR ISO/IEC 17025:2005 – Requisitos gerais para competência de laboratórios de ensaio e calibração – 30 de outubro de 2005.
- 12.2. Vigilancia de las Enfermedades Infecciosas em los Países Del Cono Sur Buenos Aires- Argentina/ 3-9 junio 2000.

### 13. HISTÓRICO DA ÚLTIMA REVISÃO

<b>Data</b>	<b>Rev. Nº</b>	<b>Resumo das Alterações</b>
09/04/2007	00	Emissão inicial
18/05/2010	01	Reformatação, Condições Gerais, Biossegurança Equipamentos, Materiais, procedimento. Inserção -Lavagem das hemácias. O POP foi renumerado de POP LVRS-041 para POP-LVRS-TVR-008



CATEGORIA POP tecnico	REVISÃO 01	PÁGINA 1/12	CÓDIGO <b>POP-LVRS-TVR-009</b>
--------------------------	---------------	----------------	-----------------------------------

TÍTULO

## ***REAÇÃO DE INIBIÇÃO DA HEMAGLUTINAÇÃO***

### **SUMÁRIO**

1. *Objetivo*
2. *Campo de Aplicação*
3. *Definições*
4. *Siglas*
5. *Condições Gerais*
6. *Condições de Biossegurança*
7. *Equipamentos*
8. *Materiais/Reagentes*
9. *Procedimento*
10. *Referências Bibliográficas*
11. *Histórico da última revisão*

Cópia não controlada

ELABORADO MURILO KRAWCZUK	VERIFICADO THIAGO MORENO	APROVADO MARILDA SIQUEIRA	DATA 14/03/2010
------------------------------	-----------------------------	------------------------------	--------------------



CATEGORIA POP tecnico	REVISÃO 01	PÁGINA 2/12	CÓDIGO <b>POP-LVRS-TVR-009</b>
--------------------------	---------------	----------------	-----------------------------------

TÍTULO

## ***REAÇÃO DE INIBIÇÃO DA HEMAGLUTINAÇÃO***

### **1. OBJETIVO**

Este POP fixa condições, padroniza, define e estabelece regras que devem ser aplicadas no LVRS, visando a identificação do vírus de influenza em isolados de cultivo celulares MDCK ou em titulações de anticorpos em soros animais ou de pacientes humanos.

### **2. CAMPO DE APLICAÇÃO**

Este POP aplica-se ao Laboratório de Vírus respiratórios e do Sarampo, IOC, Fiocruz.

### **3. DEFINIÇÕES**

A união específica do anticorpo ao sítio antigênico na molécula da proteína denominada hemaglutinina viral, interfere com a ligação desta aos receptores de ácido siálico nos eritrócitos. Este efeito inibe a hemaglutinação sendo a base da reação

### **4. SIGLAS**

São usadas no texto deste POP as seguintes siglas:

FIOCRUZ	Fundação Oswaldo Cruz
IOC	Instituto Oswaldo Cruz
LVR	Laboratório de Vírus Respiratórios
HI	Reação de Inibição da Hemaglutinação
rpm	Rotações por minuto
x g	Força da gravidade aplicada sobre amostras centrifugadas



CATEGORIA POP tecnico	REVISÃO 01	PÁGINA 3/12	CÓDIGO <b>POP-LVRS-TVR-009</b>
--------------------------	---------------	----------------	-----------------------------------

TÍTULO

## ***REAÇÃO DE INIBIÇÃO DA HEMAGLUTINAÇÃO***

PBS	Solução salina tamponada 0,01 M, pH=7.3 ( $\pm$ 0.1)
POP	Procedimentos operacionais padrão
EPI	Equipamento de proteção individual
CH	Controle de hemácias
MDCK	Cultura celular de rim de cão
POÇO	Cada orifício da placa de micro-titulação
RDE	<i>Receptor destroying enzyme</i>
RBC	<i>Red blood cells</i> - hemácias
OMS	Organização Mundial da Saúde
CDC	Center for Disease Control/Atlanta

### **5. CONDIÇÕES GERAIS**

- 5.1. O ensaio de inibição da hemaglutinação deve ser realizado em placas de micro-titulação em polipropileno, descartáveis e com 96 orifícios;
- 5.2. Todo o procedimento de distribuição e diluição das amostras e dos soros deve ser feito em capelas de segurança biológica do tipo II, evitando-se contaminação do operador, do ambiente, ou da amostra;
- 5.3. Todo o ensaio deverá ser realizado em temperatura ambiente;
- 5.4. Utilizar o formulário F13;
- 5.5. Durante a homogeneização das hemácias deve-se tomar cuidado para que seja feita de maneira suave, evitando-se a lise das hemácias;
- 5.5. A suspensão de hemácias deve ser guardada em geladeira, evitando hemólise da mesma até 5 dias;
- 5.6. Tipo de placa a ser utilizado nos testes de HI depende das hemácias a serem utilizadas. Conforme tabela abaixo:
  - 5.6.1. Padrão de HI das diferentes fontes de hemácias



CATEGORIA POP tecnico	REVISÃO 01	PÁGINA 4/12	CÓDIGO <b>POP-LVRS-TVR-009</b>
--------------------------	---------------	----------------	-----------------------------------

TÍTULO

## ***REAÇÃO DE INIBIÇÃO DA HEMAGLUTINAÇÃO***

<b>ANIMAL</b>	<b>GALINHA</b>	<b>PERU</b>	<b>COBAIO</b>	<b>HUMANO "O"</b>
<b>Concentração da hemácia</b>	0,5 %	0,5 %	0,75%	0,75%
<b>Tipo de poço da placa</b>	"V"	"V"	"U"	"U"
<b>Tempo de incubação</b>	30 minutos	30 minutos	1 hora	1 hora
<b>Controle de hemácias</b>	botão	botão	halo	halo

### **6. CONDIÇÕES DE BIOSSEGURANÇA**

- 6.1. Todo o procedimento deve ser feito em cabine de segurança biológica classe II, com uso de EPIs, como jalecos e luvas descartáveis.

### **7. EQUIPAMENTOS**

- 7.1. Centrifugadora;  
7.2. Cabine de segurança biológica classe II;  
7.3. Geladeira;  
7.4. Banho-Maria.

### **8. MATERIAIS/ REAGENTES**

- 8.1. Pipetadores e ponteiras descartáveis;  
8.2. Placas de micro-titulação com 96 poços fundo em "U" ou "V";  
8.3. Tampas para placas de micro-titulação;  
8.4. Gaze e algodão;



CATEGORIA POP tecnico	REVISÃO 01	PÁGINA 5/12	CÓDIGO <b>POP-LVRS-TVR-009</b>
--------------------------	---------------	----------------	-----------------------------------

TÍTULO

## ***REAÇÃO DE INIBIÇÃO DA HEMAGLUTINAÇÃO***

- 8.5. Solução de PBS, 0,01M, pH 7.3 ± 0.1;
- 8.6. Suspensão de hemácias (glóbulos vermelhos) conservados em solução de Alsever;- Sangue de cobaio, colhido e conservado em solução Alsever será fornecido pelo Centro de Criação de Animais de Laboratório (CECAL), da FIOCRUZ;
- 8.7. Tubos cônicos em polipropileno para centrifugação (17X119 mm), descartáveis, transparentes com tampa de rosca, volume de 15 mL;
- 8.8. Criotubos
- 8.9. Recipiente para descarte de material potencialmente infeccioso;
- 8.10. EPIs, como luvas descartáveis, máscara descartável e avental descartável;
- 8.11. Solução de hipoclorito de sódio 5%;
- 8.12. isolados virais;
- 8.13. RDE;
- 8.13.1. Reativos atualizados e distribuídos anualmente aos laboratórios participantes da rede de referência da OMS;
- 8.13.2. Enzima destruidora de receptores (RDE): **RDE** " SEIKEN" DENKA SEIKEN CO. LTD. TOKYO- JAPAN.
- 8.14. Antiseros de referência CDC/OMS;
- 8.14.1. reativos atualizados e distribuídos anualmente aos laboratórios participantes da rede de referência da OMS;
- 8.14.2. os antiseros fornecidos são contra os vírus Influenza A (H1N1), sazonal e pandêmico, A(H3N2) e tipo B
- 8.15. Antígeno titulado de Influenza CDC/OMS.
- 8.15.1. reativos atualizados e distribuídos anualmente aos laboratórios participantes da rede de referência da OMS;
- 8.15.1. os antígenos fornecidos são dos vírus Influenza A (H1N1), sazonal e pandêmico, A(H3N2) e tipo B.



CATEGORIA POP tecnico	REVISÃO 01	PÁGINA 6/12	CÓDIGO <b>POP-LVRS-TVR-009</b>
--------------------------	---------------	----------------	-----------------------------------

TÍTULO

## ***REAÇÃO DE INIBIÇÃO DA HEMAGLUTINAÇÃO***

### **9. PROCEDIMENTO**

#### 9.1. Preparação de Hemácias

- 9.1.1. Tomar RBCs em solução de Alsever e passa-las (45ml) por um filtro de gaze;
- 9.1.2. Centrifugar a 1.200 RPC (~300 x g) por 5 min. (~500 x g para RBC de cobaio);
- 9.1.3. Retirar a solução de Alsever (sobrenadante), adicionar PBS 1X (50mL), misturar gentilmente e centrifugar conforme no item anterior;
- 9.1.4. Repetir o procedimentos de lavagem das células, retirada de sobrenadante e resuspensão do pellet 3 X;
- 9.1.5. Na ultima centrifugação diluir o pellet de RBCs em PBS1X na proporção de 10% (v/v)

#### 9.2. Tratamento do Soro

- 9.2.1. Reconstituir do RDE fornecido pela OMS em 25 mL de PBS 1X (armazenar a -20 °C se necessário);
- 9.2.2. Adicionar 3 volumes de RDE a 1 volume de soro (0,3mL RDE + 0,1mL soro);
- 9.2.3. Incubar por 12-18h a 37°C;
- 9.2.4. Aquecer em banho-maria a 56 °C por 30 minutos;
- 9.2.5. Adicionar mais 6 volumes de PBS (0,6mL PBS à solução de 0,4mL de RDE + soro)

#### 9.3. Retirada dos aglutinantes inespecíficos

- 9.3.1. Adicionar 1 volume do pellet de RBCs para 20 volumes do soro tratado com RDE (50uL de RBC para 1mL de soro tratado com RDE);
- 9.3.2. Misturar fortemente e incubar ente 4 e 8 °C, homogenizando em intervalos regulares;
- 9.3.3. Depois de 1 hora, centrifugar a 300 x g por 5 minutos;
- 9.3.4. Retirar o soro tratado (sobrenadante) sem encostar no pellet (RBCs);
- 9.3.5. Seguindo este procedimento o soro inicial estará diluído aproximadamente de 1/10.

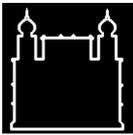


CATEGORIA POP tecnico	REVISÃO 01	PÁGINA 7/12	CÓDIGO <b>POP-LVRS-TVR-009</b>
--------------------------	---------------	----------------	-----------------------------------

TÍTULO

***REAÇÃO DE INIBIÇÃO DA HEMAGLUTINAÇÃO***

- 9.4. Padronização do antígeno para a técnica de inibição da hemaglutinação (HI): "back titration"
  - 9.4.1. Determine o volume de antígeno padronizado necessário para seu teste de HI, considerando a utilização de 25uL por poço da placa de 96;
  - 9.4.2. Utilize o antígeno padronizado na concentração final de 4 UHA/25uL;
  - 9.4.3. Teste a hemaglutinação da diluição feita para garantir a qualidade do ensaio imediatamente antes de realiza-lo;
  - 9.4.4. O Antígeno diluído pode ser mantido a 4 °C desde que usado no mesmo dia;
  - 9.4.5. Registre estes resultados como observação na ficha.
- 9.5. Identificação de Isolados virais de Influenza
  - 9.5.1. Preparar as Diluições de antisoro tratado com RDE na placa de 96 apropriada, dependendo da RBC de escolha;
  - 9.5.2. Adicionar 25uL de PBS nos poços das linhas B até H
  - 9.5.3. Adicionar 50uL dos soros de referencia na linha A, desde a coluna 1 até a 12, conforme desenho esquemático no item 9.5.14;
  - 9.5.4. Faça a diluição seriada de base 2 destes antisoros ao transferir 25uL dos poços da linha A para B e assim sucessivamente;
  - 9.5.5. Descarte 25uL da linha H ao final da diluição seriada,
  - 9.5.6. Adicione 25uL dos antígenos nos poços A1 até H6, conforme desenho esquemático no item 9.5.14;
  - 9.5.7. Adicione 25uL de PBS ao invés de antígeno na placa de controle negativo;
  - 9.5.8. Agite a placa manualmente;
  - 9.5.9. Cubra a placa e incube a temperatura ambiente (20 a 25 °C) por 15 minutos;
  - 9.5.10. Adicione 50uL de RBCs a todos os poços e agite a placa manualmente;
  - 9.5.11. Cubra a placa e a mantenha temperatura ambiente;
  - 9.5.12. Marque "+" para hemaglutinação e "0" para ausência de hemaglutinação

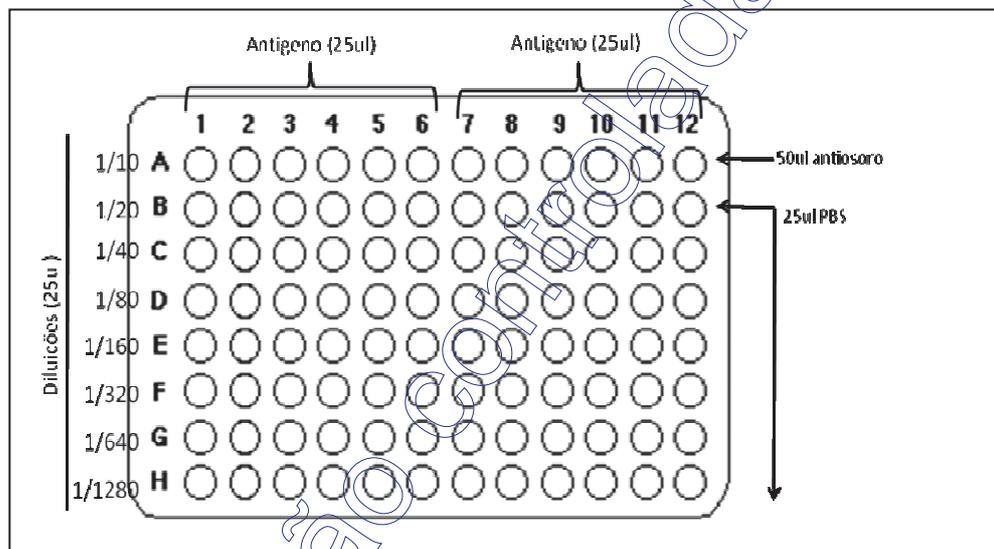


CATEGORIA POP tecnico	REVISÃO 01	PÁGINA 8/12	CÓDIGO <b>POP-LVRS-TVR-009</b>
--------------------------	---------------	----------------	-----------------------------------

TÍTULO

## ***REAÇÃO DE INIBIÇÃO DA HEMAGLUTINAÇÃO***

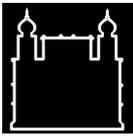
- 9.5.13. O título de HI refere-se a última diluição de antígeno que inibiu completamente a hemaglutinação viral;
- 9.5.14. Desenho esquemático da placa de HI abaixo.



- 9.5.15. As colunas de placa se referem aos antígenos anti- Influenza:
- 1 e 7) A(H1)pdm
  - 2 e 8) A(H1) sazonal
  - 3 e 9) A(H3)
  - 4 e 10) B/Florida/4/2006-like (linhagem Yamagata)
  - 5 e 11) B/Brisbane/60/2008-like (linhagem Victoria)
  - 6 e 12) Antígeno controle negativo

### 9.6. Titulação de Anticorpos séricos anti-influenza

- 9.6.1. Preparar as Diluições de antígeno tratado com RDE na placa de 96 apropriada, dependendo da RBC de escolha;
- 9.6.2. Adicionar 25uL de PBS nos poços das linhas B até H

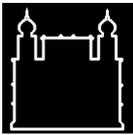


CATEGORIA POP tecnico	REVISÃO 01	PÁGINA 9/12	CÓDIGO <b>POP-LVRS-TVR-009</b>
--------------------------	---------------	----------------	-----------------------------------

TÍTULO

## ***REAÇÃO DE INIBIÇÃO DA HEMAGLUTINAÇÃO***

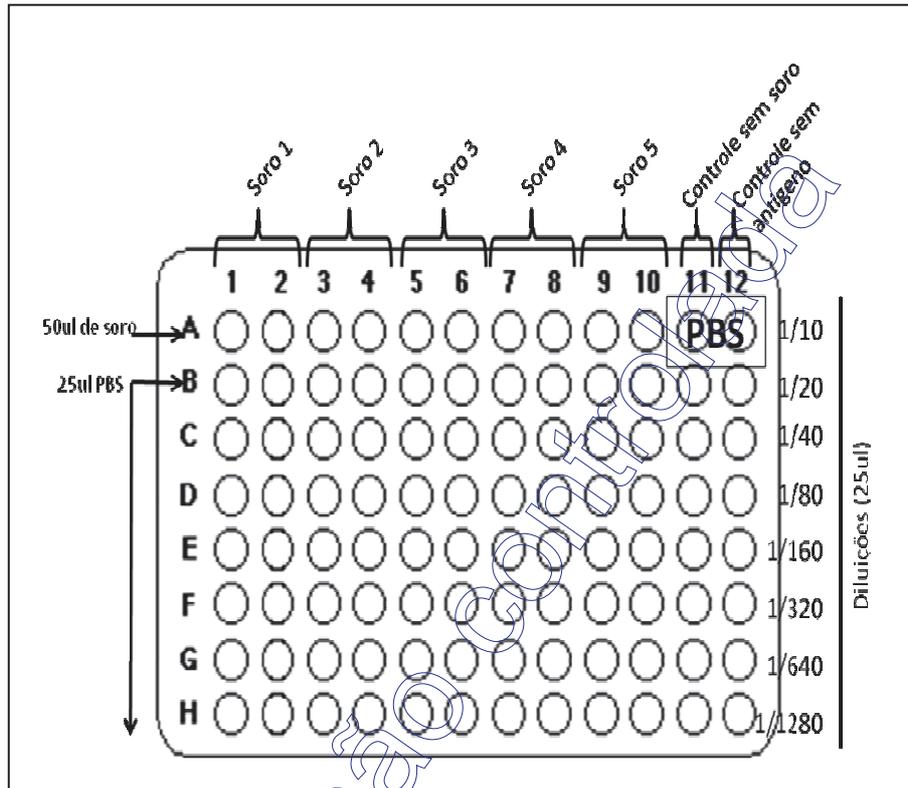
- 9.6.3. Adicione 50uL dos soros a serem estudados linha A em duplicada, excluindo-se os poços A11 e A12. Estes devem receber 50ul de PBS, conforme desenho esquemático no item 9.6.14;
- 9.6.4. Faça a diluição seriada de base 2 destes antisoros ao transferir 25uL dos poços da linha A para B e assim sucessivamente;
- 9.6.5. Descarte 25uL da linha H ao final da diluição seriada;
- 9.6.6. Adicione 25uL do antígeno a ser testado em todos os poços, excluindo-se aqueles na coluna 12, conforme desenho esquemático no item 9.5.14;
- 9.6.7. Deverá ser escolhido por placa um antígeno de influenza: A(H1pdm), A(H1) sazonal, A(H3), B (Yamagata) **OU** B (Victoria);
- 9.6.8. Agite a placa manualmente;
- 9.6.9. Cubra a placa e incube a temperatura ambiente (20 a 25 °C) por 15 minutos;
- 9.6.10. Adicione 50uL de RBCs a todos os poços e agite a placa manualmente;
- 9.6.11. Cubra a placa e a mantenha temperatura ambiente;
- 9.6.12. Marque "+" para hemaglutinação e "0" para ausência de hemaglutinação
- 9.6.13. O título de HI refere-se a última diluição de antisoro que inibiu completamente a hemaglutinação viral;
- 9.6.14. Desenho esquemático da placa de HI abaixo.
- 9.7. Controle de qualidade
- 9.7.1. Os resultados somente serão válidos caso ocorra hemaglutinação na coluna 11 e precipitação das RBCs na coluna 12.
- 9.7.2. Caso contrário, o ensaio deverá ser repetido.



CATEGORIA POP tecnico	REVISÃO 01	PÁGINA 10/12	CÓDIGO <b>POP-LVRS-TVR-009</b>
--------------------------	---------------	-----------------	-----------------------------------

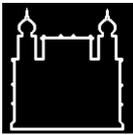
TÍTULO

## ***REAÇÃO DE INIBIÇÃO DA HEMAGLUTINAÇÃO***



### **10. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

- 10.1. Vigilância de lãs Enfermidades Infecciosas em los Países Del Cono Sur- Buenos Aires – Argentina/ 3-9 junio 2000.
- 10.2. WHO Influenza Reagent Kit for Identification of Influenza Isolates. Produzido e distribuido por: WHO COLLABORATING CENTER FOR THE SURVEILLANCE, EPIDEMIOLOGY AND CONTROL OF INFLUENZA.
- 10.3. Szretter KJ, Balish AL, Katz JM. Influenza: propagation, quantification, and storage. *Curr Protoc Microbiol*. 2006 Dec;Chapter 15:Unit 15G.1.



CATEGORIA POP tecnico	REVISÃO 01	PÁGINA 11/12	CÓDIGO <b>POP-LVRS-TVR-009</b>
--------------------------	---------------	-----------------	-----------------------------------

TÍTULO

## ***REAÇÃO DE INIBIÇÃO DA HEMAGLUTINAÇÃO***

### **11. HISTÓRICO DA ÚLTIMA REVISÃO**

<b>Data</b>	<b>Rev. Nº</b>	<b>Resumo das Alterações</b>
09/04/2007	00	Emissão inicial
14/03/2010	01	reformatação, renumeração de POP LVRS-042 para POP-LVRS-TVR-009. Adição de desenhos esquemáticos para os testes de HI, revisão semântica do texto

Cópia não controlada

Cópia não controlada

**“Farmacocinética do Lopinavir co-formulado com baixas doses de ritonavir em forma de comprimidos, em dosagem padrão e dosagem aumentada, durante a gestação em portadoras do HIV”**

**Versão 2.1, de 05 de Janeiro de 2009**

**Anexo 5 – Tabela de toxicidade**

	<b>TOXICIDADE GRAU 1</b>	<b>TOXICIDADE GRAU 2</b>	<b>TOXICIDADE GRAU 3</b>	<b>TOXICIDADE GRAU 4</b>
<b>HEMATOLOGIA</b>				
HEMOGLOBINA	9,6-10,5 g/dL	8,0-9,5 g/dl	6,5-7,8 g/dl	< 6,5 g/dl
HEMOGLOBINA (Unidades SI)	96-105 g/L	80-95 g/L	65-78 g/L	< 65 g/L
CONTAGEM ABSOLUTA DE NEUTRÓFILOS	1000-1500/mm <sup>3</sup>	750-999/mm <sup>3</sup>	500-749/m m <sup>3</sup>	< 500 /m m <sup>3</sup>
CONTAGEM ABSOLUTA DE NEUTRÓFILOS (Unidade SI)	1000-1500 GI/L	750-999 GI/L	500-749 GI/L	< 500 GI/L
PLAQUETAS	75.000-99.000/mm <sup>3</sup>	50.000-74.999/mm <sup>3</sup>	20.000-49.999/mm <sup>3</sup>	< 20.000/mm <sup>3</sup> ou petéquias difusas
PLAQUETAS (Unid. SI)	75.000-99.000GI/L	50.000-74.999 GI/L	20.000-49.999 GI/L	< 20.000 GI/L ou petéquias difusas
TP	1.01-1.25 x limite superior normal	1.26-1.5 x limite superior normal	1.51-3.0 x limite superior normal	> 3 x limite superior normal
APTT	1.20 - 1.66 x limite superior normal	1.67 - 2.35 x limite superior normal	2.36 -3 x limite superior normal	> 3 x limites superior normal
FIBRINOGENÍO	0,99-0,75 X limite inferior normal	0,74- 0,50 x limite inferior normal	0,49-0,25 x limite inferior normal	< 0,25 x limite inferior normal
PRODUTO DE DIVISÃO DA FIBRINA	20-40 µg/ml	41-50 µg/ml	51-60 µg/ml	> 60 µg/ml
METAHEMOGLOBINA	5 - 9,9%	10.0 - 14.9%	15.0 - 20.0 %	> 20%
<b>BIOQUÍMICA</b>				
HIPONATREMIA	130-134 mEq/L	123-129 mEq/L	116-122 mEq/L	115 mEq/L e menos ou alteração no status mental ou convulsões
HIPONATREMIA (Unidades SI)	130-134 mmol/L	123-139 mmol/L	116-122 mmol/L	115 mmol/L e menos ou alteração no status mental ou convulsões
HIPERNATREMIA	146-150 mEq/L	151-157 mEq/L	158-165 mEq/L	> 165 mEq/L ou alteração no status mental / convulsões
HIPERNATREMIA (unidades SI)	146-150mmol/L	151-157 mmol./L	158-165 mmol/L	> 165 mmol/L ou alteração no status mental /convulsões
HIPOCALCEMIA (cálcio ionizado)	3.0-3.4 mg/dL	2.5-2.9 mg/dL, neces. terapia repos.	2.0-2.4 mg/dL ou reposição intensiva hospitalização	< 2 mg/dL ou paresia ou íleo ou arritmia com risco de vida
HIPERCALCEMIA	5.6-6.0 mg/dL	6.1-6.5 mg/dL	6.6-7.0 mg/dL	> 7.0 mg/dL ou

**“Farmacocinética do Lopinavir co-formulado com baixas doses de ritonavir em forma de comprimidos, em dosagem padrão e dosagem aumentada, durante a gestação em portadoras do HIV”**

**Versão 2.1, de 05 de Janeiro de 2009**

	<b>TOXICIDADE GRAU 1</b>	<b>TOXICIDADE GRAU 2</b>	<b>TOXICIDADE GRAU 3</b>	<b>TOXICIDADE GRAU 4</b>
(cálcio ionizado)				paresia ou íleo ou arritmia com risco de vida
TRIGLICERIDES TRIGLICERIDES (Unidades SI)	----- -----	400-750 mg/dL 4,52-8,47 mmol/L	751-1200 mg/dL 8,48-13,55 mmol/L	>1200 mg/dL > 13,55 mmol/L
COLESTEROL COLESTEROL (Unidades SI)	200-239 mg/dL 5,16-6,19 mmol/L	240-300 mg/dL >6,19-7,77 mmol/L	301-400 mg/dL >7,77-10,35 mmol/L	>400 mg/dL > 10,35 mmol/L
HIPOGLICEMIA	55-66 mg/dL	40-54 mg/dL	30-39 mg/dL	<30 mg/dL ou alteração no status mental ou coma
HIPOGLICEMIA (Unidades SI)	3,03-3,69 mmol/L	2,20-3,02 mmol/L	1,64-2,19 mmol/L	< 1,64 mmol/L ou alt. Status mental ou coma
HIPERGLICEMIA	116-160 mg/dl	161-250 mg/dl	251-500 mg/dL	>500 mg/dL ou cetoacidose ou convulsões
HIPERGLICEMIA (Unidades SI)	6,42-8,91 mmol/L	8,92-13,90 mmol/L	13,91-27,79 mmol/L	> 27,79 mmol/L ou cetoacidose ou convulsões
HIPERURICEMIA HIPERURICEMIA (Unidades SI)	7,5-9,9, mg/dl 441-591 μmol/L	10,0-12,0 mg/dL 592-716 μmol/L	12,1-15,0 mg/dL 717-895 μmol/L	>15,0 mg/dl > 895 μmol/L
HIPOCALCEMIA (corrigido para albumina)	8,4-7,8 mg/dL	7,7 -7,0 mg/dL	6,9-6,1 mg/dL	<6,1 mg/dL ou arritmia com risco de vida ou tetania
HIPERCALCEMIA (corrigido para albumina)	10,6 - 11,5 mg/dL	11,6- 12,5 mg/dl	12,6-13,5 mg/dL	>13,5 ou arritmia com risco de vida e tetania
HIPOMAGNESEMIA	1,71-1,36 mg/dL	1,35-1,07 mg/dL ou neces. Rx reposição	1,06- 0,74 mg/dL ou neces. repos. intensiva, hospitalização	< 0,74 mg/dL ou arritmia com risco de vida.
HIPOMAGNESEMIA (Unidades SI)	0,70-0,56 mmol/L	0,55-0,44 mmol/L ou neces. Rx repos.	0,43-0,30 mmol/L ou neces. Rx repos. intensiva, hospitalização	< 0,30 mmol/L ou arritmia com risco de vida.
HIPOFOSFATEMIA	2,0-2,4 mg/dL	1,5-1,9 mg/dL ou neces. RX repos.	1,0-1,4 mg/dL ou neces. Rx repos. intensiva, hospitalização	<1,0 mg/dL arritmia com risco de vida ou ICC.
HIPOFOSFATEMIA (Unidades SI)	0,63-0,79 mol/L	0,47-0,62 mmol/L ou neces. RX repos.	0,31-0,46 mmol/L requer rep. intensiva ou hospitalização	<0,31 mmol/L arritmia com risco de vida ICC.
HIPERBILIRRUBINEMIA HIPERBILIRRUBINEMIA (Unidades SI)	1,1- 1,5 x limite superior normal 22-31 μmol/L (Grau 1)	1.,6-2,9 x limite superior normal > 31-62 μmol/L (Grau 2)	3-5 x limite superior normal >62-103 μmol/L (Grau 3)	>5 x limite superior normal >103 μmol/L (Grau 4)
HIPOCALEMIA	3,0-3,4 mEq/L	2,5-2,9 mEq/L	2,0-2,4 mEq/L	<2,0 mEq/L

**“Farmacocinética do Lopinavir co-formulado com baixas doses de ritonavir em forma de comprimidos, em dosagem padrão e dosagem aumentada, durante a gestação em portadoras do HIV”**

**Versão 2.1, de 05 de Janeiro de 2009**

	<b>TOXICIDADE GRAU 1</b>	<b>TOXICIDADE GRAU 2</b>	<b>TOXICIDADE GRAU 3</b>	<b>TOXICIDADE GRAU 4</b>
HIPOCALEMIA (Unidades SI)	3,0-3,4 mmol/L	2,5-2,9 mmol/L	2,0-2,4 mmol/L	<2,0 mmol/L
HIPERCALEMIA HIPERCALEMIA (unidades SI)	5,6-6,0 mEq/L 5,6-6,0 mmol/L (Grau 1)	6,1-6,5 mEq/L 6,1-6,5 mmol/L (Grau 2)	6,6-7,0 mEq/L 6,6- 7,0 mmol/L (Grau 3)	>7,0 mEq/L >7,0 mmol/L (Grau 4)
BUN	1,25-2,5 x limite superior normal	2,6-5,0 x limite superior normal	5,1-10,0 x limite superior normal	>10 x limite superior normal
CREATININA	1,1 -1,5 x limite superior normal	1,6-3,0 x limite superior normal	3,1-6,0 limite superior normal	>6,0 x limite superior normal ou requer diálise
CPK (CK) (não relac. ao exercício)	1,1-2,0 x limite superior normal	2,1-4,0 x limite superior normal	4,1- 6,0 x limite superior normal	>6,0 x limite superior normal
<b>ENZIMAS</b>				
AST/TGO	1,25-2,5 X limite superior normal	2,6-5 x limite superior normal	5,1-10 x limite superior normal	>10 x limite superior normal
ALT/TGP	1,25-2,5 X limite superior normal	2,6-5 x limite superior normal	5,1-10 x limite superior normal	>10 x limite superior normal
GGT	1,25-2,5 X limite superior normal	2,6-5 x limite superior normal	5,1-10 x limite superior normal	>10 x limite superior normal
FOSFATASE ALCALINA	1,25-2,5 X limite superior normal	2,6-5 x limite superior normal	5,1-10 x limite superior normal	>10 x limite superior normal
Amilase (pancreática)	1,1-1,3 x limite superior normal	1,4-2,0 x limite superior normal	2,1-5,0 x limite superior normal ou pancreatite clínica leve a moderada	5,1 x limite superior normal ou pancreatite clínica severa
<b>ANÁLISE DE URINA</b>				
PROTEINÚRIA	1+, 30-100 mg/dL	2+,>100-300 mg/dL	3+, >300 mg/dL	Síndrome nefrótica
HEMATÚRIA	apenas microscópica, < 10GVs	grosseira, sem coágulos, 10-100 GVs	grosseira, coágulos, > 101 GVs	Obstrutiva ou requer Rx.
<b>CARDÍACO</b>				
RITMO CARDÍACO	-----	assintomático, sinais transitórios, sem necessidade de Rx	recorrente/ persistente sem necessidade de Rx	Arritmia instável, precisa de tratamento ou hospitalização
HIPERTENSÃO	aumento transitório > 20 mmHg, s/ Rx,	> 20 mmHg recorrente, crônico, requer Rx	Requer Rx agudo ao paciente ambul.	Hospitalização
HIPOTENSÃO	hipotensão ortostática transitória, sem Rx	sintomas corrigíveis com reposição de fluídos via oral	requer fluídos IV, sem hospitalização	Requer hospitalização
PERCARDITE	efusão mínima	efusão leve/moderada assintomática, s/ Rx	efusão sintomática, dor, alt. ECG	Tamponamento, requer pericardiocentese ou cirurgia

**“Farmacocinética do Lopinavir co-formulado com baixas doses de ritonavir em forma de comprimidos, em dosagem padrão e dosagem aumentada, durante a gestação em portadoras do HIV”**

**Versão 2.1, de 05 de Janeiro de 2009**

	<b>TOXICIDADE GRAU 1</b>	<b>TOXICIDADE GRAU 2</b>	<b>TOXICIDADE GRAU 3</b>	<b>TOXICIDADE GRAU 4</b>
HEMORRAGIA, PERDA DE SANGUE	microscópica/oculta	leve, sem transfusão	grande perda de sangue, transfusão de 1-2 unidades	Perda maciça de sangue, > 3 unidades para transfusão
<b>RESPIRATÓRIO</b>				
TOSSE	transitória, sem Rx	tratamento associado com a tosse- Rx local não narcótica	tratamento associado com a tosse, requer Rx com narcótico	Não controlada
DIFICULDADE RESPIRATÓRIA	leve, não interfere nas atividades de rotina	moderada, interfere nas atividades de rotina, requer Rx intermitente	moderadamente incapacitante, requer oxig. nasal	Grave, requer assistência ventilatória
BRONCOESPASMO AGUDO	transitório, sem Rx, pico de fluxo 70% -80%	requer medic., normalização c/ broncodilatador, FEV de 50% do pico de fluxo	sem normalização c/ broncodilatador, FEV de 50% do pico de fluxo; retração	Cianose, FEV <25% do pico de fluxo, intubado
<b>GASTROINTESTINAL</b>				
ESTOMATITE	leve desconforto, sem limites de atividade	algumas limitações para comer, conversando	comendo, conversação muito limitada	Incapaz de beber líquidos; requer fluidos IV
NÁUSEA	transitório, leve desconforto, mantém uma ingestão razoável	Desconforto moderado, sinal de dim. ingestão, alguma limitação da atividade ou dim. ingestão < 3 dias	desconforto grave, sem ingestão significativa de alimentos, atividades limitadas ou ingestão mínima 3 dias	Ingestão mínima de líquidos ou requer hospitalização
VÔMITOS	emese transitória, 2-3 por dia ou durando < 1 semana	emese moderada, 4-5 por dia ou durando 1 semana	vomita todos os alimentos/líquidos nas 24 horas, hipotensão ortost. ou requer RX com fluidos IV	Choque hipotensivo, hospitalização com terapia com fluidos IV
CONSTIPAÇÃO	leve	moderada, requer Rx	severa, requer Rx, vômitos	Distensão com vômitos
DIARRÉIA	leve ou transitória, 3-4 episódios por dia ou diarreia leve durando < 1 semana	moderada ou persistente, 5-7 episódios /dia ou diarreia durando ≥ 1 semana	diarréia com sangue; ou hipotensão ortostática ou > 7 episódios/dia ou requer Rx IV	Choque ou requer hospitalização
DOR ABDOMINAL	leve, ocasional, transitória	moderada, transitória	severa ou requer analgésico	Severa com sinais de defesa peritoneal

**“Farmacocinética do Lopinavir co-formulado com baixas doses de ritonavir em forma de comprimidos, em dosagem padrão e dosagem aumentada, durante a gestação em portadoras do HIV”**

**Versão 2.1, de 05 de Janeiro de 2009**

	<b>TOXICIDADE GRAU 1</b>	<b>TOXICIDADE GRAU 2</b>	<b>TOXICIDADE GRAU 3</b>	<b>TOXICIDADE GRAU 4</b>
<b>NEURO/ NEUROMUSCULAR</b>				
NEURO CEREBELAR	ligeira incoordenação, disdiadococinesia	tremor intencional, dismetria, nistagmo, fala “pastosa”	ataxia locomotora	Incapacitado
HUMOR	ansiedade ou depressão leve	ansiedade ou depressão moderada, requer terapia	ansiedade ou depressão severa ou mania; (precisa de assistência)	Psicose aguda; incapacitado requer hospitalização
CONTROLE NEUROLÓGICO	confusão/ agitação	confusão moderada/ agitação; um pouco severa, Rx min.	confusão severa/ agitação	Psicose tóxica; hospitalização
FORÇA MUSCULAR	fraqueza subjetiva, não objetiva	objetiva leve sem dim. função	fraqueza objetiva; função limitada	Paralisia
NEUROPATIA DOLOROSA	leve desconforto; sem necessidade de terapia	desconforto moderado persistindo por > 72 horas; requer analgésico	desconforto severo, marcha antálgica acentuada, requer analgésico narcótico, com melhora sintomática	Incapacitante, desconforto intolerável. Não melhora ou é incapaz de andar a pesar dos analgésicos narcóticos
MIOSITE	achados mínimos	Pacientes devem ter algumas medidas de miosite (EMG positiva ou biopsia muscular) e um dos seguintes:	Pacientes devem ter algumas medidas de miosite (EMG positiva ou biopsia muscular) e um dos seguintes:	Pacientes devem ter algumas medidas de miosite (EMG positiva ou biopsia muscular) e um dos seguintes:
		1) mialgia leve, > 6 semanas precisando de agentes anti-inflamatórios não esteróides	1) mialgia moderada ou sensibilidade muscular, > 6 semanas necessitando de agentes anti-inflamatórios não esteróides	1) dor muscular severa ( mialgias) não relacionadas ao exercício, precisando de narcóticos.
		2) dificuldade em subir escadas ou levantar-se quando sentado, mas capaz de deambular sem assistência	2) necessita de alguma assistência para deambulação ou atividades gerais	2) fraqueza muscular resultando em incapacidade para andar, requerendo cuidados especiais e assistência com a movimentação
				3) rabdomiólise aguda com necrose muscular e edema, fraqueza

**“Farmacocinética do Lopinavir co-formulado com baixas doses de ritonavir em forma de comprimidos, em dosagem padrão e dosagem aumentada, durante a gestação em portadoras do HIV”**

**Versão 2.1, de 05 de Janeiro de 2009**

	<b>TOXICIDADE GRAU 1</b>	<b>TOXICIDADE GRAU 2</b>	<b>TOXICIDADE GRAU 3</b>	<b>TOXICIDADE GRAU 4</b>
				muscular moderada a severa com incapacidade para andar ou movimentar-se sozinho sem assistência.
				4) rabdomiólise aguda associada com desequilíbrio eletrolítico ou falência renal.
<b>OUTROS PARÂMETROS</b>				
FEBRE; oral, c/s infecção, > 12 h	37,7-38,5 C ou 100,0-101,5 F	38,6-39,5 C ou 101,6-102,9 F	39,6-40,5 C ou 103-105 F	> 40,5 C > 105 F
CEFALÉIA	leve, sem neces. Rx	transitória, mod; não requer Rx narcótica	severa, responde a terapia inicial com narcótico	Intratável, requer terapia repetida com narcóticos.
FADIGA (PÓS INÍCIO DO TRATAMENTO)	< 25% de diminuição nas atividades diárias	atividade normal diminuída de 25-50%	atividade normal diminuída > 50%, não pode trabalhar	Incapaz de cuidar de si próprio.
REAÇÃO ALÉRGICA	prurido c/ ou s/ erupção	urticária localizada, angioedema	urticária generalizada, angioedema	Anafilaxia
REAÇÃO LOCAL	sensibilidade ou eritema	lesão endurecida >10 cm ou flebite ou inflamação	lesão endurecida > 10 cm ou ulceração	Necrose
CUTÂNEOMUCOSA	eritema, prurido	erupção máculo-papular, difusa, descamação seca	vesiculação, descamação úmida, ulceração	Dermatite exfoliativa, suspeita de envolvimento da membrana mucosa, Stevens-Johnson ou eritema multiforme, necrose neces. cirurgia

***“Farmacocinética do Lopinavir co-formulado com baixas doses de ritonavir em forma de comprimidos, em dosagem padrão e dosagem aumentada, durante a gestação em portadoras do HIV”***  
***Versão 2.1, de 05 de Janeiro de 2009***