

Ministério da Saúde

FIOCRUZ

Fundação Oswaldo Cruz

Instituto de Pesquisa Clínica Evandro Chagas



FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ
INSTITUTO DE PESQUISA CLÍNICA EVANDRO CHAGAS
MESTRADO EM PESQUISA CLÍNICA EM DOENÇAS INFECCIOSAS

ANA CRISTINA GARCIA FERREIRA

Soroprevalência de anticorpos contra o vírus pandêmico
Influenza A(H1N1)pdm09 em pacientes com HIV/AIDS

Rio de Janeiro
2013

Soroprevalência de anticorpos contra o vírus pandêmico *Influenza A(H1N1)pdm09* em pacientes com HIV/AIDS

ANA CRISTINA GARCIA FERREIRA

Dissertação apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Pesquisa Clínica em Doenças Infecciosas do Instituto de Pesquisa Clínica Evandro Chagas (IPEC) da Fundação Oswaldo Cruz (Fiocruz) para obtenção do grau de Mestre.

Orientadora: Profa. Dra. Beatriz Gilda Jegerhorn Grinsztejn

Coorientadora: Profa. Dra. Marilda Mendonça Siqueira

Rio de Janeiro
2013

ANA CRISTINA GARCIA FERREIRA

Soroprevalência de anticorpos contra o vírus
pandêmico *Influenza A(H1N1)pdm09* em pacientes com
HIV/AIDS

Dissertação apresentada ao Curso de Pós-Graduação
em Pesquisa Clínica em Doenças Infecciosas do
Instituto de Pesquisa Clínica Evandro Chagas
(IPEC) da Fundação Oswaldo Cruz (Fiocruz) para
obtenção do grau de Mestre.

Orientadora: Profa. Dra. Beatriz Gilda Jegerhorn Grinsztejn

Coorientadora: Profa. Dra. Marilda Mendonça Siqueira

Aprovada em ___ / ___ / ____

BANCA EXAMINADORA

Dra. Valdilea Veloso

Instituto de Pesquisa Clínica Evandro Chagas
(IPEC/Fiocruz)

Dr. Fernando Couto Motta
Instituto Oswaldo Cruz
(IOC/Fiocruz)

Dr. Estevao Portela Nunes
Instituto de Pesquisa Clínica Evandro Chagas
(IPEC/Fiocruz)

Aos meus pais, Olga e Zé Henrique,

Pelo orgulho estampado nos olhos, por serem meu exemplo de trabalho, disciplina e ética e pelo estímulo contínuo na minha trajetória acadêmica e profissional. Obrigada por entenderem as diferenças e insistirem no essencial para a formação do meu caráter.

Ao Daniel,

Companheiro em todos os momentos, por acreditar comigo no sonho de ser uma pesquisadora, me incentivar sempre. Obrigada por me mostrar como o amor constrói.

À pequena Maria,

Presente de Deus.

AGRADECIMENTOS

A Deus, por guiar minha trajetória.

Aos meus irmãos Helô, Cau e Gui, partes de mim, por me conhecerem e me entenderem como ninguém e serem sempre meu porto seguro. Sinto saudades e amo vocês demais. Aos meus cunhados Marcio, Beto e Laiz, por completarem nossa família com mais união.

À Eneiza, Marco, Fernanda e Carla, uma nova família que generosamente me acolheu como sua, pela torcida, pelas orações e pela vibração nas minhas conquistas.

À Luci e Fina, por cuidarem tão bem de mim e contribuírem em algo de minha simplicidade.

Aos meus padrinhos, pela presença, pelo apoio nas dificuldades e incentivo nas conquistas.

À Dra. Beatriz Grinsztejn, pelo acolhimento, pela oportunidade, pelo apoio, pela real orientação não apenas na condução desse estudo, mas na minha trajetória profissional.

À Dra. Marilda Siqueira (co-orientadora), pela orientação e importantes contribuições na condução desse trabalho e pela forma doce que me acolheu em seu laboratório.

À Dra. Marília Santini, que desde o início acreditou em mim, por abrir as portas, por me apoiar e me ajudar a guiar minha carreira no rumo de meu sonho.

Ao Professor Dr. Luiz Camacho, pela paciência e gentileza com que entendeu e respondeu às minhas dúvidas e por todas as importantes contribuições nesse trabalho.

À Dra. Valdiléa Veloso e à direção do IPEC, pela compreensão, estímulo e apoio.

À Dra. Luciane Velasque, pela doçura com que compreendeu minhas dificuldades, pelos ensinamentos e por me ajudar a iluminar o então obscuro mundo da estatística.

À equipe do ensaio clínico, Dr. Estevão Portela, Dr. Alberto Lemos, Dra. Fernanda Rick, Dr. Emersom, Evelyn, e Priscila, por me ajudarem na coleta dos dados.

À Dra. Carmem Giacoia-Gripp, Dra. Mariza Morgado e equipe do Laboratório de AIDS e Imunologia Molecular, pela realização dos exames de CD4 e CV.

Ao Dr. Ronaldo Ismério, pela ajuda com o banco de dados.

À Dra. Sandra Wagner, por me ajudar na escolha e realização das disciplinas e permitir a conclusão desse trabalho.

À Dra. Maria Regina Cotrim Guimarães, pelo respeito e pelas contribuições na correção da dissertação.

Aos meus colegas e amigos Rodrigo, Maria Pia e Luiza, pela compreensão na realização das disciplinas.

Aos colegas do LAPCLINAIDS, que direta ou indiretamente contribuíram na minha disponibilidade para esse trabalho.

Ao Dr. Thiago Souza e Andressa Marttorelli, do Laboratório de Vírus Respiratórias, pela ajuda no aprendizado e realização das sorologias.

Ao Dr. Armando Schubach, Dra. Cristina Possas e Priscilla Sá, do Programa de Pós Graduação, pelo apoio e prontidão em resolver os problemas.

Aos companheiros de mestrado Isabel, Emerson e Ivan, pela amizade que aqui nasceu e quero continuar regando. Obrigada por tudo!

Aos meus tios e primos, por admirarem meu trabalho e rezarem sempre por mim.

Aos meus amigos, por se divertirem comigo e estimularem minha criatividade.

Aos pacientes, pela confiança e pela paciência, por ser parte não apenas desse trabalho, mas da realização que é para mim a Medicina. Obrigada!

RESUMO

A influenza é responsável por significativa morbimortalidade, sendo mais frequente em alguns grupos populacionais, como os indivíduos com imunodeficiência. Dados sobre o impacto do vírus *Influenza A(H1N1)pdm09* em pacientes com HIV/AIDS são escassos e limitados a pacientes com síndrome gripal que procuram serviços de saúde, o que em geral subestima a prevalência da infecção devido à não contabilização de casos brandos ou assintomáticos. Entre março e agosto de 2010, 256 pacientes adultos com HIV/AIDS ainda não vacinados foram incluídos em um ensaio clínico de vacina anti-*Influenza A(H1N1)pdm09* no Instituto de Pesquisa Clínica Evandro Chagas, Rio de Janeiro. Os títulos de anticorpos de 254 amostras pré-vacinais foram analisados com o objetivo de estimar de forma mais acurada a soroprevalência contra o vírus *Influenza A(H1N1)pdm09* nessa população e sua associação com dados demográficos, clínicos e laboratoriais, no intuito de tentar guiar decisões para estratégias de programas de vacinação e para a prática clínica. Com uma média de 42,2 anos, predomínio de homens, baixo percentual de antecedente de vacinação contra influenza sazonal e 23,6% dos pacientes com comorbidades, a população estudada apresentava uma média de contagem de linfócitos CD4 de 583,2 células/mm³, 80% em uso de TARV. A metodologia utilizada para avaliar a soroprevalência foi a inibição de hemaglutinação (HI) e 34,3% dos pacientes apresentaram títulos considerados compatíveis com soroproteção (HI \geq 1:32). Sexo feminino e presença de comorbidades foram significativamente associados à maior soroproteção na análise univariada e no modelo de regressão logística, o que pode ser decorrente de uma maior frequência desses grupos populacionais nos centros de saúde e, conseqüentemente, maior exposição ao vírus *Influenza A(H1N1)pdm09*. O grau de imunodeficiência no momento da avaliação não se mostrou associado a uma menor soroproteção pré-vacinal. Por outro lado, vacinação prévia contra influenza sazonal não aumentou significativamente a soroproteção, reiterando a necessidade de vacinação específica no caso de uma nova pandemia de influenza.

Palavras-chave: 1. HIV, 2. *Influenza A (H1N1) pdm 09*, 3. Soroprevalência

ABSTRACT

Influenza is responsible for significant morbidity and mortality and is more common in some groups, including people with immunodeficiency. There are limited data of the impact of pandemic virus (H1N1) 2009 influenza in patients living with HIV/AIDS, usually obtained from patients with ILI seeking health services, what usually underestimate the prevalence of infection due to not accounting mild or asymptomatic cases. Between March and August 2010, 256 adults with HIV/AIDS, not yet vaccinated against *Influenza A(H1N1)pdm09*, have been enrolled in a vaccine clinical trial at the Evandro Chagas Clinical Research Institute in Rio de Janeiro. We analyzed the antibody titers of 254 pre-vaccination samples performed with the aim to better estimate the prevalence of *Influenza A(H1N1)pdm09* in this population and associate this with demographic, clinical and laboratorial data, in order to try to guide strategies for vaccination programs and decisions for clinical practice. The study population have an average of 42.2 years, male predominance, low percentage of previous history of vaccination against seasonal influenza and 23.6% of the volunteers presented at least one comorbidity, besides a high rate of AIDS (84.3%), median CD4 count of 583.2 cells/mm³ and 80% were in use of antiretroviral therapy. Antibody titers were measured by use of hemagglutination inhibition (HI) and 34.3% of patients had titers considered seroprotection (HI \geq 1:32). Female gender and comorbidities were significantly associated with higher seroprotection in the univariate analysis and the multivariate logistic regression, which may be due to higher environmental exposure to the virus in these patients and emphasizes the importance of the precautionary approach in clinical practice, especially in those subgroups. No significant correlation was observed between seroprotection and factors related to HIV immunosuppression, suggesting that, in a similar population, the immune deficiency does not interfere with development of seroprotection. Also, prior seasonal influenza vaccination did not significantly increase seroprotection, reaffirming the need of specific vaccination in case of a new influenza pandemic.

Keywords: 1. HIV, 2. *Influenza A(H1N1)pdm09*, 3. Seroprevalence

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 – Diagrama esquemático do vírus *Influenza A*.

FIGURA 2 – Hospedeiros do vírus *Influenza A* e subtipos identificados nos diferentes subgrupos.

FIGURA 3 – Pandemias de influenza registradas em humanos desde 1885.

FIGURA 4 – Rearranjo na evolução do vírus *Influenza A(H1N1)pdm09*.

FIGURA 5 – Distribuição de comorbidades em pacientes com HIV/AIDS no IPEC/Fiocruz, Rio de Janeiro (n=254)

LISTA DE TABELAS

- TABELA 1 - Publicações sobre soroproteção contra *A(H1N1)pdm09* na população geral ainda não vacinada.
- TABELA 2 - Trabalhos sobre prevalência de anticorpos pré-vacinais contra o vírus *Influenza A(H1N1)pdm09* em pacientes adultos participantes de ensaios clínicos de vacina.
- TABELA 3 - Trabalhos sobre prevalência de anticorpos contra o vírus *Influenza A(H1N1)pdm09* em pacientes adultos imunocomprometidos não HIV.
- TABELA 4 – Trabalhos de prevalência de anticorpos pré-vacinais contra o vírus *Influenza A(H1N1)pdm09* (HI \geq 1:40) em pacientes com HIV/AIDS participantes de ensaios de vacina.
- TABELA 5 – Características demográficas e clínicas da população estudada (n=254) de pacientes com HIV/AIDS no IPEC/Fiocruz, Rio de Janeiro.
- TABELA 6 - Características clínicas relacionadas ao HIV da população estudada (N=254) de pacientes com HIV/AIDS no IPEC/Fiocruz, Rio de Janeiro.
- TABELA 7 – Anticorpos contra o vírus *Influenza A(H1N1)pdm09* em pacientes com HIV/AIDS no IPEC/Fiocruz, Rio de Janeiro (n=254).
- TABELA 8 – Análise univariada – comparação dos dados demográficos e clínicos de acordo com o estado de soroproteção contra o vírus *Influenza A(H1N1)pdm09* em pacientes com HIV/AIDS no IPEC/Fiocruz, Rio de Janeiro.
- TABELA 9 – Análise multivariada – comparação dos dados demográficos e clínicos relevantes associados à chance de soroproteção contra o vírus *Influenza A(H1N1)pdm09* (razão de chances e intervalo de confiança de 95%) em pacientes com HIV/AIDS no IPEC/Fiocruz, Rio de Janeiro.
- TABELA 10 – Análise multivariada - Modelo de regressão logística das covariáveis demográficas e clínicas relevantes associadas à chance de soroproteção contra o vírus *Influenza A(H1N1)pdm09* (razão de chances e intervalo de confiança de 95%) em pacientes com HIV/AIDS, estratificadas por sexo, vacinação prévia contra influenza sazonal e AIDS.

LISTA DE ABREVIATURAS

AIDS	<i>Acquired immunodeficiency syndrome</i> , síndrome de imunodeficiência adquirida
CDC	<i>Centers for Disease Control and Prevention</i> ; Centro de Prevenção e Controle de Doenças dos Estados Unidos
CEP	Comitê de Ética em Pesquisa
CV	HIV RNA carga viral
Dia 0	Dia da coleta de sorologia do vírus <i>Influenza A(H1N1)pdm09</i>
DP	Desvio padrão
ELISA	<i>Enzyme-linked immunosorbent assay</i> ; ensaio imunoenzimático
H1N1pdm09	<i>Influenza A (H1N1)pdm09</i>
HA	Hemaglutininas
HCV	<i>Hepatitis C virus</i> , vírus da Hepatite C
HI	Inibição de Hemaglutinação
HIV	<i>Human immunodeficiency virus</i> , vírus da imunodeficiência humana
IIQ	Intervalo interquartilico
IMC	Índice de Massa Corpórea
IPEC	Instituto de Pesquisa Clínica Evandro Chagas
MN	Microneutralização
NA	Neuraminidase
OMS	Organização Mundial de Saúde
OR	Razão de chances
PCR	<i>Polymerase Chain Reaction</i> , reação de polimerase em cadeia
RNA	Ribonucleic Acid, Ácido Ribonucleico
RT-PCR	<i>Reverse Transcriptase Polymerase Chain Reaction</i> – reação de polimerase em cadeia via transcriptase reversa
SE	Semana Epidemiológica
SINAN	Sistema de Informação de Agravos de Notificação
SRAG	Síndrome Respiratória Aguda Grave
SVS/MS	Secretaria de Vigilância em Saúde do Ministério da Saúde
TARV	Terapia antirretroviral
TB	Tuberculose
TCLE	Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

SUMÁRIO

	LISTA DE FIGURAS E TABELAS	
	LISTA DE ABREVIATURAS	
1	INTRODUÇÃO	03
2	REVISÃO DA LITERATURA	04
2.1	Influenza	04
2.2	<i>Influenza A(H1N1)pdm09</i>	12
2.3	Soroprevalência do <i>Influenza A(H1N1)pdm09</i>	16
3	JUSTIFICATIVA	25
4	OBJETIVOS	25
4.1	Objetivo geral	25
4.2	Objetivo específico	25
5	METODOLOGIA	26
5.1	Desenho do estudo	27
5.2	Casuística	27
5.3	Parâmetros, definições e técnicas utilizadas	28
5.3.1	Dados Clínicos	28
5.3.2	Dados Laboratoriais	28
5.4	Caracterização dos dados	29
5.5	Análise dos dados	33
5.6	Aspectos éticos	34
5.7	Financiamento	34
6	RESULTADOS	35
6.1	População do estudo	36
6.2	Sorologia contra o vírus <i>Influenza A(H1N1)pdm09</i>	39
6.3	Análise univariada	40
6.4	Análise múltipla	44
7	DISCUSSÃO	47
8	CONCLUSÕES	56
9	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	57
	Anexo I – Procedimento Operacional Padrão do Laboratório de Vírus Respiratórios e Sarampo da Fiocruz para realização da Inibição de Hemaglutinação	70
	Anexo II – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido	81
	Anexo III – Aprovação do CEP	90

1. INTRODUÇÃO

A influenza é doença causada pelo vírus *Influenza* e é responsável por significativa morbimortalidade, especialmente em alguns grupos populacionais, como os indivíduos com HIV/AIDS (MANDELL; BENNETT; DOLIN, 2005). Em abril de 2009 um novo vírus *Influenza A(H1N1)pdm09* (H1N1pdm09) foi identificado em amostras de secreção respiratória de pacientes sem vínculo epidemiológico e se disseminou rapidamente nos diferentes continentes. Em junho de 2009, a Organização Mundial de Saúde (OMS) classificou a situação como uma pandemia (WHO, 2009).

A infecção pela nova variante do vírus *Influenza* apresentou maior morbimortalidade em indivíduos com imunodeficiência (CORDERO *et al.*, 2012). Entretanto, entre os pacientes com HIV/AIDS hospitalizados devido à nova gripe não se verificou diferença significativa nas manifestações clínicas, no índice de complicações e no número de mortes em relação aos não infectados pelo HIV (HIV negativos) (ISAIS *et al.*, 2010). Esses dados são baseados em observação de casos graves internados ou de pessoas que procuram serviços médicos devido ao quadro gripal, o que subestima as taxas reais de infecção na população, devido à não contabilização de casos brandos ou assintomáticos (REED *et al.*, 2009).

Estudos de soroprevalência podem identificar o percentual total dos casos de infecção e proporcionar um panorama da propagação da pandemia. Essa avaliação pode ser feita através da dosagem de anticorpos contra o vírus *Influenza A H1N1 2009* em amostras anônimas da população geral, coletadas antes da introdução da vacina, ou em amostras pré-vacinais de ensaios clínicos de imunogenicidade de vacinas contra a nova gripe. Os valores dos títulos de anticorpos podem variar de acordo com a exposição da população ao vírus, com o grau de circulação do vírus pandêmico na região no momento da coleta da sorologia, com os antecedentes de vacinação contra influenza sazonal, a densidade populacional, faixa etária, história de síndrome gripal e imunossupressão, entre outros fatores.

Estudos entre indivíduos com imunodeficiência são escassos no Brasil e incluem pacientes com imunodeficiências em geral. Essas questões despertaram nosso interesse em estudar a prevalência de soroproteção contra vírus *Influenza A(H1N1)pdm09* em pacientes adultos com HIV/AIDS nas amostras coletadas no momento anterior à vacinação no âmbito de um ensaio clínico em andamento no Instituto de Pesquisa Clínica Evandro Chagas (IPEC).

o *shift* antigênico (CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION, [S.d.]).

A mutação antigênica do tipo *drift* resulta de um acúmulo frequente de mutações que, quando alteram os resíduos de aminoácidos nos epítomos da HA e/ou da NA, podendo levar a uma alteração gradual e frequente do vírus. Como consequência, tem-se um reconhecimento menor ou parcial pelos anticorpos gerados após exposição às cepas anteriores, resultando em imunidade reduzida do hospedeiro. Uma epidemia é geralmente causada pela emergência de uma variante originária de um *drift*, que predomina na população exposta devido à imunidade reduzida (WRIGHT, P. F.; NEUMANN; KAWAOKA, 2007).

A mutação antigênica do tipo *shift* resulta da alteração drástica das proteínas superficiais (HA e NA), com substituição de todo um segmento genético viral por outro proveniente de outro vírus influenza, gerando uma nova variante do vírus. Nesse caso, como há mínima ou nenhuma ligação dessa variante com os anticorpos gerados na população exposta às outras variantes do vírus, não há imunidade específica. Quando uma nova variante viral é introduzida na população ocorre uma pandemia (WRIGHT, P. F.; NEUMANN; KAWAOKA, 2007). O *shift* antigênico pode ocorrer quando duas estirpes virais provenientes de diferentes espécies de hospedeiros infectam uma mesma célula (Figura 2), possibilitando rearranjos, durante o empacotamento viral, que podem gerar uma nova partícula contendo segmentos genéticos de duas estirpes diferentes (NICHOLSON; WOOD; ZAMBON, 2003).

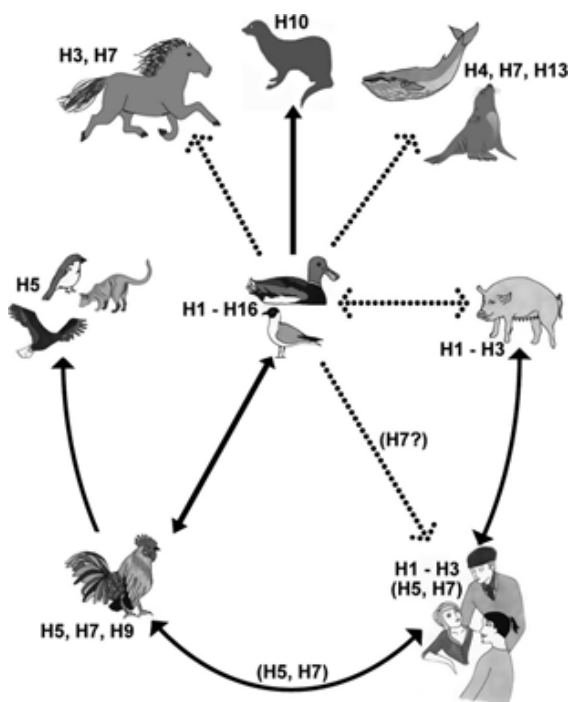


Figura 2 – Hospedeiros do vírus *Influenza A* e subtipos identificados nos diferentes subgrupos. Fonte: Wahlgren J. (WAHLGREN, 2011)

Histórico e epidemiologia

A epidemiologia da influenza é caracterizada por surtos sazonais de severidade variável, que ocorrem principalmente em períodos de inverno e são responsáveis por grande impacto sócio econômico e alta taxa de mortalidade em grupos específicos. As epidemias ocorrem geralmente a cada 3 a 4 anos e são caracterizadas pelo aumento da incidência local de doenças respiratórias febris de início abrupto, com taxas de ataque de 10 a 40%, pico de incidência em 2 a 3 semanas e duração de cerca de 5 a 6 semanas. A curva epidêmica característica do influenza sazonal é em forma de “U”, com maiores taxas de ataque e hospitalizações nos extremos de idade e mortalidade superior em doentes com mais de 65 anos. Maior morbimortalidade também é observada em imunossuprimidos, gestantes e pessoas com comorbidades cardíacas, pulmonares, renais, metabólicas ou hematológicas (TREANOR, 2005; WRIGHT, P. F.; NEUMANN; KAWAOKA, 2007). Menos frequentemente, essas epidemias atingem níveis de alcance mundial, caracterizando as chamadas pandemias, em geral causadas por uma variante do vírus para a qual a população tem imunidade ausente ou escassa, o que acarreta uma transmissão extremamente rápida, fora do padrão sazonal, com altas taxas de ataque em todas as faixas etárias e elevada taxa de mortalidade em adultos jovens (SIMONSEN *et al.*, 1998; TAUBENBERGER; MORENS, 2010). Historicamente foram registradas 32 pandemias de influenza, três das quais no século passado (Figura 3): a pandemia de *Influenza A/H1N1* em 1918, com milhões de mortes nas três primeiras ondas da doença, a pandemia de *Influenza A/H2N2* em 1957 e a de *Influenza A/H3N2* em 1968 (TAUBENBERGER; MORENS, 2010).

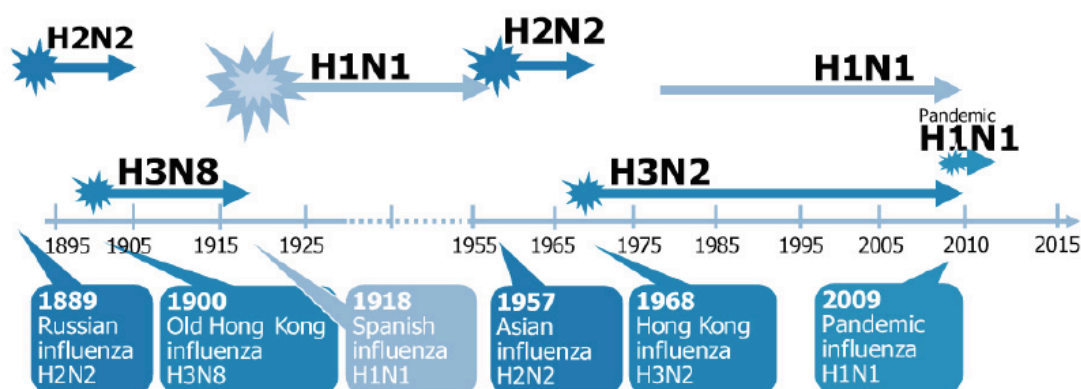


Figura 3 – Pandemias de influenza registradas em humanos desde 1885. Fonte: Nicoll A. (NICOLL, 2010).

Imunopatogenia

Em humanos, a transmissão do vírus se dá de pessoa a pessoa pelo contato com secreções respiratórias infectadas, especialmente através de pequenas partículas de aerossóis (PATROZOU; MERMEL, 2009), com período de incubação de 18 a 72 horas. O vírus pode ser detectado e quantificado em amostras do trato respiratório pouco antes do início dos sintomas, com pico em 24 a 48 horas e queda rápida, até estar indetectável 5 a 10 dias após início da doença (PATROZOU; MERMEL, 2009). Esse período pode ser maior em crianças e pessoas com imunodepressão (NICOLL, 2010; PATROZOU; MERMEL, 2009).

Após o contato do vírus *Influenza* com o epitélio respiratório, os mecanismos de defesa de barreira e a ação de anticorpos IgA do epitélio tentam impedir sua entrada no epitélio colunar. Quando essas barreiras são vencidas o vírus é absorvido, inicia sua replicação e atinge o sangue periférico, ativando a resposta inflamatória e o sistema imune, o que resulta em liberação de citocinas e início dos sintomas constitucionais da influenza (TAMURA; KURATA, 2004). A imunidade é permanente para vírus homólogos e pode haver proteção cruzada para subtipos com *drifts*, entretanto esta proteção varia de acordo com o grau de diferença antigênica entre as variantes virais.

A resposta imune humoral ocorre através da produção de anticorpos contra as proteínas do envelope HA e NA e as proteínas estruturais. A resposta imune celular também tem papel importante no controle da infecção, através de linfócitos T CD4+ que estimulam a produção de anticorpos pelas células B. Como os epítopos da HA reconhecidos pelas células T são diferentes daqueles reconhecidos pelos anticorpos neutralizantes, pode haver reação cruzada entre os diferentes subtipos virais. As células T também exercem ação citotóxica, CD8+ específica, contra o vírus através do reconhecimento de HA, sendo essa, portanto, uma resposta específica para cada subtipo (COUCH; KASEL, 1983; SCHILD; OXFORD; VIRELIZIER, 1975; TAMURA; KURATA, 2004). Dessa forma, as células infectadas pelos vírus podem ser lisadas pela ação do complemento, dos anticorpos dependentes de citotoxicidade celular e dos linfócitos T citotóxicos. A resposta de linfócitos T específica contra o *Influenza* se inicia após a infecção, com pico de ação após 14 dias. A resposta humoral pode ser mais rápida na reinfecção (TREANOR, 2005). Pacientes com AIDS e imunodeficiência severa (com contagem de linfócitos CD4 < 100 céls/mm³) podem apresentar resposta humoral prejudicada e testes sorológicos falso-negativos, conforme já relatado em casos

de infecção pelo HCV e de sífilis em indivíduos com as mesmas características (BARTLETT *et al.*, 2009; GEORGE *et al.*, 2002; PUPPIN *et al.*, 1992).

Quadro clínico

A infecção não complicada pelo vírus *Influenza* se instala de forma abrupta com sintomas sistêmicos como febre, sudorese, cefaleia, mialgia, prostração e anorexia, podendo-se observar menos frequentemente dor retro-ocular, artralgia e tremores. Esses sintomas usualmente duram três dias, mas podem se estender por até oito dias. Concomitantemente, sintomas respiratórios de traqueobronquite, como tosse seca, dor de garganta, obstrução nasal e coriza são comuns, mas menos pronunciados que os sistêmicos, característica típica na infecção por *Influenza*, que a diferencia de outras infecções virais de vias aéreas superiores. Complicações pulmonares e extrapulmonares podem ocorrer mais frequentemente em pessoas com mais de 65 anos, indivíduos com comorbidades cardíacas ou pulmonares e em gestantes, porém esse padrão pode se alterar em situações de pandemias (KUIKEN; TAUBENBERGER, 2008; TREANOR, 2005). Em pessoas imunocomprometidas, as complicações pulmonares são mais frequentes e severas (KUNISAKI; JANOFF, 2009). Em alguns estudos, os pacientes com HIV/AIDS parecem ter susceptibilidade e evolução clínica da influenza semelhante aos pacientes HIV negativos (FINE *et al.*, 2001; GOLDEN; SAJJAD; ELGART, 2001; KUNISAKI; JANOFF, 2009; NABESHIMA *et al.*, 2000; SHETH; ALTHOFF; BROOKS, 2011; THURN; HENRY, 1989), mas outros trabalhos sugerem maior índice de complicações, hospitalizações e mortalidade nessa população, especialmente em indivíduos com AIDS e naqueles sem uso de terapia antirretroviral (TARV)(ALAGIRISWAMI; CHEESEMAN, 2001; LIN; NICHOL, 2001; NEUZIL *et al.*, 2003; RADWAN *et al.*, 2000; SHETH; ALTHOFF; BROOKS, 2011).

Diagnóstico laboratorial

Além do quadro clínico-epidemiológico, o diagnóstico da infecção pelo *Influenza* pode ser feito por isolamento viral, em culturas celulares por detecção de antígenos virais (usando técnicas como imunofluorescência, imunohistoquímica, testes rápidos comerciais), detecção genômica (PCR - *Polymerase Chain Reaction*) ou sorologia. O isolamento viral, a detecção de antígenos virais e a detecção genômica (PCR) são realizados nas secreções respiratórias e de grande utilidade na fase aguda da doença (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2011). Os testes sorológicos podem detectar anticorpos contra as proteínas do envelope HA e NA ou contra proteínas

internas e raramente permitem um diagnóstico precoce da fase aguda da doença. Os anticorpos contra a HA aparecem cerca de duas semanas após a infecção pelo vírus, têm seu pico entre quatro e sete semanas e declinam lentamente após esse período, podendo porém ser detectados mesmo anos após a infecção (SCHILD; OXFORD; VIRELIZIER, 1975; TAKAHASHI, 2007). Para a caracterização de uma infecção recente através da realização de sorologia são necessárias amostras pareadas da fase aguda e do período de convalescença, com demonstração de aumento significativo (quatro vezes ou mais) dos títulos de anticorpos. Os testes sorológicos de HA, como a fixação do complemento, o ensaio imunoenzimático (ELISA) e a microneutralização (MN) podem ser usados para diagnóstico, porém a Inibição da Hemaglutinação (HI) é o teste sorológico de escolha mundial e recomendado pela OMS em estudos soroepidemiológicos (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2011).

A necessidade de mais estudos comparativos entre os métodos HI e MN é tema de discussão entre os estudiosos de *Influenza*, porém a MN parece ser mais sensível que a HI na detecção de anticorpos após a infecção ou vacinação (“Assays for neutralizing antibody to influenza viruses. Report of an informal scientific workshop, Dresden, 18-19 March 2003”, 2003). Apesar de ser considerado um teste promissor em complementação à HI, a MN é um exame complexo e mais caro, envolve múltiplos reagentes e etapas; além disso, a correlação entre seus títulos e a proteção à infecção não está estabelecida. A HI é um ensaio confiável não apenas para detecção de anticorpos contra a HA, mas também para tipagem, subtipagem e determinação de características antigênicas de isolados virais de *Influenza*, ou seja, é útil para detecção de variantes antigênicas entre hemaglutininas dos vírus *Influenza* (VIRELIZIER, 1975; WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2011). A soroproteção é determinada por títulos iguais ou superiores a 1:40 (podendo variar de 1:32 a 1:42, dependendo da padronização do método), com correlação de cerca de 50% de proteção contra a infecção clínica do *Influenza A (H1N1)* (AL-KHAYATT; JENNINGS; POTTER, 1984; STEPHENSON *et al.*, 2009; VIRELIZIER, 1975; ZAMBON *et al.*, 2001).

Um estudo sobre a sensibilidade e a especificidade dos métodos de HI e MN ao vírus *Influenza A(H1N1)pdm09* na fase de convalescença, usando como padrão-ouro o PCR para o vírus pandêmico de secreções respiratórias na fase aguda de uma síndrome gripal, em pacientes norte-americanos com idade menor ou igual 60 anos, mostrou que, para títulos de HI \geq 1:40, havia uma sensibilidade de 75% e uma especificidade de 97%; e que, para títulos de MN \geq 1:40, havia uma sensibilidade de 94% e uma especificidade de 83% (VEGUILLA *et al.*, 2011). Em outro estudo que comparou a sensibilidade dos

métodos HI e MN, usando também como padrão ouro o PCR de secreções respiratórias de pacientes com síndrome gripal, observou-se sensibilidade de 60,3% para títulos de HI \geq 1:40 e de 84,5% para títulos de MN \geq 1:40, além de maior concordância da MN do que da HI com o RT-PCR (PAPENBURG *et al.*, 2011).

Considerando os dados desses estudos, para o vírus *Influenza A (H1N1) pdm 09*, a MN seria um teste mais sensível e a HI um teste mais específico, porém a generalização desses dados para outras populações é questionável. O ELISA é um teste mais prático por não depender da utilização de eritrócitos e ter uma leitura menos subjetiva, feita por absorbância e não por estimativas visuais de aglutinação. Entretanto, além da falta de estudos que determinem a sensibilidade e a especificidade do método, um estudo sobre imunogenicidade à vacina contra *Influenza* pandêmico que usou os métodos HI e ELISA sugeriu uma menor sensibilidade do último teste (LAGLER *et al.*, 2012).

Tratamento e prevenção

O tratamento da influenza baseia-se na terapia de suporte, associado ou não ao uso de antivirais específicos, como os inibidores de M2, amantadina e rimantadina, ou os inibidores de neuraminidase, mais eficazes: zanamivir e oseltamivir (DUTKOWSKI, 2010; JEFFERSON *et al.*, 2000). O tratamento com inibidores de neuraminidase é eficaz na redução de complicações relacionadas à infecção pelo *Influenza* em pessoas saudáveis e naquelas pertencentes aos grupos com maior risco de complicações. Devido a boa tolerabilidade e segurança dessas drogas, o tratamento iniciado precocemente é importante ferramenta na redução do número de complicações (FALAGAS, M. E. *et al.*, 2010). O tratamento específico dos doentes e a quimioprofilaxia pós-exposição são medidas de controle adjuvantes à vacinação, por reduzir a circulação viral (FIORE *et al.*, 2010).

O modo mais efetivo de prevenção da influenza e seus possíveis desfechos graves é a vacinação, realizada anualmente com vírus particulado inativado, ministrada via parenteral. A produção da vacina clássica de *Influenza* baseia-se em uma tecnologia antiga, porém confiável (WOOD; ROBERTSON, 2007), de cultivo de cepas de vírus inativado em ovo de galinha. Estão licenciadas para uso em humanos as vacinas de vírus inativado particuladas ou as de subunidades (HA e NA) purificadas. Independentemente do tipo de vacina, ela deve incluir, de acordo com a recomendação anual realizada pelos Centros Colaboradores da Rede de Vigilância em Influenza da OMS, duas amostras de *Influenza A* (subtipos A/H3N2 e A/H1N1) e uma amostra de

Influenza B, da linhagem Victoria ou Yamagata - as duas linhagens de *Influenza B* que cocirculam na população desde 2001. Essas vacinas licenciadas de vírus inativados desencadeiam boa resposta sorológica e são bem toleradas (FIORE; BRIDGES; COX, 2009; WRIGHT, P.; DOLIN; LA MONTAGNE, 1976). A vacina inativada deve ser aplicada por via intramuscular e resulta tanto na produção de anticorpos da classe IgG, principalmente contra a HA, iniciada cerca de 2 semanas após a imunização, quanto na resposta de linfócitos T citotóxicos. A eficácia das vacinas anti-*influenza* é fortemente variável de acordo com a idade do receptor, com sua imunidade e com o grau de semelhança entre as amostras da vacina e as amostras circulantes na região quando da vacinação. Estudos referentes à imunização indicam que pessoas idosas ou com imunodepressão podem ter resposta menos expressivas à vacina. Em adultos com menos de 65 anos, as vacinas previnem aproximadamente 70 a 90% de infecções por *Influenza* (BRIDGES *et al.*, 2000) e, nas idades mais avançadas, entre 30 e 70%. (DEANS; STIVER; MCELHANEY, 2010; FAGIOLO *et al.*, 1993; KROON, F. *et al.*, 2000; MIOTTI *et al.*, 1989; NELSON *et al.*, 1988; SOESMAN *et al.*, 2000). Doses mais altas podem ser mais imunogênicas (PALACHE *et al.*, 1993). Diversos estudos de imunogenicidade de vacinas contra a influenza em pacientes com HIV/AIDS demonstram percentuais de soroconversão (para anticorpos contra o *Influenza*) inferiores aos da população geral, além de uma correlação de menor resposta imunogênica com maior grau de imunossupressão. Apesar de muitos desses estudos possuírem pequeno número de participantes com contagem de linfócitos CD4 <200 células/mm³ e correlação diversa com parâmetros de imunossupressão como alta carga viral e baixa contagem de linfócitos CD4, infere-se que a disfunção de células T causada pelo HIV possa diminuir a resposta imune à vacinação e à infecção pelo vírus *Influenza* em pacientes com HIV, principalmente naqueles com AIDS (FRITZ *et al.*, 2010; MIOTTI *et al.*, 1989).

A vacinação visa prioritariamente à redução do número de complicações e mortes, sendo essencial em pessoas com fatores de risco para complicações. A OMS preconiza a vacinação anual contra influenza para pessoas residentes em casas de repouso e asilos, idosos, pessoas com doenças crônicas, gestantes, profissionais de saúde, pessoas com funções essenciais na sociedade e crianças entre 6 meses e 2 anos de idade (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2009).

2.2. *Influenza A(H1N1)pdm09*

Em abril de 2009, um novo vírus Influenza A (H1N1) foi identificado em amostras de secreções respiratórias de pacientes sem vínculo epidemiológico, inicialmente no México, espalhando-se para os Estados Unidos e o Canadá. O Centro de Prevenção e Controle de Doenças dos Estados Unidos (CDC) identificou as amostras como um novo vírus, caracterizado por uma combinação única de segmentos genéticos humanos e suínos, o *Influenza A(H1N1)pdm09* (Figura 4).

Apesar de ter sido implementada uma vigilância epidemiológica intensa, os casos se disseminaram rapidamente pelo mundo e atingiram níveis de pandemia, tal como definido pela Organização Mundial de Saúde ("um vírus *Influenza* causando surtos sustentados na comunidade em pelo menos dois países, em pelo menos duas regiões da OMS") (GIRARD *et al.*, 2010; WORLD, 28 ago2010).

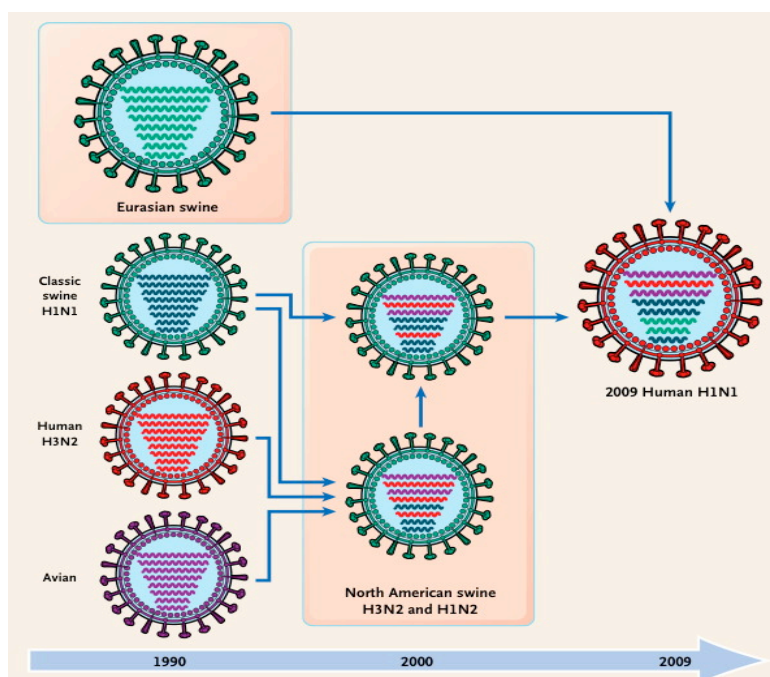


Figura 4 –Rearranjo na evolução do vírus *Influenza A (H1N1) pdm 09*.
Fonte: Trifonov (TRIFONOV; KHIABANIAN; RABADAN, 2009)

De acordo com dados do Ministério da Saúde do Brasil, em 2009 houve predominância da circulação do vírus influenza pandêmico nos Hemisférios Norte e Sul a partir da semana epidemiológica (SE) 20 (SECRETARIA DE VIGILÂNCIA EM SAÚDE - MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2010). Estudos baseados em casos de infecção pelo novo vírus pandêmico - confirmados laboratorialmente - mostram que crianças e adultos jovens foram mais atingidos e que os idosos foram atipicamente menos acometidos. Estudos de soroprevalência apresentam baixa proporção de anticorpos em

peças nascidas depois de 1944 e maior proporção de soropositivos entre os idosos (IKONEN *et al.*, 2010), possivelmente devido a uma proteção cruzada causada pela exposição a subtipos semelhantes no início do século XX (DAWOOD *et al.*, 2009).

No Brasil, a Secretaria de Vigilância em Saúde do Ministério da Saúde (SVS/MS) fez uma divisão da pandemia em duas fases epidemiológicas distintas: fase de contenção e fase de mitigação, de acordo com o marco de transmissão sustentada na SE 28. Na fase de contenção, ocorreram 4434 casos confirmados por critério laboratorial ou clinicoepidemiológico, dos quais 35% apresentaram quadro clínico de Síndrome Respiratória Aguda Grave (SRAG) e um perfil semelhante ao de viajantes internacionais, com predomínio de homens e de indivíduos com faixa etária entre 20 e 29 anos. Na fase de mitigação, os dados da SVS/MS foram baseados em casos de SRAG, com pico de casos em agosto de 2009 (SE 31) e incidência nacional de 23,3/100.000 habitantes, sendo a maior incidência observada no grupo etário de menores de dois anos, seguido do grupo de 20 a 29 anos. Entre os casos confirmados de SRAG na fase de mitigação, a maioria (n= 10823; 24,3%) tinha entre 20 e 29 anos; 18,1% tinham entre 10 e 19 anos, 15,1%, entre 30 e 39 anos, e 10,4%, entre 40 e 49 anos. Nessa fase, houve maior proporção de mulheres (57,2%) e de indivíduos da raça branca (71,8%). Entre os 44.544 casos confirmados, 45,1% apresentavam algum tipo de comorbidade (sendo as mais frequentes as pulmonares, seguidas das cardiopatias, imunossupressão e doenças metabólicas). A taxa de mortalidade por influenza pandêmica no Brasil em 2009 foi de 1,1/100 mil habitantes, dados semelhantes aos divulgados pelos outros países das Américas. Foram registrados casos em todas as regiões do Brasil e as com maiores taxas de incidência e de mortalidade foram Sudeste e Sul (SECRETARIA DE VIGILÂNCIA EM SAÚDE - MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2010).

O período de incubação da doença pelo novo vírus varia de 2 a 7 dias, com período de transmissibilidade de um dia antes do início dos sintomas a 7 dias após, podendo se prolongar em crianças e pessoas com imunodepressão (DAWOOD *et al.*, 2009; DE SERRES *et al.*, 2010).

Os sintomas mais frequentes são febre, tosse e dor de garganta, seguidos de vômitos e diarreia (DAWOOD *et al.*, 2009; KOTSIMBOS *et al.*, 2010; KUMAR, S. *et al.*, 2010). Na maioria dos casos a doença é autolimitada, pouco severa e manifesta-se com sintomas semelhantes aos da gripe sazonal. Fatores como idade inferior a 5 anos, gestação, doenças crônicas cardiovasculares, pulmonares, hepáticas, renais, neurológicas e imunossupressão são associados a uma doença mais grave; a idade

superior a 65 anos não foi, entretanto, associada à gravidade ((CDC), 2010a; CUI *et al.*, 2010; DAWOOD *et al.*, 2009; KUMAR, S. *et al.*, 2010). A hospitalização, segundo vários estudos, ocorreu entre 6 e 45,3% dos pacientes, principalmente devido a fatores associados à gravidade (DAWOOD *et al.*, 2009; FALAGAS, M. *et al.*, 2010; KOTSIMBOS *et al.*, 2010; VENKATA; SAMPATHKUMAR; AFESSA, 2010). Em estudos com pacientes hospitalizados, as comorbidades mais frequentemente observadas foram hipertensão, obesidade e diabetes ((CDC), 2010a; VENKATA; SAMPATHKUMAR; AFESSA, 2010). A internação em unidade de terapia intensiva foi percebida entre 13 a 44% dos pacientes, principalmente devido a complicações respiratórias; entre 14 e 42% dos pacientes morreram (CUI *et al.*, 2010; FALAGAS, M. *et al.*, 2010; KOTSIMBOS *et al.*, 2010; RODRÍGUEZ *et al.*, 2010; VENKATA; SAMPATHKUMAR; AFESSA, 2010). Um estudo multicêntrico (Estados Unidos, Canadá e Holanda) em pacientes imunodeprimidos revelou alta taxa de hospitalização (de 71%), com 16% de admissão em Unidade de Terapia Intensiva e 4% de mortes, principalmente naqueles com retardo no início do tratamento (KUMAR, D. *et al.*, 2010). Em um estudo brasileiro do Hospital das Clínicas de São Paulo, onde foram confirmados 472 casos (31%) entre os pacientes submetidos à coleta de amostras respiratórias por síndrome gripal, houve 210 hospitalizações (45%), a maioria com comorbidades e 16 (7,6%) óbitos, principalmente por complicações respiratórias (SCHOUT *et al.*, 2009).

Nos poucos estudos publicados sobre pacientes com HIV/AIDS hospitalizados devido à nova gripe não se verificou diferença significativa nas manifestações clínicas e nos índices de complicações e de mortes em relação à população geral (ISAIS *et al.*, 2010; PEREZ *et al.*, 2010; RIERA *et al.*, 2010). Entretanto, nesses estudos, a maioria dos pacientes estava em uso de TARV com supressão viral e a média de contagem de linfócitos CD4 era superior a 400 células/mm³. Além disso, a proporção de pacientes com HIV/AIDS que foi tratada precocemente com oseltamivir (ISAIS *et al.*, 2010) e que referiu vacinação contra influenza sazonal no ano anterior foi maior do que a dos pacientes HIV negativos (ISAIS *et al.*, 2010; RIERA *et al.*, 2010). Em uma revisão sobre influenza em indivíduos com HIV/AIDS também não se observou dados consistentes sobre maior gravidade, mais complicações e mortes do que entre os HIV negativos; a maioria dos casos foi de complicações associadas a outras comorbidades ou a doenças oportunistas concomitantes, que poderiam ser um viés para o desfecho (SHETH; ALTHOFF; BROOKS, 2011).

Um estudo brasileiro realizado em um centro de referência de tratamento de HIV/AIDS em São Paulo mostrou que, entre 22 de julho e 30 de outubro de 2009, foram atendidos 108 pacientes com suspeita de infecção pelo vírus pandêmico, sendo 18 (16.7%) casos confirmados por PCR em secreção respiratória. Desses 18 pacientes com HIV/AIDS e infecção confirmada pelo H1N1 pandêmico, 73% eram do sexo masculino, a idade média era de 41,3 anos (variando de 12 a 59 anos) e o índice de massa corpórea (IMC) variou de 16,7 a 31,5 (média 24); 17 pacientes (94%) estavam em uso de terapia antirretroviral. A contagem de linfócitos CD4 média foi de 600 células/mm³ (+/- 271.2) e apenas 3 pacientes apresentaram valores inferiores a 200 células/mm³. Ainda, 14 pacientes (77%) estavam com carga viral indetectável e o tempo médio de infecção pelo HIV era de 13 anos; 50% dos pacientes haviam recebido vacina contra influenza sazonal no ano anterior. Em relação às comorbidades, 5 (27%) tinham hipertensão, 2 (11%) tinham diabetes, 3 (16%) apresentaram depressão, 2 (11%) tinham história de tuberculose pulmonar, 1 (5%) tinha asma e 2 (11%) eram tabagistas. Desses 18 pacientes com HIV/AIDS e infecção confirmada pelo vírus pandêmico, 8 (44,4%) foram tratados ambulatorialmente e 10 (55,6%) foram hospitalizados. Foram detectadas hipoxemia e pneumonia em 6 pacientes, com necessidade de suporte ventilatório, porém, nenhum paciente necessitou de ventilação mecânica ou morreu (BIANCO *et al.*, 2011).

Na época da pandemia, o tratamento específico da influenza com antivirais foi ferramenta importante no controle dos casos, na contenção da disseminação da doença e no tratamento dos casos graves ou de pessoas com fatores de risco para complicações. As avaliações genéticas e fenotípicas realizadas no início da pandemia revelaram que o novo vírus era susceptível ao zanamivir e ao oseltamivir e resistente aos inibidores de M2 ((CDC), 2009). O tratamento antiviral pode reduzir a duração dos sintomas e a circulação viral, porém muitos países, inclusive o Brasil, não realizavam no momento o tratamento de casos leves e moderados devido ao risco de resistência e preconizam a instituição do tratamento empírico para pessoas com fatores de risco de gravidade ou com pneumonia (CHENG *et al.*, 2012). De qualquer forma, a instituição de tratamento antiviral precoce está relacionada à diminuição da gravidade e da mortalidade, quando se compara ao tratamento tardio ou à ausência de tratamento (KUMAR, A., 2011; MUTHURI *et al.*, 2013; RORAT *et al.*, 2013).

Em resposta à pandemia, foram desenvolvidas e licenciadas diversas vacinas contra o vírus *Influenza A(H1N1)pdm09* e, em diversos países, foram implementados programas de vacinação visando a populações-alvo de risco (“Global Advisory

Committee on Vaccine Safety, 3-4 December 2009.”, 2010). O Brasil foi um dos países com maiores campanhas de vacinação, realizada através da Estratégia de Vacinação da Influenza Pandêmica H1N1, iniciada em março em 2010, com vacinação de mais de 89.5 milhões de pessoas (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2011). Os eventos adversos reportados, relacionados à vacina, foram semelhantes aos reportados para vacina contra a influenza sazonal, com baixos índices de eventos adversos graves (menos de 2 eventos em 1 milhão de doses administradas), como anafilaxia, síndrome de Guillain-Barré ou morte (CDC, 2010; VELLOZZI *et al.*, 2010).

2.3. Soroprevalência do *Influenza A (H1N1) pdm 09*

Assim como no caso da influenza sazonal, os estudos de prevalência são baseados na aferição de casos confirmados laboratorialmente em unidades sentinelas, nos casos graves hospitalizados ou nos registros de óbitos, o que subestima as taxas reais de infecção, pois falha na contabilização de casos brandos ou assintomáticos (DELLAGI *et al.*, 2011; HARDELID *et al.*, 2010; REED *et al.*, 2009; “Seroepidemiological studies of pandemic influenza A (H1N1) 2009 virus.”, 2010). Os estudos de soroprevalência conseguem estimar melhor o percentual total dos casos e podem ser feitos através da dosagem de anticorpos contra o vírus *Influenza A(H1N1)pdm09* em amostras anônimas de uma população ou em ensaios clínicos de avaliação da resposta imune às diferentes vacinas contra a nova gripe, nos quais é realizada a dosagem de anticorpos em amostras pré-vacinais.

Uma revisão de diversos estudos publicados de soroprevalência (ADAMSON *et al.*, 2010; ALLWINN *et al.*, 2010; CHAN *et al.*, 2010; CHEN, C.-J. *et al.*, 2011; CHEN, H. *et al.*, 2009; CHEN, M. *et al.*, 2010; CHEN, Y. *et al.*, 2011; GILBERT *et al.*, 2010; GRILLS *et al.*, 2010; HUANG *et al.*, 2011; MCVERNON *et al.*, 2010; MILLER *et al.*, 2010; PRACHAYANGPRECHA *et al.*, 2010, 2011; TANDALE *et al.*, 2010; XU *et al.*, 2011; YANG *et al.*, 2011; ZHANG *et al.*, 2011; ZIMMER *et al.*, 2010), realizados em diferentes regiões, nos quais foram avaliadas amostras populacionais (Tabela 1) ou provenientes de voluntários incluídos em ensaios clínicos de vacinas (CLARK *et al.*, 2009; GREENBERG *et al.*, 2009; HUIJSKENS *et al.*, 2011; KUBAVAT *et al.*, 2011; KUNG *et al.*, 2010; LIANG *et al.*, 2010; LÓPEZ-MACÍAS *et al.*, 2011; MADHUN *et al.*, 2010; MÖRNER *et al.*, 2012; NICHOLSON *et al.*, 2011; PLENNEVAUX *et al.*, 2010; PRECIOSO *et al.*, 2011; ROMAN, F *et al.*, 2010; ROMAN, FRANÇOIS *et al.*, 2010; RUBINSTEIN *et al.*, 2011; SUN *et al.*, 2011; TALAAT *et al.*, 2010; TSAI *et al.*, 2010; VAJO *et al.*, 2010; WU *et al.*, 2010; ZHU *et*

al., 2009) (Tabela 2) mostrou uma variação entre 0 e 58,9% na soroproteção de indivíduos não vacinados.

A mais alta soroproteção (58,9%) foi observada em um estudo iraniano com indivíduos não vacinados, o que poderia ser justificado pelo alto percentual de pessoas com história de síndrome gripal nos últimos 6 meses (54,9%). Porém, na análise estatística do estudo, esta covariável não alterou significativamente os títulos na soroprevalência ($p=0,06$), o que sugere que pode ter ocorrido, na região do estudo, um alto índice de soroconversão após infecções assintomáticas. Os indivíduos que participaram do estudo tinham idade entre um mês e 87 anos, mas, mesmo se considerada apenas a faixa etária entre 20 e 59 anos, a soroproteção foi de 57,7%. De acordo com dados de vigilância da OMS, o pico da positividade de espécimes para o vírus *Influenza A(H1N1)pdm09* nos anos de 2009 e 2010 ocorreu entre as SE 41 e 50 de 2009, período no qual foram coletadas as amostras do estudo, o que pode justificar a alta soroproteção encontrada (MOGHADAMI *et al.*, 2010).

Os estudos que avaliaram a presença de anticorpos com reatividade cruzada no período pré-pandêmico evidenciam soroproteção de 2,9 a 62,3% em pessoas acima de 65 anos, de 0 a 15,8% em pessoas entre 18 e 64 anos e de 0 a 10,3% em crianças e jovens, com percentuais variáveis de acordo com o número de participantes em cada extrato etário, com a amplitude de idade abordada em cada estudo e com as diferentes regiões geográficas, porém, houve nítida evidência de maior prevalência nos mais idosos, e menor nas crianças menores (ACHONU *et al.*, 2011; GILBERT *et al.*, 2010; HARDELID *et al.*, 2010; REED *et al.*, 2009; TRAUER *et al.*, 2013; WAALEN *et al.*, 2010). Um estudo alemão, entretanto, apresentou resultado diverso, com maior prevalência na faixa etária entre 18 e 29 anos, porém, o pequeno número de pessoas em algumas faixas etárias, entre elas a dos mais idosos, pode ser a razão para tal divergência (DUDAREVA *et al.*, 2011).

Diversos estudos apresentam percentual superior de soroproteção em pessoas com idade de até 20 anos ou em pessoas na faixa etária de 15 a 24 anos (DELLAGI *et al.*, 2011; GÖZALAN *et al.*, 2012; MILLER *et al.*, 2010; TIAN *et al.*, 2011; TRAUER *et al.*, 2013; WAALEN *et al.*, 2010; YANG *et al.*, 2011). O estudo iraniano já referido apresentou soroproteção significativamente menor ($p<0,05$) na faixa etária entre 20 e 24 anos (47,76%); entretanto, o estudo englobou pessoas com idades entre um mês e 87 anos, e todas as faixas etárias apresentaram percentual alto de soroproteção, fatores que podem ter influenciado na diferença do achado (MOGHADAMI *et al.*, 2010).

Os estudos que avaliaram a influência da vacinação prévia contra a influenza sazonal divergem na forma como o dado de história de vacinação foi coletado; alguns consideraram a história de vacinação no ano anterior à coleta da sorologia (ACHONU *et al.*, 2011), enquanto outros consideram a vacinação prévia num período determinado de anos (GÖZALAN *et al.*, 2012; TIAN *et al.*, 2011), ou ainda, apenas história de vacinação sem especificação do momento (CHEN, M. *et al.*, 2010; DUDAREVA *et al.*, 2011). Além disso, alguns estudos incluíram também pacientes que receberam vacina contra influenza pandêmica e não estratificaram esse dado como variável de confusão na análise (ACHONU *et al.*, 2011; MCVERNON *et al.*, 2010; TIAN *et al.*, 2011). Alguns estudos mostraram aumento de títulos de anticorpos contra o *Influenza* pandêmico em indivíduos com vacinação contra influenza sazonal prévia (ACHONU *et al.*, 2011; CHEN, M. *et al.*, 2010; DUDAREVA *et al.*, 2011) e outros não (GÖZALAN *et al.*, 2012; TIAN *et al.*, 2011); portanto, os resultados são variados e fatores de confusão impossibilitam a avaliação correta da influência dessa variável (ACHONU *et al.*, 2011; CHEN, M. *et al.*, 2010; DUDAREVA *et al.*, 2011; GÖZALAN *et al.*, 2012; MCVERNON *et al.*, 2010; TIAN *et al.*, 2011).

Dois estudos que avaliaram a influência de história recente (até 6 meses) de síndrome gripal na soroproteção verificaram aumento significativo nessa soroprevalência, porém incluíram indivíduos já vacinados para influenza pandêmica, o que pode ter influenciado no resultado, mesmo levando em consideração esse fator na análise multivariada (ACHONU *et al.*, 2011; GÖZALAN *et al.*, 2012). O estudo iraniano citado anteriormente também avaliou essa correlação e não encontrou diferença significativa, porém as peculiaridades já discutidas desse estudo podem ter interferido no seu resultado (MOGHADAMI *et al.*, 2010).

Alguns estudos tentaram avaliar a influência de viver em grandes cidades, residir em situações de conglomeração, em casas com família numerosa ou o contato com escolares no aumento da soroprevalência, porém os resultados dessas avaliações foram muito variáveis, provavelmente devido aos diferentes perfis das populações (ACHONU *et al.*, 2011; MALTEZOU *et al.*, 2011; MOGHADAMI *et al.*, 2010).

Os estudos que verificaram o gênero na variação dos títulos de HI de *Influenza A(H1N1)pdm09* através de regressão logística não observaram um efeito aparente desta variável (ACHONU *et al.*, 2011; HARDELID *et al.*, 2010; MOGHADAMI *et al.*, 2010; DUDAREVA *et al.*, 2011).

O estudo iraniano já citado avaliou a influência da presença de comorbidades crônicas, agrupando todas as doenças como asma, doença respiratória, diabetes,

infecção pelo HIV, imunodeficiência, entre outras, em uma covariável, sem evidência de correlação com a soroproteção, porém as peculiaridades desse estudo, já discutidas, prejudicam a generalização do achado (MOGHADAMI *et al.*, 2010).

Há estudos com referência à prevalência de soroproteção contra *Influenza A(H1N1)pdm09* em amostras anônimas ou pré-vacinais em pacientes com imunossupressão não relacionada ao HIV (ENGELHARD *et al.*, 2011; GUELLER *et al.*, 2011; HUO *et al.*, 2011; LAGLER *et al.*, 2011; MACKAY *et al.*, 2011; MEYER *et al.*, 2011; NAM *et al.*, 2011; OHFUJI *et al.*, 2011; RIBEIRO *et al.*, 2011; SAAD *et al.*, 2011) que revelam uma variação da soroprevalência de *Influenza A(H1N1)pdm09* de 0 a 58,75% (Tabela 3).

Os estudos de soroprevalência de *Influenza A(H1N1)pdm09* em pessoas com HIV/AIDS são, por sua vez, raros e controversos. Em um hospital de Taiwan, um estudo de soroincidência analisou amostras laboratoriais colhidas de rotina para exames de contagem de linfócitos CD4 e CV entre setembro e novembro de 2009, e encontrou 14,7% de soroproteção inicial nos 931 pacientes com HIV/AIDS que foram avaliados (HUNG *et al.*, 2012). Outro estudo de soroconversão de *Influenza A (H1N1) pdm 09*, na Austrália, em pacientes com HIV/AIDS, apresentou uma taxa de soroproteção inicial de 34,2% após a primeira onda (entre julho e setembro de 2009), percentual semelhante à população geral (KOK *et al.*, 2011).

Os estudos de intervenção para avaliação da resposta imune à vacina em indivíduos com HIV/AIDS, realizados entre outubro de 2009 e julho de 2010, revelam uma proporção de soroproteção pré-vacinal de 8,82% na França, durante a primeira onda da pandemia (LAUNAY *et al.*, 2011); de 38,9%, na Austrália, após a primeira onda (MARSZAK *et al.*, 2012) e, durante a 2ª onda: de 8,6% no Brasil (São Paulo) (MIRAGLIA *et al.*, 2011); de 13% na Suíça (MANUEL *et al.*, 2011); de 14,4 % na Alemanha (BICKEL, M *et al.*, 2010); de 44% na Holanda (SOONAWALA *et al.*, 2011); de 4,1 a 79,6% na Itália (FABBIANI *et al.*, 2011; KAJASTE-RUDNITSKI *et al.*, 2011; ORLANDO *et al.*, 2010; PARIANI *et al.*, 2011); de 70% na Áustria (LAGLER *et al.*, 2012); de 10,5 a 25% nos Estados Unidos (EL SAHLY *et al.*, 2012; HO *et al.*, 2011; TEBAS *et al.*, 2010); de 10% no Canadá (COOPER *et al.*, 2012) e de 11,5 a 12,6 no Japão (HATAKEYAMA *et al.*, 2011; YANAGISAWA *et al.*, 2011) (Tabela 4).

A variação da soroprevalência do *Influenza A(H1N1)pdm09* pode estar associada a diversos fatores, entre eles: diferenças regionais, diferenças entre os grupos populacionais, exposição da população ao vírus, história de vacinação contra influenza

sazonal, imunossupressão, faixa etária, historia de síndrome gripal, momento da coleta das amostras em relação à circulação do vírus e pico de incidência de transmissão em cada local.

Tabela 1: Publicações sobre soroproteção contra *Influenza A(H1N1)pdm09* em população ainda não vacinada.

Trabalho	Data	Local	Circulação influenza H1N1	Sorologia	População	N	Idade média (anos)	% homens	% com vacina sazonal ano anterior	% soroproteção
Chan YJ	Out-Nov/09	Taiwan	Na 1ª onda	HI ≥ 1:40	PS*	295	36,9	24,4%	—	20%
					PC**	244	52,0	57,6%	—	2,9%
Chen CJ	Set-Ago/10	Taiwan	Após 1ª onda	HI ≥ 1:40	Geral	912	todas	—	—	20,6%
Chen MIC	Jun- Jul/09	Singapura	Início 1ª onda	HI ≥ 1:40	Geral	838	43	42%	—	23%
					Militar	1213	22	97%	—	9%
					PS*	558	34	16%	—	7%
					I***	300	56	44%	—	7%
Miller	Set/09	Inglaterra	Após 1ª onda	HI ≥ 1:32	Geral	152	15 a 64	—	—	16,5%
Momer	Out/09	Suécia	Na 1ª onda	HI ≥ 1:40	Geral	2218	Todas	—	—	5,4%
Zimmer	Nov-Dez/09	EUA	Na 2ª onda	HI ≥ 1:40	H ****	366	20 a 59	—	—	14 a 22%
Zhang X	Jan/10	China	Após 1ª onda	HI ≥ 1:40	Geral	4319	Todas	49,9 %	—	22,82%
Prachayangprech	Dez/09	Tailândia	Após 1ª onda	HI ≥ 1:40	PS *	255	34	23,1%	—	48,2%
McVernon	Out-Dez/09	Australia	Após 1ª onda	HI ≥ 1:40	DS*****	779	—	43,3%	—	22%
Xu	Jan/10	China	Após 1ª onda	HI ≥ 1:40	Geral	16469	16-59a	—	—	22%
Gilbert	Ago-Set/09	Australia	Na 1ª onda	HI ≥ 1:40	Geral	460	18-64	—	—	33,3%
Grills	Ago-out/09	Australia	Fim 1ª onda	HI ≥ 1:40	Geral	381	43,6	42,8%	—	16%
Allwinn R	Nov/09	Alemanha	Na 2ª onda	HI ≥ 1:40	Geral	212	20 - 60	—	—	11,3%
Chen Y	Mai/10	China	Após 1ª onda	HI ≥ 1:40	DS *****	11231	20 - 68	—	—	4,5%
Yang	Dez/09-Jan/10	China	Final 1ª onda	HI ≥ 1:40	Geral	301	—	—	—	13,6%
Allwinn R	Jan/10	Alemanha	Final 1ª onda	HI ≥ 1:40	Geral	429	—	—	—	19,8%
Chen Y	Mar/10	China	Após 1ª onda	HI ≥ 1:40	DS *****	366	—	—	—	28%
Achonu	Ago-Set/09	Canadá	Após 1ª onda	HI ≥ 1:40	Geral	4399	≥18	29,1%	—	10,9% a
Dellagi	Jul- Set/09	Réunion	Durante e após 1ª onda	HI ≥ 1:40	Geral	639	20 a 59	46%	—	35,6%
Waaen	Ago/09	Noruega	Após 1ª onda	HI ≥ 1:40	H ****	2116	—	—	—	3,2%
Moghadami	Dez/09	Irã	Após 1ª onda	HI ≥ 1:40	Geral	2553	33,3	37,4%	6%	58,9%
Aho	Nov-Dez/09	Finlândia	Na 1ª onda	HI ≥ 1:40	militares	346	21	99%	—	22,3%
Dudareva	Jan-Abr/10	Alemanha	Após 2ª onda	HI ≥ 1:40	Geral	351	47	86%	30,5%	4,2 - 42,4%
Tandale	Ago - Dez/09	Índia	Na 1ª onda	HI ≥ 1:40	PS*	495	20 - 59	55,6%	—	2,8%
Aho	Nov/09	Finlândia	Na 1ª onda	HI ≥ 1:40	militares	385	21	47,5%	—	12%
Dudareva	Ago/09	Alemanha	Após 2ª onda	HI ≥ 1:40	Geral	385	>20	63,4%	—	4,9%
Tandale	Nov/09	Índia	Na 1ª onda	HI ≥ 1:40	PS*	278	20 - 59	76,6%	—	9,4%
	Dez/09					225		69,3%	—	15,1%
	Ago/09				Trabalhado	348	>20	27,9%	—	2%

Tabela 2: Trabalhos sobre prevalência de anticorpos pré-vacinais contra *Influenza A(H1N1)pdm09* em pacientes adultos participantes de ensaios clínicos de vacina.

Trabalho	Data	Local	Pop	Circulação Influenza H1N1	Sorologia	N	Idade média (anos)	% de homens	Raça	Comorb Idade	% com vacina sazonal ano anterior	% com soroproteção baseline
Greenberg	Jul/09	Austrália	Geral	Na 1ª onda	HI ≥ 1:40	239	50	44,2%	92,5%B	---	45%	26,8%
Hujskens	Nov/09–Jul/10	Holanda	PS*	Na 2ª onda	HI ≥ 1:40	498	43	41%	--	8,2%	25,9%	4,4%
Kubavat	Fev–Abr/10	India	Geral	Após 1ª onda	HI ≥ 1:40	198	30,8	72,7%	---	---	---	4,1%
Liang	Jul – Set/09	China	Geral	Início 1ª onda	HI ≥ 1:40	4708	42	41,9%	---	---	---	4%
Plennevaux	Ago/09	EUA	Geral	Após 1ª onda	HI ≥ 1:40	497	41	44%	---	---	36%	24,14%
Roman (CID)	Set/09	Bélgica	Geral	Início 1ª onda	HI ≥ 1:40	120	39,7	45,8%	100%B	---	40,8%	8,3%
Roman (Vacine)	Ago/2009	Alemanha	Geral	Na 1ª onda	HI ≥ 1:40	117	39,3	55,4%	100% B	---	---	12,8%
Tsal	Ago/09	Costa Rica	Geral	Após 1ª onda	HI ≥ 1:40	390	18-64	---	---	---	---	22%
	Set/09	EUA		Fim 1ª onda, Início 2ª onda	HI ≥ 1:40	1344		---	---	---	---	24 %
	Ago/09	Suíça		Na 1ª onda	HI ≥ 1:40	154		---	---	---	---	16,9%
	Ago/09	Bélgica		Início 1ª onda	HI ≥ 1:40	651		---	---	---	---	10,1%
	Set–Out/09	Japão		Na 1ª onda	HI ≥ 1:40	510		---	---	---	---	10%
Vajo	Ago – Set/2009	Hungria	Geral	Antes 1ª onda	HI ≥ 1:40	203	42,3	47%	100%B	---	---	0
Zhu	Jul – Ago/2009	China	Geral	Na 1ª onda	HI ≥ 1:40	660	12-60	---	---	---	---	4,3%
Nicholson	Out/09–Mar/10	Inglaterra	Geral	Na 2ª onda	HI ≥ 1:40	276	18-64	33,7%	91% B	---	22,5%	10,5%
Rubinstein	Nov/09 – Jan/10	Canadá	Ab N **	Na 2ª onda	HI ≥ 1:40	94	36,2	35,8%	---	76,8%	0%	17%
			Ab M ***			43	39,7	30,2%	---	74,4%	0%	16,3%
Sun	Out/09	China	Geral	Início 1ª onda	HI ≥ 1:40	148	39	---	---	---	---	11,38%
López-Macias	Out/09–Mar/10	México	Geral	Após 2ª onda	HI ≥ 1:40	749	35	42%	---	---	---	36–41%
Talaat	Nov/09	EUA	Geral	Na 2ª onda	HI ≥ 1:40	644	41,4	42,2%	76,6%B	---	37,1%	28,8%
Wu J	Jul/09	China	Geral	Início 1ª onda	HI ≥ 1:40	706	41,6	---	---	---	---	4,53%
Madhun	Out/09	Noruega	PS *	Início 1ª onda	HI ≥ 1:40	207	40,7	13,5%	---	---	34%	9,2%
Kung	Set– Out/09	Taiwan	Geral	Fim 1ª onda, Início 2ª onda	HI ≥ 1:40	185	38,3	37,8%	---	---	---	18,37%
Precioso	Jan–Jun/10	São Paulo	Geral	Após 1ª onda	HI ≥ 1:40	266	32	46%	---	---	---	16,6%

* Profissionais de saúde; ** Aborígenas nativos; *** Aborígenas mestiços

Tabela 3: Trabalhos sobre prevalência de anticorpos contra *Influenza A(H1N1)pdm09* em pacientes adultos com imunocomprometimento não relacionado ao HIV.

Trabalho	Data	Local	População	Circulação influenza H1N1	Sorologia	N	Idade média (anos)	% de homens	% com vacina sazonal ano anterior	% com soroproteção
Meyer	Nov-Dez/09	Alemanha	TX C*	Início 2ª onda	HI ≥ 1:40	47	56	93,6%	---	0 (0%)
Mackay	Dez/09-Jan/10	Canadá	QT **	Após 2ª onda	HI ≥ 1:40	46	56	54,3%	0	4 (9%)
Saad	Mar – Abr/10	São Paulo	Rmt ***	Na 2ª onda	HI ≥ 1:40	1668	47.1	19,6%	---	10,3%
			Controle		HI ≥ 1:40	234	38,7	34,2%	---	11,5
Ohfuji	Nov/2009	Japão	Gestante	Na 1ª onda	HI ≥ 1:40	149	30,6	---	35%	11 (7,4%)
Huo	Início Jan/10	China	Gestante	4s após 1ª onda	HI ≥ 1:40	720	28	0	---	51,67%
				7s após 2ª onda			28	---	50,56%	
				11s após 2ª onda			28	---	18,89%	
				15s após 2ª onda			28	---	19,44%	
	Fim Jan/10	China	Gestante	4s após 1ª onda	HI ≥ 1:40	320	---	---	---	58,75%
				7s após 2ª onda		---	---	---	42,50%	
				11s após 2ª onda		---	---	---	26,67%	
				15s após 2ª onda		---	---	---	20%	
Engelhard	Nov-Dez/09	Israel	Tx M ****	Na 1ª onda	HI ≥ 1:40	73	50	60,3%	---	14 (17,9%)
Nam	?	Korea	DM	?	HI ≥ 1:40	46	54,6	52,2%		13,2%
Lagler	Nov/09– Mar/10	Austria	Tx M ****	?	HI ≥ 1:40	15	≤ 60	---	---	54%
Gueller	Nov/09– Feb/10	Alemanha	Tx M ****	Na 2ª onda	HI ≥ 1:40	17	44,4	70%	---	3 (17,6%)
Ribeiro	Mar – Abr/10	São Paulo	Rmt ***	Na 2ª onda	HI ≥ 1:40	340	55,8	13,2%	---	10,8%
			Controles		HI ≥ 1:40	51	36,63	43,2%	---	11,5 %

* TX Cardíaco; ** Em quimioterapia; *** Com doenças reumáticas; **** Transplante de medula óssea

Tabela 4: Trabalhos com referência de prevalência de anticorpos pré-vacinais contra *Influenza A(H1N1)pdm09* (HI \geq 1:40) em pacientes com HIV/AIDS participantes de ensaios de vacina.

Autor trabalho	Data	Local	Circulação influenza	N	Idade média (anos)	% homens	Raça	Tempo HIV (anos)	% CDC C	% TARV	CD4 média	média nadir CD4	% CV indetectável	% com vacina sazonal ano anterior	% com soroproteção
Ho J	Out/09-Jan/10	EUA	Na 2ª onda	21	47	100%	---	---	---	---	520	---	100%	---	14%
Sahly	Nov/09-Abr/10	EUA	Na 2ª onda	29	45	72%	---	---	---	---	590	---	100%	---	10,5%
				60	45.7	80%	53%B	9.2	60%	86.7%	610.1	---	68.3%	100%	18%
				61	45	80%	39%B	7.8	59%	86.9%	545.1	---	65.6%	100%	18%
				35	45.7	80%	74%B	6.3	85.7%	91.4%	156.3	---	40%	100%	21%
Cooper	Nov-Dez/10	Canadá	Na 1ª onda	36	45.7	72%	61%B	5.3	88.9%	94.4%	147.5	---	61.1%	100%	24%
				150	45	83%	---	---	---	85%	519	---	84%	82-93%	10%
				120	46	71%	25%B	---	---	99,2%	502	131	92%	---	25%
Tebas	Nov/09-Jan/10	EUA	Na 2ª onda	58	52	84%	---	---	---	91%	507	143	79%	89%	44%
Soonawala	Nov-Dez/09	Holanda	Na 2ª onda	306	46,9	80,7%	---	---	26%	77,4%	536	229	76%	26%	8,82%
Launay	Oct – Nov/09	França	Na 1ª onda	160	46,2	78%	---	10.2	25%	90	514	160	70	11%	14,4%
Bickel Manuel	Nov/09-Dez/09	Alemanha Suíça	Na 2ª onda	30	48	76,7%	---	13	---	100%	587	181	97%	80%	13%
				41	46	65,9%	---	11.5	31,7%	92,7%	528	170	87,8%	---	24,4%
Fabbiani	Nov-09	Italia	Na 2ª onda	49	46,9	65,3%	---	---	---	97,9%	350	---	91,8%	---	4,1%
Rudnitski	Nov/09-Dez/09	Itália	Na 2ª onda	44	45,2	65,1%	---	---	---	100%	563	262	77,27%	27,9%	79,6%
Orlando	Out – Dez/09	Itália	Na 2ª onda	253	46,6	70%	---	12,15	---	90,6%	569,7	---	82,05%	---	26,48%
Lagler	Nov-09-Mar-10	Austria	---	79	40	75,9%	---	6,25	14%	87%	502	243	61%	---	70%
Miraglia	Mar-Jul/10	Brasil (SP)	Na 2ª onda	256	45	91,4%	---	---	---	---	---	---	---	---	8,6%
Maruszak	Oct/09-Mar/10	Australia	Após 1ª onda	126	44	93%	---	10.0	---	85,4%	530	---	77,4%	---	38,9%
Hatakeyama	Nov/09-Mar/10	Japão	Na 2ª onda	104	43	98%	---	4.6	39,4%	80,8%	372.5	---	77,9%	77%	11,5%
Yanagisawa	Dez/09-Fev/10	Japão	Na 2ª onda	182	46,6	92,3%	---	6.3	---	92,9%	411	---	91,2%	---	12,6%

3. JUSTIFICATIVA

Os estudos de soroprevalência de *Influenza A(H1N1)pdm09* são escassos em indivíduos com HIV/AIDS. Os dados epidemiológicos sobre a doença são geralmente baseados na notificação de casos graves e mortes, dificultando uma melhor caracterização dos fatores de exposição e infecção nessa população. A emergência de uma nova cepa de *Influenza*, para a qual a população não possuía imunidade, possibilita a estimativa oportuna da soroprevalência de *Influenza A(H1N1)pdm09* na população ainda não vacinada. A correlação da situação sorológica com dados demográficos, clínicos e laboratoriais permite a análise de fatores associados a essa infecção, subsidiando, assim, o desenvolvimento de estratégias de prevenção e controle da *Influenza A(H1N1)pdm09* no grupo populacional estudado.

4. OBJETIVOS

4.1. Objetivo geral

Estimar a prevalência de soroproteção contra o vírus *Influenza A(H1N1)pdm09* em pacientes adultos com HIV/AIDS, não vacinados para essa cepa viral.

4.2. Objetivo específico

Estudar os fatores sociodemográficos e clínicos associados à soroproteção nessa população.

METODOLOGIA

5. METODOLOGIA

Este estudo é um sub-projeto de um ensaio clínico realizado para avaliar a imunogenicidade da vacina contra o *Influenza A(H1N1)pdm09* em pacientes com HIV/AIDS comparados a controles HIV negativos trabalhadores da Fiocruz, no qual foram incluídos 254 pacientes com HIV/AIDS e 71 controles HIV negativos.

5.1. Desenho do estudo

Este é um estudo seccional, de soroprevalência de anticorpos para *Influenza A(H1N1)pdm09* dos pacientes com HIV/AIDS, realizado no momento de inclusão no ensaio clínico. O estudo foi conduzido no Instituto de Pesquisa Clínica Evandro Chagas (IPEC)-Fiocruz, Rio de Janeiro. O desfecho estudado é a soroproteção contra *Influenza A(H1N1)pdm09* (definida como HI \geq 1:32 e avaliada nas amostras coletadas no momento imediatamente anterior à vacinação) e os fatores demográficos, clínicos e laboratoriais associados nos pacientes com HIV/AIDS.

5.2. Casuística

Foram triados 313 pacientes com HIV/AIDS com idade entre 18 e 59 anos, capazes de consentir voluntariamente na sua participação, que estavam clinicamente estáveis no momento da entrada no estudo e que não tinham recebido tratamento sistêmico com antineoplásicos e imunomoduladores nos 60 dias anteriores. Foram excluídos mulheres grávidas, pacientes com antecedentes pessoais ou familiares de síndrome de Guillain-Barré, com história de diagnóstico de doença neurológica sem identificação de etiologia nos 6 meses anteriores ou com hipersensibilidade aos componentes da vacina.

Os participantes foram recrutados, majoritariamente, entre os pacientes da coorte de HIV/AIDS do IPEC, mas também entre outras pessoas com HIV/AIDS que procuraram o IPEC para receber a vacina. O processo de recrutamento ocorreu entre 11 de março de 2010, após o início da Campanha de Vacinação do Ministério da Saúde para esse grupo de risco, e 31 de agosto do mesmo ano.

5.3. Parâmetros, definições e técnicas utilizadas

Os dados utilizados foram obtidos a partir de informações e de exames laboratoriais coletados na visita de triagem e/ou de inclusão para o ensaio clínico, bem como a partir de dados provenientes da base de dados da coorte de pacientes com HIV/AIDS do IPEC-Fiocruz, conforme detalhado a seguir.

5.3.1. Dados clínicos

História médica

Na consulta de triagem do ensaio clínico, procedeu-se à obtenção de história médica completa e de dados demográficos, incluindo data de nascimento e raça autorreferida, queixas atuais, patologias pregressas, antecedente de vacina contra influenza sazonal, hábitos relacionados a tabagismo, etilismo e uso de drogas ilícitas, comorbidades, data de diagnóstico da infecção pelo HIV, história de uso de antirretrovirais e de doenças relacionadas ao HIV.

No dia da aplicação da vacina e da coleta da sorologia (Dia 0) foram atualizadas as informações referentes à consulta de triagem.

O intervalo entre a consulta de triagem e a de Dia 0 variou de 0 a 21 dias.

Avaliação da situação sorológica do HIV

A avaliação do estado sorológico em relação ao HIV foi comprovada por teste rápido do HIV ou kit de ELISA, aprovado e confirmado pela repetição do ELISA, IFI, *Western blot* ou carga viral plasmática do HIV-1 a qualquer momento antes do ingresso no estudo.

5.3.2. Dados laboratoriais

Exames para monitoramento da infecção pelo HIV

Foram coletados 5mL de sangue na consulta de triagem, para realização de exames de contagem de linfócitos CD4 e CD8 por citometria de fluxo e 5mL de sangue na consulta do Dia 0, para medida de RNA viral no sangue periférico (carga viral plasmática do HIV), através da técnica b-DNA.

Sorologia para Influenza A (H1N1) pdm 09

No momento anterior à vacinação, na consulta de Dia 0, foram coletados 10mL de sangue em tubo de soro gel, centrifugados para separação de soro, e congelados a -20° C para realização de sorologia de *Influenza A (H1N1) pdm 09*. A realização da sorologia foi feita em

bloco ao final do ensaio clínico e não influenciou nenhum dos procedimentos do estudo. Foi utilizado o método de inibição da hemaglutinação (HI), de acordo com o Procedimento Operacional Padrão do Laboratório de Vírus Respiratórios e Sarampo da Fiocruz (Anexo I). Em resumo, as amostras de soro foram tratadas com neuraminidase e incubadas por 1 hora com 4 unidades hemaglutinantes de vírus H1N1pdm09; hemácias de cobaia a uma concentração de 0,5% foram adicionadas ao poço e incubadas por mais 1 hora, quando o HI foi lido. Os resultados foram expressos como o recíproco da diluição mais elevada que inibiu a hemaglutinação. Títulos de HI menores que ($<$) 1:8 foram considerados como 1:4. A soroproteção foi caracterizada para os indivíduos que apresentaram um título de HI maior ou igual a (\geq) 1:32.

A Inibição de Hemaglutinação é método de escolha pela Organização Mundial de Saúde para vigilância mundial de *Influenza* e para determinar as características antigênicas dos vírus isolados (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2011). Diversos estudos de soroprevalência e ensaios clínicos de imunogenicidade da vacina contra o vírus conduzidos previamente utilizaram a HI para determinação do percentual de soropositividade de anticorpos contra *Influenza A(H1N1)pdm09* (ADAMSON *et al.*, 2010; BICKEL, M *et al.*, 2010; BICKEL, MARKUS *et al.*, 2011; CHAN *et al.*, 2010; CHEN, H. *et al.*, 2009; CHEN, M. *et al.*, 2010; GREENBERG *et al.*, 2009; LIANG *et al.*, 2010; ORLANDO *et al.*, 2010; PLENNEVAUX *et al.*, 2010; ROMAN, F *et al.*, 2010; TEBAS *et al.*, 2010; TSAI *et al.*, 2010; VAJO *et al.*, 2010; ZHU *et al.*, 2009; ZIMMER *et al.*, 2010).

Não foi possível estimar a sensibilidade e a especificidade diretamente do método, entretanto já foi observado que o método de HI aplicado ao vírus pandêmico com o ponto de corte de HI \geq 1:40 tem uma sensibilidade estimada de 75% e uma especificidade de 94% para a faixa etária entre 0 e 39 anos e de 100% para a faixa etária de 40 a 59 anos (VEGUILLA *et al.*, 2011).

5.4. Caracterização dos dados

Idade

A variável “idade” foi calculada pela subtração da data do Dia 0 pela data de nascimento do voluntário (verificada em prontuário médico). Foram categorizadas 4 faixas etárias (≥ 18 e ≤ 30 ; > 30 e ≤ 40 ; > 40 e ≤ 50 ; > 50 e ≤ 60 anos); porém, para a análise multivariada, esta variável foi reagrupada em 2 faixas etárias (> 40 anos vs. ≤ 40 anos), devido ao pequeno número de participantes em alguns estratos.

Gênero

A variável “gênero” foi considerada de acordo com registro do prontuário médico.

Raça

A variável “raça” foi autorreferida, obtida por pergunta específica durante visita médica de triagem do estudo e classificada em uma das seguintes categorias: branca; parda; negra; amarela e outra. Para a análise univariada, esta variável foi agrupada em 2 categorias (branco vs. não brancos), devido ao pequeno número de participantes em alguns estratos.

Antecedente de vacinação contra influenza sazonal

A variável “antecedente de vacinação contra influenza sazonal em 2009” foi obtida por pergunta específica durante a visita médica de triagem do estudo. A variável “vacinação contra influenza sazonal antes de 2009” foi obtida através da resposta dada pelo voluntário quando questionado sobre antecedente vacinal durante a visita médica de triagem e confirmada em prontuário ou carteira vacinal, quando disponível. Essas duas variáveis foram agrupadas na análise multivariada na variável “vacinação contra influenza sazonal prévia”.

Tabagismo

A variável “tabagismo” foi obtida de acordo com a resposta do voluntário ao questionário médico durante a consulta de triagem do estudo e classificada em uma das seguintes categorias: fumante atual; ex-fumante; nunca fumou. Para a análise univariada da associação com a soroproteção, estas foram reagrupadas (fumante atual ou prévio vs. nunca fumou), devido ao pequeno número de participantes em alguns estratos.

Uso de álcool

A variável “uso de álcool” foi obtida de acordo com a resposta do voluntário ao questionário médico durante a consulta de triagem do estudo e classificada em uma das seguintes categorias: nunca usou; uso prévio, não atual; uso atual <7 doses/semana; uso atual ≥ 7 doses/semana. Para a análise univariada da associação com a soroproteção, estas foram reagrupadas de acordo com o uso atual de qualquer quantidade de álcool (sim vs não), devido ao pequeno número de participantes em alguns estratos. Apesar de ter sido utilizada a quantificação do uso de bebida alcoólica, a avaliação de alcoolismo não foi realizada.

Uso de droga ilícita

A variável “uso de droga ilícita” foi obtida de acordo com a resposta do voluntário ao questionário médico durante a consulta de triagem do estudo e classificada em uma das seguintes categorias: nunca usou; uso prévio, não atual; uso atual. Para a análise univariada da associação com a soroproteção, estas categorias foram reagrupadas de acordo com a história de uso atual ou prévio de droga ilícita (sim *vs* não), devido ao pequeno número de participantes em alguns estratos.

Índice de massa corpórea (IMC)

O IMC foi calculado pela fórmula: (peso em quilos aferido na consulta de triagem)/(altura aferida na consulta de triagem em metros)² e classificado de acordo com o limiar de normalidade e sobrepeso (< 25 *vs* ≥ 25kg/m²).

Comorbidade

A variável “comorbidade” foi obtida através de relato do voluntário durante questionário médico na visita de triagem do estudo, confirmado em revisão de prontuário, quando disponível. Foi categorizada em “sim” e “não”, de acordo com o relato do paciente ou descrição em prontuário de algum dos seguintes grupos de doenças: pulmonares, cardiovasculares, diabetes ou síndrome metabólica, obesidade, doença renal crônica, infecção crônica ativa pelo vírus da Hepatite B, Hepatite C crônica e Hanseníase em tratamento.

Tempo desde o diagnóstico do HIV (em anos)

A variável “Tempo desde o diagnóstico do HIV (em anos)” foi obtida através de relato do voluntário durante questionário médico na visita de triagem do estudo, confirmado em revisão de prontuário, quando disponível.

Nadir da contagem de linfócitos CD4

A variável “nadir de contagem de linfócitos CD4” foi obtida através de relato do voluntário durante questionário médico na visita de triagem do estudo e confirmados em revisão de prontuário, quando disponível. Esta variável foi categorizada em < 200 e ≥ 200 células/mm³.

Uso de TARV

A variável “uso de TARV” foi obtida através de relato do voluntário durante questionário médico na visita de triagem do estudo e confirmada em revisão de prontuário, quando disponível. Esta variável foi categorizada em: uso atual; sem uso atual; uso prévio (atual ou não), nunca recebeu TARV. Para a análise multivariada, esta covariável foi agrupada em 2 categorias (uso atual de TARV vs. não), devido ao pequeno número de participantes em alguns estratos

Anos de uso de TARV

A variável “anos de uso de TARV”, definida como intervalo de tempo entre a data de início do primeiro esquema antirretroviral e a data da consulta de triagem, foi obtida através de relato do voluntário durante questionário médico na visita de triagem do estudo e confirmados em revisão de prontuário, quando disponível.

Antecedente de doença definidora de AIDS

A variável “antecedente de doença definidora de AIDS” foi obtida através de relato do voluntário durante questionário médico na visita de triagem do estudo e confirmados em revisão de prontuário, quando disponível. A classificação da doença relatada pelo voluntário ou revisada em prontuário foi realizada pelo médico de acordo com o critério do CDC (CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION, 2008).

Antecedente de tuberculose

A variável “antecedente de tuberculose” foi obtida através de relato do voluntário durante questionário médico na visita de triagem do estudo e confirmada em revisão de prontuário, quando disponível.

AIDS

A variável “AIDS” foi definida como “sim” para aqueles com nadir de contagem de linfócitos CD4 < 200 células/mm³ ou história de doença definidora de AIDS de acordo com os critérios do CDC (CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION, 2008).

Contagem de linfócitos CD4

A variável “contagem de linfócitos CD4” foi obtida pela coleta do exame na consulta de triagem e categorizada em < 350 e ≥ 350 células/mm³.

HIV RNA - carga viral

A variável “HIV RNA - carga viral” foi obtida pela coleta do exame na visita 0. Esta foi categorizada em < 50 e ≥ 50 cópias/mL. Foi verificado também o percentual de pessoas com HIV RNA carga viral < 1000 cópias/mL para a tabela descritiva (Tabela 6).

5.5. Análise dos dados

A análise estatística dos dados foi realizada utilizando-se o software R (Versão 2.14.2). As variáveis categóricas foram apresentadas pelas frequências absolutas e relativas e as comparações nos grupos foram feitas com os testes χ^2 ou Fisher, quando necessário. As variáveis contínuas foram representadas pelas medidas de tendência central e dispersão, e as comparações foram feitas através do *test-t* ou Mann-Whitney, após verificação de normalidade pelo teste de Kolmogorov-Smirnov. Foi calculada a média geométrica dos títulos de anticorpos (GMT). Em todos os testes se considerou o nível de significância de 5%.

Foram construídos os modelos de regressão logística para verificar a associação de soroproteção com as covariáveis relevantes, escolhidas por significância estatística ($p < 0,1$) na análise univariada ou por relevância clínica. Foi realizada uma primeira análise de regressão logística incluindo todas as seguintes covariáveis: “sexo”, “idade” (> 40 anos vs. ≤ 40 anos), “vacinação prévia contra influenza sazonal”, “comorbidades”, “uso de TARV no Dia 0”, “anos de uso de TARV” (variável contínua), “anos de HIV” (variável contínua), “contagem de linfócitos CD4” (< 350 vs. ≥ 350 células/mm³), “HIV RNA - carga viral” (< 50 vs. ≥ 50 cópias/mL) e “AIDS”. As comparações foram feitas através da razão de chances (OR – *odds ratio*). Foram eliminadas, uma a uma, as covariáveis que tiveram maior valor de p ou menor efeito na razão de chances e foram mantidas no modelo as covariáveis com significância estatística ($p < 0,1$) e aquelas que alteraram o efeito ou a significância das outras. Em seguida, foram criados novos modelos de regressão logística com estratificação por “sexo”, “idade”, “história de vacinação prévia contra influenza sazonal” e “AIDS”, seguindo a mesma metodologia para construção do primeiro modelo de regressão logística.

A interação entre as variáveis que apresentaram diferença importante na razão de chances (efeito 50%) nos diferentes estratos no modelo de regressão logística foi avaliada,

através da regressão logística binária de soroproteção com a covariável de interação dessas covariáveis, observando-se a significância (p -valor $<0,05$) do termo de interação.

5.6. Aspectos éticos

O estudo foi iniciado após aprovação do protocolo e do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) – Anexo II – pelo Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) do IPEC. Nenhum procedimento do estudo foi realizado antes que os pacientes demonstrassem seu consentimento através da assinatura do TCLE original do ensaio clínico, que prevê a coleta de sangue e a realização da sorologia. Os pesquisadores mantiveram um diário de seleção/admissão e informação de identificação completa de cada participante do estudo, e este documento é mantido pelos pesquisadores em sigilo estrito. As fichas clínicas do estudo foram identificadas apenas com o número do paciente no estudo. A divulgação dos resultados da pesquisa não contém nomes, fotos ou outras formas de identificação dos sujeitos da pesquisa.

O presente subprojeto foi avaliado pelo CEP e aprovado em 13/03/2012, CAAE 0009.0.009.000-10, parecer 010/2010 (Anexo III).

5.7. Financiamento

O estudo em questão não gerou custo adicional ao do ensaio clínico realizado, financiado pelo Departamento Nacional de DST e AIDS do Ministério da Saúde.

A autora foi contemplada com a bolsa de mestrado da CAPES de março de 2011 a julho de 2012 e com a Bolsa Nota 10 da Faperj, de agosto de 2012 a fevereiro de 2013.

RESULTADOS

6. RESULTADOS

6.1. População do estudo

Foram triados 313 voluntários após assinatura do TCLE. Trinta e cinco foram excluídos por não preencherem os critérios de elegibilidade do ensaio clínico ou desistirem e dois tiveram a amostra de sangue para sorologia hemolisada.

Duzentos e cinquenta e quatro (254) voluntários realizaram a visita 0, na qual foi coletada a sorologia para *Influenza A (H1N1) pdm 09*, no momento anterior à vacinação. As Tabelas 5 e 6 apresentam o perfil demográfico e clínico da população estudada. Observamos um predomínio de homens, idade média de 42,2 anos (DP=8,8), distribuição racial variada com maioria de pardos (43,3%), seguidos dos com raça branca (33,5%). Noventa e quatro voluntários (37%) tinham história de vacina contra influenza sazonal e 16,7% receberam essa vacina no ano anterior ao estudo. Menos da metade da população referiu antecedente de tabagismo ou uso de drogas ilícitas, e o uso atual de bebida alcoólica foi relatado em 57,7% dos participantes. Em 46,9% dos voluntários, o IMC revelou-se compatível com sobrepeso ou obesidade, e 23,6% apresentaram pelo menos 1 comorbidade. A Figura 5 mostra a distribuição das comorbidades, com predomínio (5,51%) das doenças pulmonares (asma ou doença pulmonar obstrutiva crônica), seguidas das cardiovasculares e endócrinas. A média e mediana da contagem de linfócitos CD4 foi de 583,2 células/mm³, com desvio padrão (DP) de 319,7 e intervalo interquartil (IQR) de 345,8 a 752,8 células/mm³. A mediana do nadir de contagem de linfócitos CD4 era de 183,0 (IQR 57,8; 320,0); 52,4% dos pacientes tinham nadir de contagem de linfócitos CD4 <200 células/mm³. Cerca de 80% dos pacientes (n=203) estavam em uso de TARV e, desses, 75,9% (n=194) apresentavam supressão viral. Dos 51 pacientes sem uso de TARV na triagem, 7 (13,7%) apresentavam carga viral indetectável (<50 cópias/mL). Do total dos pacientes do estudo, 161 (63,4%) apresentavam HIV RNA - carga viral < 50 cópias/mL, e 214 pacientes (84,3%) tinham diagnóstico de AIDS.

Tabela 5 – Características demográficas e clínicas da população estudada (n=254) de pacientes com HIV/AIDS no IPEC/Fiocruz, Rio de Janeiro..

Características	HIV-positivos
Número de participantes, N(%)	254 (100,0)
Idade (anos)	
Mediana (IQR)	42,2 (35,4; 49,2)
Média (DP)	42,2 (8,8)
≥ 18 e ≤ 30, N(%)	29 (11,4)
> 30 e ≤ 40, N(%)	81 (31,9)
> 40 e ≤ 50, N(%)	95 (37,4)
> 50 e ≤ 60, N(%)	49 (19,3)
Gênero	
Masculino, N(%)	167 (65,7)
Feminino, N(%)	87 (34,3)
Raça	
Branços, N(%)	85 (33,5)
Pardos, N(%)	110 (43,3)
Negros, N(%)	49 (19,3)
Outros, N(%)	4 (1,6)
Sem informação, N(%)	6 (2,4)
Vacinação contra influenza sazonal em 2009	
Sim, N(%)	43 (16,9)
Não, N(%)	211 (83,1)
Vacinação contra influenza sazonal antes de 2009	
Sim, N(%)	74 (29,1)
Não, N(%)	180 (70,9)
Vacinação contra influenza sazonal prévia (2009 ou antes)	
Sim, N(%)	94 (37,0)
Não, N(%)	160 (63,0)
Tabagismo	
Fumante atual, N(%)	64 (25,2)
Ex-fumante, N(%)	51 (20,1)
Nunca usou, N(%)	139 (54,7)
Uso de álcool	
Nunca usou, N(%)	59 (23,2)
Uso prévio, N(%)	38 (15,0)
Uso atual, N(%)	146 (57,5)
<7 doses/semana	97 (38,2)
≥ 7 doses/semana	49 (19,3)
Uso de droga ilícita	
Nunca usou, N(%)	176 (69,3)
Uso prévio, não atual, N(%)	47 (18,5)
Uso atual, N(%)	17 (6,7)
IMC	
<25 Kg/m ² , N(%)	135 (53,1)
≥ 25 Kg/m ² , N(%)	119 (46,9)
Comorbidades	
Sim, N(%)	60 (23,6)
Não, N(%)	194 (76,4)

HIV: vírus da imunodeficiência humana, IQR: intervalo interquartilico, DP: desvio padrão, IMC: índice de massa corpórea

Tabela 6 – Características clínicas relacionadas ao HIV da população estudada de pacientes com HIV/AIDS no IPEC/Fiocruz, Rio de Janeiro (n=254).

Características	HIV-positivos
Número de participantes, N(%)	254 (100,0)
Tempo desde o diagnóstico do HIV (anos)	
Mediana (IQR)	6,7 (2,9; 12,6)
Média (DP)	8,1(6,1)
Contagem de linfócitos CD4 (cél/mm³)	
Mediana (IQR)	583,2 (345,8; 752,8)
Média (DP)	583,2 (319,7)
< 350, N (%)	66 (26,0)
≥ 350, N (%)	188 (74,0)
Nadir contagem de linfócitos CD4 (cél/mm³)	
Mediana (IQR)	183,0 (57,8; 320,0)
Média (DP)	224,5 (211,5)
< 200, N (%)	133 (52,4)
≥ 200, N (%)	121 (47,6)
HIV RNA carga viral (cópias/mL)	
Mediana (IQR)	25 (25,0; 326,5)
Média (DP)	5.213,2 (15.879,8)
<50, N (%)	161 (63,4)
<1000, N(%)	193 (76,0)
Sem informação, N(%)	9 (3,5)
TARV	
Uso atual, N(%)	203 (79,9)
Sem uso atual, N(%)	11 (4,33)
Uso prévio (atual ou não) N(%)	214 (84,3)
Nunca recebeu ARV, N(%)	40 (15,7)
Anos de uso de TARV	
Mediana (IQR)	4,3 (2,0; 10,1)
Média (DP)	6,3 (5,1)
Sem informação, N(%)	41 (16,2)
AIDS	
Sim, N (%)	214 (84,3)
Não, N(%)	40 (15,7)
Doença definidora de AIDS prévia	
Sim, N(%)	109 (42,9)
Não, N(%)	145 (57,1)
TB prévia (após diagnóstico de HIV)	
Sim, N (%)	74 (29,1)
Não, N(%)	180 (70,9)

HIV: vírus da imunodeficiência humana, IQR: intervalo interquartilico, DP: desvio padrão, TARV: terapia com antirretrovirais, AIDS: síndrome da imunodeficiência adquirida; TB: tuberculose

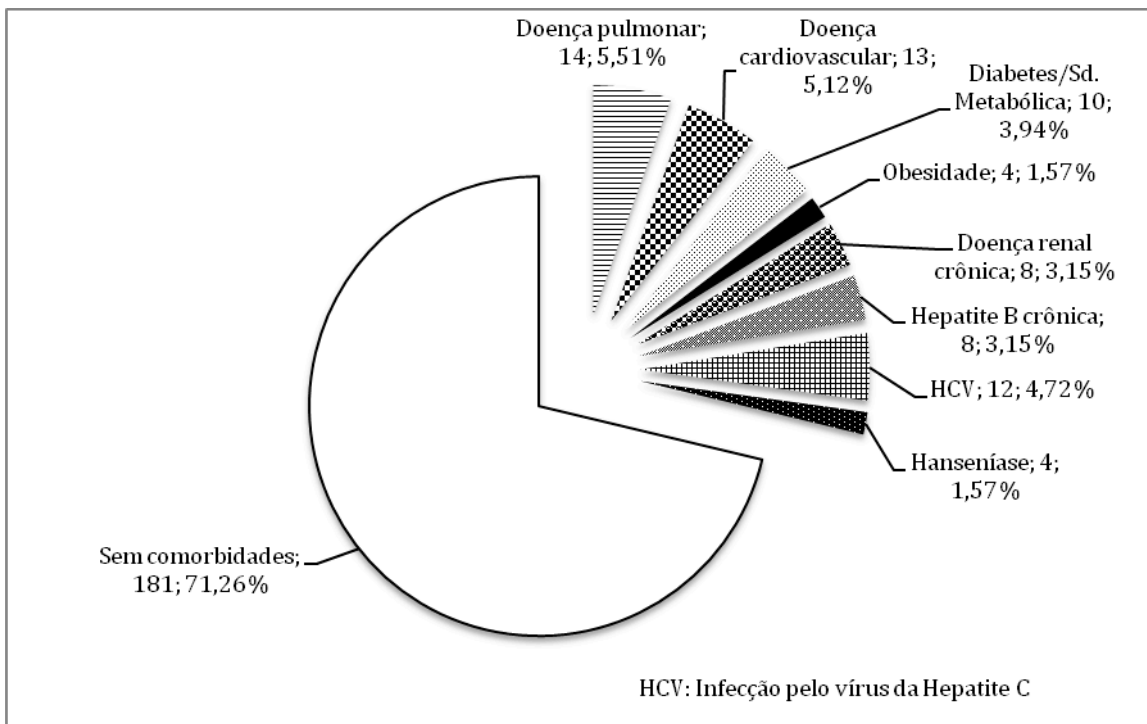


Figura 5 - Distribuição de comorbidades em pacientes com HIV/AIDS no IPEC/Fiocruz, Rio de Janeiro (n=254).

6.2. Sorologia para *Influenza A (H1N1) pdm 09*

Os resultados dos títulos de anticorpos apresentaram distribuição normal com média de 31,5 (DP 41,6) e mediana de 16 (IQR 8; 32). Em 87 pacientes (34,3%), os títulos de HI foram $\geq 1:32$, compatíveis com soroproteção, e o GMT foi de 16,9 (IC 95% 15,0; 19,1).

Tabela 7 - Anticorpos contra *Influenza A(H1N1)pdm09* em pacientes com HIV/AIDS no IPEC/Fiocruz, Rio de Janeiro (n=254).

Características	HIV-positivos
Número de participantes, N(%)	254 (100,0)
Títulos de anticorpos	
Mediana (IQR)	16,0 (8,0; 32,0)
Média (DP)	31,5 (41,6)
GMT (IC95%)	16,9 (15,0; 19,1)
Soroproteção	
HI $\geq 1:32$, N(%)	87 (34,3)
HI $< 1:32$, N(%)	167 (65,7)

HIV: vírus da imunodeficiência humana, IQR: intervalo interquartilico, DP: desvio padrão, GMT: media geométrica de títulos, HI: inibição de hemaglutinação

6.3. Análise univariada (Tabela 8)

Os resultados da análise univariada mostraram diferença significativa ($p=0,030$) na média de idade dos pacientes com soroproteção contra *Influenza A(H1N1)pdm09* (média de 43,9 anos, DP = 8,3 anos) em relação aos sem soroproteção (média de 41,3; DP = 9,0 anos). Após a estratificação da idade, observa-se que a diferença entre os grupos continua expressiva em algumas faixas etárias, porém deixou de ser significativa ($p=0,141$) nas mesmas: 5 pacientes (5,7%) na faixa etária ≥ 18 e ≤ 30 anos no grupo dos soroprotegidos (vs. 24 pacientes, 14,4% entre os sem soroproteção), 27 pacientes (31%) na faixa etária > 30 e ≤ 40 anos no grupo dos soroprotegidos (vs. 54 pacientes – 32,3% - entre os sem soroproteção), 34 pacientes (39,1%) na faixa etária > 40 e ≤ 50 anos no grupo dos soroprotegidos (vs. 61 pacientes – 36,5% - entre os sem soroproteção), 21 pacientes (24,1%) na faixa etária > 50 e ≤ 60 anos no grupo dos soroprotegidos (vs. 28 pacientes – 16,8% - entre os sem soroproteção).

A população masculina predominou em ambos os grupos com e sem títulos compatíveis com soroproteção. Entretanto, uma associação significativa ($p=0,045$) entre sexo feminino e soroproteção foi evidenciada na análise univariada.

Com relação a raça, não foi observada uma diferença significativa ($p=0,883$) na proporção de pacientes brancos (34,5% vs. 32,9%) e não brancos (64,4% e 64,1%).

O histórico de vacinação prévia contra influenza sazonal não diferiu significativamente ($p=0,826$) entre os grupos de pacientes com e sem soroproteção. Trinta e três pacientes (37,9%) com títulos compatíveis de soroproteção têm vacinação prévia contra influenza sazonal (vs 36,5% dos pacientes sem soroproteção), sendo que 16,1% do total de pacientes com soroproteção receberam a vacina contra influenza sazonal em 2009 (vs 17,4% do total de pacientes sem soroproteção) e 28,7% receberam a vacina contra influenza sazonal antes de 2009 (vs 29,3% nos sem soroproteção).

Apesar de uma proporção maior de pacientes com soroproteção, em relação aos pacientes sem soroproteção, apresentar histórico de uso atual ou prévio de tabaco (48,3% vs. 43,7%; $p=0,488$) e de uso atual ou prévio de droga ilícita (27,6% vs. 24,0%; $p=0,409$), essa diferença não foi significativa. A história de uso atual de álcool foi inferior nos grupos de pacientes com soroproteção em relação ao grupo sem soroproteção (54,0% vs. 59,3%; $p=0,530$), mas essa diferença também não foi estatisticamente significativa.

Sobrepeso ou obesidade ($IMC \geq 25\text{kg/m}^2$) mostrou-se igualmente distribuído em ambos os grupos ($p=0,641$).

Na análise univariada uma proporção significativamente maior de pacientes com alguma comorbidade foi identificada no grupo com soroproteção (34,5%) quando comparado ao grupo sem soroproteção (18,0%)(p=0,003).

Nenhuma das covariáveis relacionadas ao HIV apresentou diferença significativa entre os grupos com e sem soroproteção na análise univariada. A covariável “Tempo desde o diagnóstico do HIV (em anos)” apresentou distribuição não normal, com maior mediana nos pacientes com soroproteção do que nos pacientes sem soroproteção (5,9; IQR 2,8-11,9), mas essa diferença não foi significativa (p=0,231). A contagem de linfócitos CD4 apresentou distribuição normal, com média um pouco inferior nos pacientes com soroproteção (média 550,0; DP=275,4) do que nos pacientes sem soroproteção (média 601,0; DP=340,0) (p=0,233). O grupo com soroproteção teve uma menor proporção de pacientes com contagem de linfócitos CD4 ≥ 350 células/mm³ na triagem (70,1% vs. 76%; p= 0,306), maior proporção de pacientes com nadir de contagem de linfócitos CD4 < 200 células/mm³ (55,2% vs. 50,9%; p=0,517) e menor proporção de pacientes com carga viral indetectável ou carga viral abaixo de 1000 cópias/mL (71,3% vs. 78,4%; p=0,390). A covariável “anos de uso de TARV” apresentou distribuição não normal, com mediana de 5,9 anos (IQR 1,9; 10,4) nos pacientes com soroproteção e de 4,1 anos (IQR 2,0; 10,1) nos pacientes sem soroproteção (p=0,769). Verificou-se uma proporção maior de pacientes com história prévia de AIDS nos pacientes com soroproteção (86,2%) em relação aos pacientes sem soroproteção (83,2%), porém essa diferença não foi significativa (p=0,537). Pacientes com soroproteção apresentaram maior percentual de antecedente de tuberculose (35,6% vs. 25,7%), em relação aos pacientes sem soroproteção, achado também não estatisticamente significativo (p=0,10).

Tabela 8 – Análise univariada – comparação dos dados demográficos e clínicos de acordo com o estado de soroproteção contra *Influenza A(H1N1)pdm09* em pacientes com HIV/AIDS no IPEC/Fiocruz, Rio de Janeiro.

Soroproteção (HI ≥ 1:32)	Sim	Não	p valor
Número de participantes, N(%)	87 (34,3)	167 (65,7)	
Idade (anos)			
Mediana (IQR)	44,2 (38,0; 50,9)	41,7 (35,1; 47,2)	
Média (DP)	43,9 (8,3)	41,3 (9,0)	p=0,030*
≥ 18 e ≤ 30, N(%)	5 (5,7)	24 (14,4)	p=0,141**
> 30 e ≤ 40, N(%)	27 (31,0)	54 (32,3)	
> 40 e ≤ 50, N(%)	34 (39,1)	61 (36,5)	
> 50 e ≤ 60, N(%)	21 (24,1)	28 (16,8)	
Gênero			
Masculino, N(%)	50 (57,5)	117 (70,1)	p=0,045**
Feminino, N(%)	37 (42,5)	50 (29,9)	
Raça			
Branco, N(%)	30 (34,5)	55 (32,9)	p=0,883**
Não branco, N(%)	56 (64,4)	107 (64,1)	
Sem informação, N(%)	1 (1,1)	5 (3,0)	
Vacinação influenza sazonal em 2009			
Sim, N(%)	14 (16,1)	29 (17,4)	p=0,797**
Não, N(%)	73 (83,9)	138 (82,6)	
Vacinação influenza sazonal antes de 2009			
Sim, N(%)	25 (28,7)	49 (29,3)	p=0,920**
Não, N(%)	62 (71,3)	118 (70,7)	
Vacinação contra influenza sazonal prévia			
Sim, N(%)	33 (37,9)	61 (36,5)	p=0,826**
Não, N(%)	54 (62,1)	106 (63,5)	
Fumante atual ou prévio			
Sim, N(%)	42 (48,3)	73 (43,7)	p=0,488**
Não, N(%)	45 (51,7)	94 (56,3)	
Uso atual de álcool			
Sim, N(%)	47 (54,0)	99 (59,3)	p=0,530**
Não, N(%)	35 (40,2)	62 (37,1)	
Uso de droga ilícita			
Uso atual ou prévio, N(%)	24 (27,6)	40 (24,0)	p=0,409**
Nunca usou, N(%)	56 (64,4)	120 (71,9)	
Sem informação, N(%)	6 (8,0)	7 (4,2)	
IMC			
< 25 Kg/m ² , N(%)	48 (55,2)	87 (52,1)	p=0,641**
≥ 25 Kg/m ² , N(%)	39 (44,8)	80 (47,9)	
Comorbidades			
Sim, N(%)	30 (34,5)	30 (18,0)	p=0,003**
Não, N(%)	54 (62,1)	137 (82,0)	
Sem informação, N(%)	3 (3,4)	0	

Tempo desde o diagnóstico do HIV (em anos)			
Mediana (IQR)	6,9 (3,0; 13,9)	5,9 (2,8; 11,9)	p=0,231***
Média (DP)	8,7 (6,2)	7,8 (6,1)	
Soroproteção (HI ≥ 1:32)	Sim	Não	p valor
Contagem de linfócitos CD4 (cél/mm³)			
Mediana (IQR)			
Média (DP)	504,0 (319,0; 732,0)	561,0 (356,0; 766,0)	
< 350, N(%)	550,0 (275,4)	601,0 (340,0)	p=0,233*
≥ 350, N(%)	26 (29,9)	40 (24,0)	p=0,306**
	61 (70,1)	127 (76,0)	
Nadir contagem de linfócitos CD4 (cél/mm³)			
Mediana (IQR)	179,0 (53,0; 311,0)	187,0 (65,0; 320,0)	p=0,653***
Média (DP)	213,6 (190,2)	230,2 (222,1)	
< 200, N(%)	48 (55,2)	85 (50,9)	p=0,517**
≥ 200, N(%)	39 (44,8)	82 (49,1)	
HIV RNA carga viral (cópias/mL)			
Mediana (IQR)	25,0 (25,0; 897,0)	25,0 (25,0; 308,0)	p=0,814***
Média (DP)	4.261,9 (12.972,9)	5.691,2 (17.174,8)	
<50, N(%)	55 (63,2)	106 (63,5)	p=0,751**
≥50, N(%)	27 (31,0)	57 (34,1)	
<1000, N(%)	62 (71,3)	131 (78,4)	p=0,390**
≥1000, N(%)	20 (23,0)	32 (19,2)	
Sem informação, N(%)	5 (5,7)	4 (2,4)	
Uso de TARV			
Uso atual, N(%)	72 (82,8)	131 (78,4)	p=0,415**
Sem uso atual, N(%)	15 (17,2)	36 (21,6)	
Uso prévio, N(%)	76 (87,4)	138 (82,6)	p=0,327**
Nunca recebeu ARV, N(%)	11 (12,6)	29 (17,4)	
Anos de uso de TARV			
Mediana (IQR)	5,9 (1,9; 10,4)	4,1 (2,0; 10,1)	p=0,769***
Média (DP)	6,4 (5,1)	6,2 (5,1)	
AIDS			
Sim, N(%)	75 (86,2)	139 (83,2)	p=0,537**
Não, N(%)	12 (13,8)	28 (16,8)	
Doença definidora de AIDS prévia			
Sim, N(%)	43 (49,4)	66 (39,5)	p=0,130**
Não, N(%)	44 (50,6)	101 (60,5)	
TB prévia (após HIV)			
Sim, N (%)	31 (35,6)	43 (25,7)	p=0,100**
Não, N(%)	56 (64,4)	124 (74,3)	

HIV: vírus da imunodeficiência humana, HI: inibição de Hemaglutinação, IQR: intervalo interquartil, DP: desvio padrão, IMC: índice de massa corpórea; TARV: terapia com antirretrovirais, AIDS: síndrome da imunodeficiência adquirida; TB: tuberculose

*teste t; ** teste χ^2 , *** teste Mann-Whitney

6.4. Análise múltipla

Na análise múltipla (Tabela 9), observou-se uma associação significativa da soroproteção contra *Influenza A(H1N1)pdm09* com o sexo feminino (OR=1,94; IC95 1,10-3,42; p= 0,022) e com a presença de comorbidades (OR=2,42; IC95 1,29-4,54; p= 0,006). Além disso, verificou-se uma associação não significativa da soroproteção com idade superior a 40 anos (OR=1,17; IC95 0,65-2,09, p=0,593), uso atual de TARV (OR=1,33; IC95 0,46-3,84, p=0,603) e AIDS (OR=1,28; IC95 0,44-3,69, p=0,650) e uma associação inversa, não significativa, da soroproteção com CV indetectável (OR=0,83; IC95 0,44-1,57; p=0,562).

Após estratificação por sexo, vacinação prévia contra influenza sazonal, idade e diagnóstico de AIDS (Tabela 10), persistiu uma correlação significativa entre a covariável comorbidade e a soroproteção. A presença de pelo menos uma comorbidade aumentou a chance de soroproteção entre as mulheres (OR 2,77; IC95 0,21-1,68; p=0,02), entre os não vacinados contra influenza sazonal (OR 2,51; IC95 1,58-7,79; p=0,01), nos pacientes com mais de 40 anos (OR 1,51; IC95 1,21-5,19; p=0,01) e entre os pacientes com diagnóstico de AIDS (OR 1,83; IC 1,46-5,49; p=0,01).

O efeito do sexo feminino na soroproteção também apareceu em todos os estratos, porém, mostrou-se significativo apenas nos estratos “não vacinados previamente contra influenza sazonal” (OR=2,24; IC95 1,07-4,66; p=0,05) e entre os pacientes com idade igual ou inferior a 40 anos (OR=2,37; IC95 1,00-5,64; p= 0,05).

No estrato de pacientes do sexo feminino, observou-se uma menor chance de soroproteção em pacientes com CV indetectável (OR=0,24; IC95 0,07-0,81; p=0,02).

Os pacientes em uso atual de TARV apresentaram uma maior chance de soroproteção (OR=4,49; IC95 0,79-25,57; p=0,09). Embora esse último achado seja não significativo ao nível de 5%, essa variável foi mantida no modelo pelo importante efeito e por alterar a significância de outras variáveis..

Apesar das covariáveis AIDS e idade não terem apresentado associação significativa com a soroproteção, elas se revelaram um importante fator para controle, pois durante a construção do modelo de análise múltipla alteraram de forma expressiva a razão de chances (OR) ou a significância (p-valor) das outras covariáveis do modelo. Por isso, essas variáveis foram mantidas no modelo final.

Não se observou interação significativa das covariáveis “sexo & comorbidades” (p= 0,70), “vacinação prévia contra influenza sazonal & sexo” (p=0,57), “idade & sexo” (p=0,40),

“aids & sexo” (p=0,32), “idade & comorbidade” (p=0,94) e “idade & aids” (p=0,39), com a soroproteção.

Tabela 9 - Análise múltipla – comparação dos dados demográficos e clínicos relevantes associados à chance de soroproteção contra *Influenza A(H1N1)pdm09* (razão de chances e intervalo de confiança de 95%) em pacientes com HIV/AIDS no IPEC/Fiocruz, Rio de Janeiro.

	OR (95%CI)	p-valor
Idade > 40 anos (vs. ≤ 40 anos)	1,17 (0,65; 2,09)	p=0,593
Feminino (vs. Masculino)	1,94 (1,10; 3,42)	p=0,022
Comorbidades (vs. não)	2,42 (1,29; 4,54)	p=0,006
CV < 50 cp/mL (vs ≥50cp/mL)	0,83 (0,44; 1,57)	p=0,562
Uso atual TARV (vs. não)	1,33 (0,46; 3,84)	p=0,603
AIDS (vs. não)	1,28 (0,44; 3,69)	p=0,650

OR: razão de chances; CV: HIV RNA carga viral; TARV: terapia antirretroviral, AIDS: síndrome da imunodeficiência adquirida.

Tabela 10 – Análise múltipla - Modelo de regressão logística das covariáveis demográficas e clínicas relevantes associadas à chance de soroproteção contra *Influenza A(H1N1)pdm09* (razão de chances e intervalo de confiança de 95%) em pacientes com HIV/AIDS, estratificadas por sexo, vacinação prévia contra influenza sazonal e AIDS.

	Sexo		Vacinação prévia contra influenza sazonal		Idade (anos)		AIDS	
	Masculino	Feminino	Sim	Não	≤ 40	> 40	Sim	Não
	OR (95%IC) p-valor	OR (95%IC) p-valor	OR (95%IC) p-valor	OR (95%IC) p-valor	OR (95%IC) p-valor	OR (95%IC) p-valor	OR (95%IC) p-valor	OR (95%IC) p-valor
Idade > 40 anos (vs. ≤ 40 anos)	1,42 (0,69; 2,94) p=0,34*		1,76 (0,71; 4,38) p=0,22					1,97 (0,45; 8,60) p=0,37
Feminino (vs. Masculino)			1,45 (0,61; 3,47) p=0,40	2,24 (1,07; 4,66) p=0,05	2,37 (1,00; 5,64) p=0,05	1,59 (0,76; 3,30) p=0,22*	1,76 (0,95; 3,25) p=0,10	2,87 (0,68; 12,10) p=0,15
Comorbidades (vs. não)	2,08 (0,96; 4,48) p=0,06	3,77 (0,21; 1,68) p=0,02		3,51 (1,58; 7,79) p=0,01	2,01 (0,57; 7,08) p=0,27	2,51 (1,21; 5,19) p=0,01	2,83 (1,46; 5,49) p=0,01	
CV < 50cp/mL (vs. ≥ 50cp/mL)		0,24 (0,07; 0,81) p=0,02						
Uso atual TARV (vs. não)		4,49 (0,79; 25,57) p=0,09						0,90 (0,13; 6,60) p=0,92
AIDS (vs. não)	0,16 (0,05; 0,53) p=0,30*	0,70 (0,15; 3,24) p=0,65*	1,90 (0,55; 6,51) p=0,31		1,73 (0,56; 5,40) p=0,34*	1,22 (0,42; 3,53) p=0,72*		

AIDS: síndrome da imunodeficiência adquirida, HIV: vírus da imunodeficiência humana, OR: razão de chances; CV: HIV RNA carga viral; TARV: terapia com antirretrovirais
*mantida no modelo por impactar no efeito e/ou na significância de outras variáveis.

DISCUSSÃO

7. DISCUSSÃO

Este estudo, conduzido durante a pandemia de *Influenza A (H1N1) pdm 09*, mostrou um percentual de 34,3% de soroproteção em pacientes com HIV/AIDS, no momento da triagem de um ensaio clínico sobre a vacina específica contra influenza. Este percentual de soroproteção foi superior ao encontrado nos controles (funcionários da Fiocruz HIV-negativos) do ensaio clínico principal desse trabalho, que verificou soroproteção pré-vacinal em 16/70 (22,9%) dos profissionais que trabalhavam na instituição, incluídos no mesmo período (SANTINI-OLIVEIRA *et al.*, 2012). O grupo de controles HIV negativos tinha em média 37,4 anos, predomínio de mulheres (64,3%) e brancos (54,3%), maior percentual de pessoas previamente vacinadas contra influenza sazonal (62,9%) e apenas 11,4% tinham comorbidades.

Uma explicação possível para a observação de alto percentual de soroproteção entre os pacientes com HIV/AIDS no estudo é a ocorrência de maior exposição dos pacientes com HIV/AIDS ao vírus *Influenza A(H1N1)pdm09* durante sua permanência nos serviços de saúde para consultas e realização de exames, entre outros procedimentos.

Nossos dados são semelhantes aos encontrados em outros ensaios clínicos com o mesmo desenho avaliando a imunogenicidade da vacina contra o vírus pandêmico. Num estudo realizado entre novembro e dezembro de 2009 na Holanda, foi identificada uma soroproteção pré-vacinal superior em pacientes com HIV/AIDS (25/57, 44%) do que nos controles (10/44; 23%), trabalhadores saudáveis do hospital onde o estudo foi conduzido (SOONAWALA *et al.*, 2011). Num ensaio clínico realizado na Itália também foi identificada tal diferença ($p < 0,0001$) na soroproteção pré-vacinal entre os pacientes com HIV/AIDS (35/44; 79,6%) e os controles profissionais de saúde (52/148; 35,1%) (KAJASTERUDNITSKI *et al.*, 2011). Em todos esses estudos, diferenças significativas nas características desses grupos (idade, gênero e antecedente de vacinação contra influenza sazonal, entre outros) podem ter influenciado esse resultado.

Por outro lado, em Taiwan, entre setembro e novembro de 2009, um estudo soropidemiológico de pacientes não vacinados com HIV/AIDS comparado a controles HIV negativos que procuraram os Centros de Testagem e Aconselhamento (CTA) em HIV, verificou uma prevalência significativamente menor ($p < 0,001$) de soroproteção contra *Influenza A(H1N1)pdm09* em pacientes com HIV/AIDS (137/931; 14,7%), quando

comparados aos controles (192/566; 33,9%) (HUNG *et al.*, 2012). Esse é um achado diferente do observado nas sorologias pré-vacinais dos ensaios clínicos controlados de vacina, e pode ser devido ao perfil da população recrutada, da característica peculiar dos controles que procuram o CTA - em sua maioria homens que fazem sexo com homens (HSH) (68,7%) -, assim como a maioria dos pacientes com HIV/AIDS do referido estudo, com 70,2% de HSH. Além disso, outras diferenças significativas entre os grupos de pacientes com HIV/AIDS e os controles desse estudo foram descritas (gênero, idade, proporção de pacientes heterossexuais e usuários de drogas injetáveis), e podem interferir na avaliação dessa diferença. Como o fator perfil de exposição ao HIV (como por exemplo HSH) não foi avaliado em nosso estudo e não foi relatado nos estudos citados acima, não temos como avaliar seu efeito nas diferenças da soroproteção identificadas no nosso estudo

Uma pesquisa de soroincidência do *Influenza A(H1N1)pdm09* em mulheres com HIV/AIDS com contagem de linfócitos CD4 ≥ 350 células/mm³ verificou uma proporção semelhante de soroproteção pré-vacinal entre as pacientes com HIV/AIDS e os controles (6,6% vs. 6,7%) (ALTHOFF *et al.*, 2011).

Sendo assim, fica evidente a necessidade de estudos controlados que visem a melhor avaliação da diferença de soroproteção contra *Influenza* em pacientes com HIV/AIDS e controles HIV negativos, com grupos comparáveis e avaliação desses cofatores, que podem se comportar como fatores de confusão ou de interação.

Considerando os estudos de imunogenicidade da vacina anti- *Influenza A(H1N1)pdm09* em pacientes com HIV/AIDS publicados no mundo (ALTHOFF *et al.*, 2011; BICKEL, M *et al.*, 2010; COOPER *et al.*, 2012; EL SAHLY *et al.*, 2012; FABBIANI *et al.*, 2011; HATAKEYAMA *et al.*, 2011; HO *et al.*, 2011; HUNG *et al.*, 2012; KAJASTE-RUDNITSKI *et al.*, 2011; KOK *et al.*, 2011; LAGLER *et al.*, 2011; LAUNAY *et al.*, 2011; MANUEL *et al.*, 2011; MARUSZAK *et al.*, 2012; MIRAGLIA *et al.*, 2011; ORLANDO *et al.*, 2010; PARIANI *et al.*, 2011; SOONAWALA *et al.*, 2011; TEBAS *et al.*, 2010; YANAGISAWA *et al.*, 2011), observa-se uma grande amplitude na variação da proporção de soroproteção pré-vacinal (4,1 a 79,6%), cuja comparação fica inviabilizada por fatores como a diversidade do local, o momento da coleta da sorologia, a circulação viral, a faixa etária abordada, o perfil das populações avaliadas, além dos fatores inerentes a imunodeficiência subjacente.

No Brasil, em um estudo realizado em São Paulo (MIRAGLIA *et al.*, 2011) entre março e julho de 2010, que incluiu 255 pacientes com HIV/AIDS com idade entre 22 e 75

anos (média de 45 anos) e majoritariamente homens (91,4%), foi reportada uma prevalência de soroproteção pré-vacinal de 8,6%, bem inferior ao encontrado na nossa população. Entretanto, esse estudo não descreveu as características clínicas gerais nem as associadas à imunodeficiência (tais como contagem de linfócitos CD4, carga viral, uso de TARV, percentual de AIDS e presença de doenças oportunistas), tornando difícil uma comparação ou mesmo inferência de uma possível variação regional.

Um estudo brasileiro de imunogenicidade na população geral adulta não vacinada contra o *Influenza A (H1N1) pdm 09*, realizado entre janeiro e junho de 2010 em São Paulo, mostrou que 16,6% dos participantes apresentavam níveis de soroproteção na sorologia pré-vacinal (PRECIOSO *et al.*, 2011). Em estudo de imunogenicidade da vacina anti-*Influenza A(H1N1)pdm09* em pacientes com artrite reumatóide e controles saudáveis (RIBEIRO *et al.*, 2011), realizado em São Paulo entre março e abril de 2010, foi evidenciada uma soroproteção inicial pré-vacinal de, 10,8% e 11,5% (RIBEIRO *et al.*, 2011), respectivamente, valor também inferior ao encontrado em nosso estudo.

Na Alemanha, um estudo realizado em novembro de 2009 com 160 pacientes com HIV/AIDS maiores de 18 anos (idade média 46,2 anos) e com maioria de homens (78%), relatou uma soroproteção pré-vacinal de 14,4%, valor também inferior ao relatado na nossa população. A população desse estudo alemão tinha diagnóstico de HIV havia, em média, 10,2 anos, história de doença definidora de AIDS em apenas 26% dos pacientes, uso de TARV em 90% com média de contagem de linfócitos CD4 = 514 células/mm³ e 70% com carga viral indetectável, história de vacinação contra influenza sazonal no ano anterior em apenas 11% e média de nadir de contagem de linfócitos CD4 de 160 células/mm³. Apesar de as características da população descrita nesse estudo serem parecidas com as do nosso, não podemos afastar que fatores como a data da coleta da sorologia, participação de idosos, maior percentual de homens, maior percentual de supressão viral e menor percentual de doença definidora de AIDS podem ter influenciado os resultados. Além disso, não há descrição da existência (ou não) de comorbidades, fator que aparece, em nosso estudo, como relacionado à soroproteção (BICKEL, M *et al.*, 2010).

Na Áustria, em um estudo realizado entre novembro de 2009 e março de 2010 com 79 pacientes com HIV/AIDS maiores de 18 anos (média de 40 anos) foi identificado um elevado percentual de soroproteção pré-vacinal, de 70% (55/79), valor bem superior ao encontrado em nosso estudo. A população desse ensaio clínico era composta por um percentual levemente superior de homens (75,9% vs. 65,7%), percentual inferior de pacientes com antecedente de

doença definidora de AIDS (14% vs. 33,5%) e maior percentual de pacientes em uso de TARV (87% vs. 79,9%) do que o presente estudo, com valores semelhantes de tempo médio de diagnóstico de HIV, média de contagem de linfócitos CD4 e percentual com CV indetectável, diferenças que pouco justificam a grande diferença no percentual de soroproteção. Também neste estudo, não havia descrição de antecedente de comorbidade ou vacinação prévia contra influenza sazonal, fatores que podem ter influência nessa diferença, assim como a circulação local do vírus e o momento da coleta da sorologia (LAGLER *et al.*, 2011).

Além da diferença no padrão de circulação viral do H1N1pdm09 nos Hemisférios Norte e Sul (OPATOWSKI *et al.*, 2011), a maioria dos ensaios clínicos da vacina contra o H1N1pdm09 em paciente com HIV/AIDS conduzidos no hemisfério norte recrutaram os pacientes entre outubro e dezembro de 2009 (BICKEL, MARKUS *et al.*, 2011; COOPER *et al.*, 2012; KAJASTE-RUDNITSKI *et al.*, 2011; MANUEL *et al.*, 2011; SOONAWALA *et al.*, 2011; TEBAS *et al.*, 2010), concomitante a segunda onda do H1N1pdm09 nessas localidades, o que diverge do ocorrido em nosso estudo, que recrutou os pacientes entre março e agosto de 2010, quando a circulação do vírus H1N1pdm09 diminuiu expressivamente quando comparado à 2009. Além disso, dados de vigilância da circulação do *Influenza* brasileiro mostram que, especificamente no período de recrutamento do nosso estudo, houve predomínio da circulação de Influenza A H3N2 e Influenza B, sem circulação concomitante do H1N1pdm09. Considerando que os títulos de anticorpos contra o Influenza decrescem após a exposição ao mesmo e/ou a vacinação, especialmente em pacientes com HIV/AIDS (CRUM-CIANFLONE; IVERSON; *et al.*, 2011), o intervalo de tempo entre o pico de circulação do H1N1pdm09 no Brasil em setembro de 2009 e a diminuição expressiva da circulação do mesmo no momento da coleta da sorologia podem ter influenciado o percentual de soroproteção encontrado, que pode ser inferior ao do momento da primeira onda.

A faixa etária mais acometida pela população de nosso estudo (39,1% dos soroprotegidos para *Influenza A(H1N1)pdm09* tinham entre 40 e 51 anos) diverge tanto da relatada em trabalhos com a população geral, que apontam para uma maior soroproteção entre os indivíduos com idade entre 15 a 24 anos (DELLAGI *et al.*, 2011; GÖZALAN *et al.*, 2012; MILLER *et al.*, 2010; TIAN *et al.*, 2011; TRAUER *et al.*, 2013; WAALEN *et al.*, 2010; YANG *et al.*, 2011), como a reportada na fase de mitigação no Brasil, na qual 24,3% dos casos de SRAG ocorreram em indivíduos entre 20 e 29 anos e apenas 10,4% dos casos foram entre os pacientes com 40 a 49 anos (SECRETARIA DE VIGILÂNCIA EM SAÚDE -

MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2010). O predomínio do estrato de 40 a 51 anos na população de pacientes com HIV/AIDS em nosso estudo e a baixa proporção de menores de 30 anos pode ser o motivo dessa diferença.

Em nosso estudo, observou-se que as mulheres tiveram 94% mais chance de soroproteção do que os homens ($p=0,02$), achado esse que diverge da observação de falta de associação da variável sexo com a soroproteção contra *Influenza A(H1N1)pdm09* relatada em outros estudos na população geral (ACHONU *et al.*, 2011; HARDELID *et al.*, 2010; MOGHADAMI *et al.*, 2010; DUDAREVA *et al.*, 2011). Apesar disso, de acordo com dados brasileiros do Ministério da Saúde referentes às SE 29 a 52/2009, houve predomínio do sexo feminino (57,2%) entre os casos de SRAG (SECRETARIA DE VIGILÂNCIA EM SAÚDE - MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2010). Pode-se considerar que a associação de sexo feminino com soroproteção poderia estar relacionada ao fato de que as mulheres, em geral, se cuidam mais e frequentam mais os serviços de saúde (COUTO *et al.*, 2010).

Entretanto, nos estudos de soroprevalência da população geral não se observa tal associação de gênero com soroproteção (ACHONU *et al.*, 2011; HARDELID *et al.*, 2010; MOGHADAMI *et al.*, 2010; DUDAREVA *et al.*, 2011), tendo sido descrita uma maior soroconversão entre mulheres quando comparadas aos homens (27.3% vs. 11%, $p = 0.013$) em um estudo de soroincidência de *Influenza A(H1N1)pdm09* em pacientes com HIV/AIDS conduzido na Austrália (KOK *et al.*, 2011).

Além disso, é possível que haja um predomínio de infecção do *Influenza A(H1N1)pdm09* no sexo feminino no Brasil, já que há predomínio de mulheres entre casos de SRAG notificados, mesmo considerando que esses dados não englobam os casos brandos e assintomáticos. Como o presente estudo é seccional e sem população de controle que permita essa comparação, essas possíveis associações são apenas inferências que poderiam ser mais bem avaliadas em outros estudos no futuro. Da mesma forma, os achados de associação positiva da soroproteção com uso de TARV e CV detectável, observados no estrato de sexo feminino e os achados de associação significativa de soroproteção em mulheres nos estratos de pessoas sem vacinação prévia contra influenza sazonal e no de idade ≤ 40 anos são controversos e provavelmente influenciados pelo tamanho amostral e/ou pela presença de outras covariáveis não acessadas no nosso estudo.

Em relação à raça, não foi observada associação na proporção de brancos vs não brancos com a soroproteção contra *Influenza A (H1N1) pdm 09*. Dados brasileiros da SVS/MS referentes aos casos de SRAG notificados confirmados entre as SE 29 e 52/2009 mostram que

houve predomínio da raça branca (71,8%), diferentemente da nossa casuística, na qual tivemos elevado percentual de pardos (43,3%).

A associação de soroproteção com as covariáveis tabagismo, uso de álcool, uso de drogas ilícitas e IMC não apresentou diferença considerável na população estudada.

A história de vacinação contra influenza sazonal também não apresentou associação significativa com a soroproteção no presente estudo. Os dados da literatura são conflitantes, com alguns estudos mostrando maior soroproteção em indivíduos com vacinação contra influenza sazonal prévia (ACHONU *et al.*, 2011; CHEN, M. *et al.*, 2010; DUDAREVA *et al.*, 2011) e outros não (GÖZALAN *et al.*, 2012; TIAN *et al.*, 2011). Entretanto, o número de pacientes com história de vacinação contra influenza sazonal na nossa população de estudo era reduzido, e pode ter influenciado essa avaliação.

Surpreendentemente, a existência de, pelo menos, uma comorbidade mostrou-se independentemente associada a soroproteção, tendo sido observada pelo menos duas vezes mais soroproteção entre os pacientes com alguma comorbidade quando comparados àqueles sem comorbidade, tendo essa associação persistido mesmo depois da estratificação no modelo de regressão logística. Essa associação não foi evidenciada para o estrato de idade ≤ 40 anos e isso pode ter ocorrido por diversos fatores, tais como o insuficiente tamanho amostral nesse estrato ou ainda a existência de algum outro fator relacionado não avaliado.

A associação significativa da presença de comorbidades com maior soroproteção pode estar relacionada à maior exposição ao vírus, uma vez que indivíduos com comorbidades possivelmente realizam mais frequentemente consultas de rotina e utilizam serviços de saúde onde a circulação do vírus é, em geral, maior. Da mesma forma, os pacientes com comorbidades são, provavelmente, mais velhos e com maior exposição a vacinações prévias contra influenza sazonal. De acordo com dados da SVS/MS sobre o total de casos notificados de SRAG confirmados para H1N1pdm09 no Brasil (n=44.544), 45,1% (20.129/44.544) dos registros apresentavam algum tipo de comorbidades, com predomínio também do grupo das pneumopatias crônicas (19,1%) seguido do das doenças cardiovasculares (SECRETARIA DE VIGILÂNCIA EM SAÚDE - MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2010). É sabido que a presença de comorbidades é fator de risco para complicações em pacientes com infecção pela H1N1pdm09 (VIASUS *et al.*, 2011), e o alto percentual observado na notificação de casos graves pode estar associado à maior prevalência de pessoas com comorbidades entre esses.

Nossos resultados mostram uma associação entre a soroproteção contra H1N1pdm09 e a presença de comorbidades, sugerindo que esses indivíduos possam ter uma maior

susceptibilidade à infecção pela H1N1pdm09, seja isso decorrente de maior exposição ou de outro fator ainda desconhecido. Entretanto, limitações relacionadas ao desenho do nosso estudo não nos permitem uma melhor avaliação dessa associação.

A análise das covariáveis relacionadas ao HIV com a soroproteção mostrou que fatores clássicos relacionados à imunodepressão, tais como o tempo de infecção pelo HIV, a contagem de linfócitos CD4, o nadir de contagem de linfócitos CD4, a carga viral do HIV e um diagnóstico de AIDS, não apresentaram associação com a soroproteção contra influenza AH1N1pdm09. Este é um achado importante do ponto de vista clínico, pois sugere que a deficiência imunológica aparentemente não interfere na soroproteção.

Esses aspectos também foram estudados num estudo de soroprevalência que avaliou a soroconversão de *Influenza A(H1N1)pdm09* em uma coorte de pacientes com HIV/AIDS na Austrália, não tendo sido identificada associação da soroconversão com o nível de imunodeficiência e de carga viral (KOK *et al.*, 2011),

Um estudo americano que avaliou a soroincidência do *Influenza A(H1N1)pdm09* em mulheres com HIV/AIDS (ALTHOFF *et al.*, 2011) identificou que pacientes com carga viral detectável (>80 cópias/mL), contagem de linfócitos $CD4 \leq 350$ células/mm³ e diagnóstico de AIDS apresentavam menores taxas de soroproteção, sugerindo uma correlação entre soroproteção e infecção pelo HIV não controlada e baixa contagem de linfócitos CD4 (ALTHOFF *et al.*, 2011).

Estudos sobre imunogenicidade da vacina contra *Influenza A(H1N1)pdm09* em pacientes com HIV/AIDS obtiveram achados diversos referentes ao impacto dos fatores relacionados ao HIV na resposta imune vacinal. Alguns estudos identificaram uma resposta vacinal inferior em pacientes com maior grau de imunodeficiência, contagem de linfócitos $CD4 \leq 200$ células/mm³ (BICKEL, MARKUS *et al.*, 2011; FABBIANI *et al.*, 2011; HO *et al.*, 2011; SANTINI-OLIVEIRA *et al.*, 2012; TEBAS *et al.*, 2010; TIU *et al.*, 2011; YANAGISAWA *et al.*, 2011) ou ≤ 100 células/mm³ (KROON, F. P. *et al.*, 1994) ou menor média de contagem de linfócitos CD4 (BICKEL, MARKUS *et al.*, 2011; HO *et al.*, 2011; ORLANDO *et al.*, 2010) ou replicação viral do HIV (CV detectável > 400 cópias/mL) (HATAKEYAMA *et al.*, 2011), entretanto, outros estudos não observaram diferença significativa na resposta à vacina de acordo com cofatores relacionadas a infecção pelo HIV (PARIANI *et al.*, 2011; TREMBLAY *et al.*, 2011). O não uso de TARV (ORLANDO *et al.*, 2010) e um maior tempo de diagnóstico da infecção pelo HIV (BICKEL, MARKUS *et al.*,

2011; ORLANDO *et al.*, 2010) também se mostraram associados a uma pior resposta a essa vacina.

Não foi possível avaliar a associação da soroproteção com os diferentes tipos de comorbidades isoladamente devido ao seu pequeno número em cada categoria.

Sendo esse um estudo seccional, que não considera a influência do tempo de exposição ao vírus, a ocasião da infecção e tampouco o número de infecções naturais prévias a outros subtipos de influenza A, restrições relacionadas ao desenho do estudo também devem ser consideradas para a interpretação dos resultados.

Alguns outros fatores devem ainda ser levados em consideração. As coletas de sangue para a sorologia analisadas no presente trabalho foram iniciadas seis meses após o pico da circulação do vírus no país. A prevalência de soroproteção pré-pandêmica é desconhecida no Brasil, no entanto, considerando que este é um vírus novo, sua circulação antes da pandemia era provavelmente baixa.

Nosso estudo acrescenta dados para aprofundar a relação da soroepidemiologia do *Influenza A(H1N1)pdm09* em pacientes com HIV/AIDS e é um dos poucos trabalhos que possibilitaram a avaliação de covariáveis demográficas e clínicas nessa população. Estudos adicionais são necessários para subsidiar o melhor manejo desses pacientes numa possível futura pandemia de *Influenza*.

8. CONCLUSÕES

- Uma elevada proporção de pacientes com HIV/AIDS incluídos nesse estudo apresentavam títulos protetores contra o *Influenza A(H1N1)pdm09* num momento anterior a vacinação para esse vírus.

- O sexo feminino e a presença de pelo menos uma comorbidade mostraram-se significativamente associados à soroproteção pré-vacinal.

- O efeito da vacinação prévia contra influenza sazonal não se mostrou associado a soroproteção contra Influenza A(H1N1)pdm09 nesse estudo.

- Fatores associados a uma maior exposição ao vírus da influenza pandêmica mostraram-se associados à soroproteção pré vacinal, enfatizando a importância de abordagens preventivas para exposição a esse patógeno no atendimento aos pacientes com HIV/AIDS.

- Não se observou associação entre fatores associados a infecção pelo HIV e soroproteção contra Influenza A (H1N1) pdm 09.

9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ACHONU, C. *et al.* Seroprevalence of pandemic influenza H1N1 in Ontario from January 2009-May 2010. *PloS One*, v. 6, n. 11, p. e26427, 2011. Acesso em: 1 mar. 2012.
- ADAMSON, W. *et al.* 2009 pandemic influenza A(H1N1) virus in Scotland: geographically variable immunity in Spring 2010, following the winter outbreak. *Euro Surveill*, 24, v. 15, 2010.
- ALAGIRISWAMI, A.; CHEESEMAN, S. Influenza and HIV: case report and review of potential interactions. *AIDS Patient Care STDS*, 11, v. 15, p. 561–5, 2001.
- AL-KHAYATT, R.; JENNINGS, R.; POTTER, C. W. Interpretation of responses and protective levels of antibody against attenuated influenza A viruses using single radial haemolysis. *The Journal of Hygiene*, PMID: 6389697, v. 93, n. 2, p. 301–312, out. 1984. Acesso em: 22 fev. 2012.
- ALLWINN, R. *et al.* Determination of serum antibodies against swine-origin influenza A virus H1N1/09 by immunofluorescence, haemagglutination inhibition, and by neutralization tests: how is the prevalence rate of protecting antibodies in humans? *Medical microbiology and immunology*, PMID: 20162304, v. 199, n. 2, p. 117–121, maio 2010. Acesso em: 18 jul. 2012.
- ALTHOFF, K. N. *et al.* Seroincidence of 2009 H1N1 infection in HIV-infected and HIV-uninfected women prior to vaccine availability. *AIDS (London, England)*, PMID: 21505313PMCID: PMC3442364, v. 25, n. 9, p. 1229–1232, 1 jun. 2011. Acesso em: 5 nov. 2012.
- Assays for neutralizing antibody to influenza viruses. Report of an informal scientific workshop, Dresden, 18-19 March 2003. *Relevé épidémiologique hebdomadaire / Section d'hygiène du Secrétariat de la Société des Nations = Weekly epidemiological record / Health Section of the Secretariat of the League of Nations*, PMID: 14509122, v. 78, n. 33, p. 290–293, 15 ago. 2003. Acesso em: 28 ago. 2012.
- BARTLETT, M. D. J. G. *et al.* Laboratory Tests. *Medical Management of HIV Infection*. 15. ed. [S.l.]: Knowledge Source Solutions, 2009. .
- BIANCO, R. D. *et al.* Clinical aspects of influenza A (H1N1) in HIV-infected individuals in São Paulo during the pandemic of 2009. *Brazilian Journal of Infectious Diseases*, v. 15, n. 2, p. 170–173, abr. 2011. Acesso em: 28 abr. 2012.
- BICKEL, M. *et al.* Immune response after two doses of the novel split virion, adjuvanted pandemic H1N1 influenza A vaccine in HIV-1-infected patients. *Clinical Infectious Diseases: An Official Publication of the Infectious Diseases Society of America*, PMID: 21148530, v. 52, n. 1, p. 122–127, 1 jan. 2011. Acesso em: 14 jul. 2011.
- BICKEL, M. *et al.* Low rate of seroconversion after vaccination with a split virion, adjuvanted pandemic H1N1 influenza vaccine in HIV-1-infected patients. *AIDS*, 9, v. 24, p. F31–5, 2010.
- BRIDGES, C. B. *et al.* Prevention and control of influenza: recommendations of the Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP). *MMWR. Recommendations and reports: Morbidity and mortality weekly report. Recommendations and reports / Centers for Disease Control*, PMID: 15580733, v. 49, n. RR-3, p. 1–38; quiz CE1–7, 14 abr. 2000.

- (CDC), C. FOR D. C. AND P. Deaths and hospitalizations related to 2009 pandemic influenza A (H1N1) - Greece, May 2009-February 2010. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep*, 22, v. 59, p. 682–6, 2010a.
- (CDC), C. FOR D. C. AND P. Preliminary results: surveillance for Guillain-Barré syndrome after receipt of influenza A (H1N1) 2009 monovalent vaccine - United States, 2009-2010. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep*, 21, v. 59, p. 657–61, 2010b.
- (CDC), C. FOR D. C. AND P. Update: drug susceptibility of swine-origin influenza A (H1N1) viruses, April 2009. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep*, 16, v. 58, p. 433–5, 2009.
- CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION. AIDS-Defining Conditions. v. 57, n. nRR10, p. 9, 5 dez. 2008.
- CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION. *Seasonal Influenza (Flu) - How the Flu Virus Can Change*. Disponível em: <<http://www.cdc.gov/flu/about/viruses/change.htm>>. Acesso em: 10 jul. 2011.
- CHAN, Y. *et al.* Seroprevalence of antibodies to pandemic (H1N1) 2009 influenza virus among hospital staff in a medical center in Taiwan. *J Chin Med Assoc*, 2, v. 73, p. 62–6, 2010.
- CHEN, C.-J. *et al.* Seroprevalence and severity of 2009 pandemic influenza A H1N1 in Taiwan. *PloS One*, PMID: 21909433, v. 6, n. 9, p. e24440, 2011. Acesso em: 15 jan. 2012.
- CHENG, V. C. C. *et al.* Two years after pandemic influenza A/2009/H1N1: what have we learned? *Clinical microbiology reviews*, PMID: 22491771, v. 25, n. 2, p. 223–263, abr. 2012.
- CHEN, H. *et al.* Serologic survey of pandemic (H1N1) 2009 virus, Guangxi Province, China. *Emerg Infect Dis*, 11, v. 15, p. 1849–50, 2009.
- CHEN, M. *et al.* 2009 influenza A(H1N1) seroconversion rates and risk factors among distinct adult cohorts in Singapore. *JAMA*, 14, v. 303, p. 1383–91, 2010.
- CHEN, Y. *et al.* Serological survey of antibodies to influenza A viruses in a group of people without a history of influenza vaccination. *Clinical microbiology and infection: the official publication of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*, PMID: 21749549, v. 17, n. 9, p. 1347–1349, set. 2011. Acesso em: 18 jul. 2012.
- CLARK, T. *et al.* Trial of 2009 influenza A (H1N1) monovalent MF59-adjuvanted vaccine. *N Engl J Med*, 25, v. 361, p. 2424–35, 2009.
- COOPER, C. *et al.* High-level immunogenicity is achieved vaccine with adjuvanted pandemic H1N1(2009) and improved with booster dosing in a randomized trial of HIV-infected adults. *HIV clinical trials*, PMID: 22306585, v. 13, n. 1, p. 23–32, fev. 2012. Acesso em: 7 jun. 2012.
- CORDERO, E. *et al.* Immunosuppressed patients with pandemic influenza A 2009 (H1N1) virus infection. *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases: Official Publication of the European Society of Clinical Microbiology*, PMID: 21792558, v. 31, n. 4, p. 547–556, abr. 2012.
- COUCH, R.; KASEL, J. Immunity to influenza in man. *Annu Rev Microbiol*, v. 37, p. 529–49, 1983.

COUTO, M. T. *et al.* Men in primary healthcare: discussing (in) visibility based on gender perspectives. *Interface - Comunicação, Saúde, Educação*, v. 14, n. 33, p. 257–270, jun. 2010. Acesso em: 18 ago. 2013.

CRUM-CIANFLONE, N. F.; IVERSON, E.; *et al.* Durability of antibody responses after receipt of the monovalent 2009 pandemic influenza A (H1N1) vaccine among HIV-infected and HIV-uninfected adults. *Vaccine*, PMID: 21371580, v. 29, n. 17, p. 3183–3191, 12 abr. 2011.

CRUM-CIANFLONE, N. F.; EBERLY, L. E.; *et al.* Immunogenicity of a monovalent 2009 influenza A (H1N1) vaccine in an immunocompromised population: a prospective study comparing HIV-infected adults with HIV-uninfected adults. *Clinical infectious diseases: an official publication of the Infectious Diseases Society of America*, PMID: 21148532, v. 52, n. 1, p. 138–146, 1 jan. 2011. Acesso em: 7 jun. 2012.

CUI, W. *et al.* Factors associated with death in hospitalized pneumonia patients with 2009 H1N1 influenza in Shenyang, China. *BMC Infect Dis*, v. 10, p. 145, 2010.

DAWOOD, F. *et al.* Emergence of a novel swine-origin influenza A (H1N1) virus in humans. *N Engl J Med*, 25, v. 360, p. 2605–15, 2009.

DEANS, G.; STIVER, H.; MCELHANEY, J. Influenza vaccines provide diminished protection but are cost-saving in older adults. *J Intern Med*, 2, v. 267, p. 220–7, 2010.

DELLAGI, K. *et al.* Pandemic influenza due to pH1N1/2009 virus: estimation of infection burden in Reunion Island through a prospective serosurvey, austral winter 2009. *PloS One*, PMID: 21980532, v. 6, n. 9, p. e25738, 2011. Acesso em: 1 mar. 2012.

DE SERRES, G. *et al.* Contagious period for pandemic (H1N1) 2009. *Emerg Infect Dis*, 5, v. 16, p. 783–8, 2010.

DUDAREVA, S. *et al.* Prevalence of antibodies to 2009 pandemic influenza A (H1N1) virus in German adult population in pre- and post-pandemic period. *PloS one*, PMID: 21701598, v. 6, n. 6, p. e21340, 2011. Acesso em: 9 set. 2012.

DUTKOWSKI, R. Oseltamivir in seasonal influenza: cumulative experience in low- and high-risk patients. *J Antimicrob Chemother*, v. 65 Suppl 2, p. ii11–ii24, 2010.

EL SAHLY, H. M. *et al.* Higher Antigen Content Improves the Immune Response to 2009 H1N1 Influenza Vaccine in HIV-Infected Adults: A Randomized Clinical Trial. *The Journal of Infectious Diseases*, PMID: 22275399, v. 205, n. 5, p. 703–712, mar. 2012. Acesso em: 22 fev. 2012.

ENGELHARD, D. *et al.* The humoral immune response of hematopoietic stem cell transplantation recipients to AS03-adjuvanted A/California/7/2009 (H1N1)v-like virus vaccine during the 2009 pandemic. *Vaccine*, PMID: 21216315, v. 29, n. 9, p. 1777–1782, 17 fev. 2011. Acesso em: 18 jul. 2012.

FABBIANI, M. *et al.* Immune response to influenza A (H1N1)v monovalent MF59-adjuvanted vaccine in HIV-infected patients. *Vaccine*, PMID: 21349364, v. 29, n. 16, p. 2836–2839, 5 abr. 2011. Acesso em: 7 jun. 2012.

FAGIOLO, U. *et al.* Humoral and cellular immune response to influenza virus vaccination in aged humans. *Aging (Milano)*, 6, v. 5, p. 451–8, 1993.

FALAGAS, M. *et al.* Pandemic A(H1N1) 2009 influenza: review of the Southern Hemisphere experience. *Epidemiol Infect*, p. 1–14, 2010.

FALAGAS, M. E. *et al.* Effectiveness and safety of neuraminidase inhibitors in reducing influenza complications: a meta-analysis of randomized controlled trials. *The Journal of antimicrobial chemotherapy*, PMID: 20488984, v. 65, n. 7, p. 1330–1346, jul. 2010.

FINE, A. *et al.* Influenza A among patients with human immunodeficiency virus: an outbreak of infection at a residential facility in New York City. *Clin Infect Dis*, 12, v. 32, p. 1784–91, 2001.

FIORE, A. *et al.* Prevention and control of influenza with vaccines: recommendations of the Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP), 2010. *MMWR Recomm Rep*, RR-8, v. 59, p. 1–62, 2010.

FIORE, A.; BRIDGES, C.; COX, N. Seasonal influenza vaccines. *Curr Top Microbiol Immunol*, v. 333, p. 43–82, 2009.

FRITZ, S. *et al.* Virosomal influenza-vaccine induced immunity in HIV-infected individuals with high versus low CD4+ T-cell counts: clues towards a rational vaccination strategy. *AIDS*, 14, v. 24, p. 2287–9, 2010.

GEORGE, S. L. *et al.* Hepatitis C virus viremia in HIV-infected individuals with negative HCV antibody tests. *Journal of acquired immune deficiency syndromes (1999)*, PMID: 12394793, v. 31, n. 2, p. 154–162, 1 out. 2002.

GILBERT, G. L. *et al.* Influenza A (H1N1) 2009 antibodies in residents of New South Wales, Australia, after the first pandemic wave in the 2009 southern hemisphere winter. *PloS one*, PMID: 20830210, v. 5, n. 9, p. e12562, 2010. Acesso em: 18 jul. 2012.

GIRARD, M. *et al.* The 2009 A (H1N1) influenza virus pandemic: A review. *Vaccine*, 31, v. 28, p. 4895–902, 2010.

Global Advisory Committee on Vaccine Safety, 3-4 December 2009. *Wkly Epidemiol Rec*, 5, v. 85, p. 29–33, 2010.

GOLDEN, M.; SAJJAD, Z.; ELGART, L. Influenza and human immunodeficiency virus infection: absence of HIV progression after acute influenza infection. *Clin Infect Dis*, 9, v. 32, p. 1366–70, 2001.

GÖZALAN, A. *et al.* Seroprevalence following the first wave of pandemic influenza A (H1N1) in Turkey, 2009. *Japanese Journal of Infectious Diseases*, PMID: 22274152, v. 65, n. 1, p. 13–18, jan. 2012. Acesso em: 1 mar. 2012.

GREENBERG, M. *et al.* Response to a monovalent 2009 influenza A (H1N1) vaccine. *N Engl J Med*, 25, v. 361, p. 2405–13, 2009.

GRILLS, N. *et al.* A lower than expected adult Victorian community attack rate for pandemic (H1N1) 2009. *Australian and New Zealand journal of public health*, PMID: 20618261, v. 34, n. 3, p. 228–231, jun. 2010. Acesso em: 18 jul. 2012.

GUELLER, S. *et al.* Enhanced immune response after a second dose of an AS03-adjuvanted H1N1 influenza A vaccine in patients after hematopoietic stem cell transplantation. *Biology of blood and marrow transplantation: journal of the American Society for Blood and Marrow*

Transplantation, PMID: 21324375, v. 17, n. 10, p. 1546–1550, out. 2011. Acesso em: 18 jul. 2012.

HARDELID, P. *et al.* Assessment of baseline age-specific antibody prevalence and incidence of infection to novel influenza A/H1N1 2009. *Health technology assessment (Winchester, England)*, PMID: 21208549, v. 14, n. 55, p. 115–192, dez. 2010. Acesso em: 8 jun. 2012.

HATAKEYAMA, S. *et al.* Unadjuvanted pandemic H1N1 influenza vaccine in HIV-1-infected adults. *Vaccine*, PMID: 21978767, v. 29, n. 49, p. 9224–9228, 15 nov. 2011. Acesso em: 25 fev. 2012.

HO, J. *et al.* Enhancing effects of adjuvanted 2009 pandemic H1N1 influenza A vaccine on memory B-cell responses in HIV-infected individuals. *AIDS (London, England)*, PMID: 21157297, v. 25, n. 3, p. 295–302, 28 jan. 2011. Acesso em: 7 jun. 2012.

HUANG, D. T.-N. *et al.* Serologic status for pandemic (H1N1) 2009 virus, Taiwan. *Emerging infectious diseases*, PMID: 21192858, v. 17, n. 1, p. 76–78, jan. 2011. Acesso em: 18 jul. 2012.

HUIJSKENS, E. *et al.* Immunogenicity, boostability, and sustainability of the immune response after vaccination against Influenza A virus (H1N1) 2009 in a healthy population. *Clinical and Vaccine Immunology: CVI*, PMID: 21795459, v. 18, n. 9, p. 1401–1405, set. 2011. Acesso em: 15 jan. 2012.

HUNG, C.-C. *et al.* Seroepidemiology of novel influenza A (H1N1) infection among HIV-infected patients in the era of highly active antiretroviral therapy. *Journal of microbiology, immunology, and infection = Wei mian yu gan ran za zhi*, PMID: 22579505, 10 maio 2012. Acesso em: 7 jun. 2012.

HUO, X. *et al.* Seroprevalence of pandemic (H1N1) 2009 in pregnant women in China: an observational study. *PloS one*, PMID: 21437256, v. 6, n. 3, p. e17995, 2011. Acesso em: 18 jul. 2012.

IKONEN, N. *et al.* High frequency of cross-reacting antibodies against 2009 pandemic influenza A(H1N1) virus among the elderly in Finland. *Euro Surveill*, 5, v. 15, 2010.

ISAIS, F. *et al.* Pandemic (H1N1) 2009 influenza in HIV-infected adults: Clinical features, severity, and outcome. *J Infect*, 2010.

JEFFERSON, T. *et al.* Neuraminidase inhibitors for preventing and treating influenza in healthy adults. *Cochrane Database Syst Rev*, 2, p. CD001265, 2000.

KAJASTE-RUDNITSKI, A. *et al.* Induction of protective antibody response by MF59-adjuvanted 2009 pandemic A/H1N1v influenza vaccine in HIV-1-infected individuals. *AIDS (London, England)*, PMID: 21150561, v. 25, n. 2, p. 177–183, 14 jan. 2011. Acesso em: 7 jun. 2012.

KOK, J. *et al.* Pandemic (H1N1) 2009 influenza virus seroconversion rates in HIV-infected individuals. *Journal of Acquired Immune Deficiency Syndromes (1999)*, PMID: 21084991, v. 56, n. 2, p. 91–94, 1 fev. 2011. Acesso em: 12 jul. 2011.

KOTSIMBOS, T. *et al.* Influenza A/H1N1_09: Australia and New Zealand's winter of discontent. *Am J Respir Crit Care Med*, 4, v. 181, p. 300–6, 2010.

KROON, F. *et al.* Antibody response after influenza vaccination in HIV-infected individuals: a consecutive 3-year study. *Vaccine*, 26, v. 18, p. 3040–9, 2000.

KROON, F. P. *et al.* Antibody response to influenza, tetanus and pneumococcal vaccines in HIV-seropositive individuals in relation to the number of CD4+ lymphocytes. *AIDS (London, England)*, PMID: 7912086, v. 8, n. 4, p. 469–476, abr. 1994.

KUBAVAT, A. H. *et al.* A clinical trial to assess the immunogenicity and safety of Inactivated Influenza Vaccine (Whole Virion) IP (Pandemic Influenza (H1N1) 2009 Monovalent Vaccine; VaxiFlu-S™) in healthy Indian adult population. *Journal of Postgraduate Medicine*, PMID: 21654130, v. 57, n. 2, p. 102–108, jun. 2011. Acesso em: 24 fev. 2012.

KUIKEN, T.; TAUBENBERGER, J. Pathology of human influenza revisited. *Vaccine*, v. 26 Suppl 4, p. D59–66, 2008.

KUMAR, A. Early versus late oseltamivir treatment in severely ill patients with 2009 pandemic influenza A (H1N1): speed is life. *The Journal of antimicrobial chemotherapy*, PMID: 21406435, v. 66, n. 5, p. 959–963, maio 2011.

KUMAR, D. *et al.* Outcomes from pandemic influenza A H1N1 infection in recipients of solid-organ transplants: a multicentre cohort study. *The Lancet Infectious Diseases*, PMID: 20620116, v. 10, n. 8, p. 521–526, ago. 2010. Acesso em: 25 fev. 2012.

KUMAR, S. *et al.* Epidemiologic Observations from Passive and Targeted Surveillance during the First Wave of the 2009 H1N1 Influenza Pandemic in Milwaukee, WI. *Viruses*, 4, v. 2, p. 782–795, 2010.

KUNG, H.-C. *et al.* A clinical study to assess the immunogenicity and safety of a monovalent 2009 influenza A (H1N1) vaccine in an area with low-level epidemics of pandemic influenza. *Vaccine*, PMID: 20817013, v. 28, n. 45, p. 7337–7343, 21 out. 2010. Acesso em: 24 fev. 2012.

KUNISAKI, K.; JANOFF, E. Influenza in immunosuppressed populations: a review of infection frequency, morbidity, mortality, and vaccine responses. *Lancet Infect Dis*, 8, v. 9, p. 493–504, 2009.

LAGLER, H. *et al.* Immunogenicity and Tolerability after Two Doses of Non-Adjuvanted, Whole-Virion Pandemic Influenza A (H1N1) Vaccine in HIV-Infected Individuals. *PloS one*, PMID: 22629330, v. 7, n. 5, p. e36773, 2012. Acesso em: 7 jun. 2012.

LAGLER, H. *et al.* Pandemic influenza A H1N1 vaccine in recipients of solid organ transplants: immunogenicity and tolerability outcomes after vero cell derived, non-adjuvanted, whole-virion vaccination. *Vaccine*, PMID: 21803100, v. 29, n. 40, p. 6888–6893, 16 set. 2011. Acesso em: 18 jul. 2012.

LAUNAY, O. *et al.* Safety and immunogenicity of a monovalent 2009 influenza A/H1N1v vaccine adjuvanted with AS03A or unadjuvanted in HIV-infected adults: a randomized, controlled trial. *The Journal of infectious diseases*, PMID: 21628666, v. 204, n. 1, p. 124–134, 1 jul. 2011. Acesso em: 7 jun. 2012.

LIANG, X. *et al.* Safety and immunogenicity of 2009 pandemic influenza A H1N1 vaccines in China: a multicentre, double-blind, randomised, placebo-controlled trial. *Lancet*, 9708, v. 375, p. 56–66, 2010.

LIN, J. C.; NICHOL, K. L. Excess mortality due to pneumonia or influenza during influenza seasons among persons with acquired immunodeficiency syndrome. *Archives of Internal Medicine*, PMID: 11176770, v. 161, n. 3, p. 441–446, 12 fev. 2001. Acesso em: 23 fev. 2012.

LÓPEZ-MACÍAS, C. *et al.* Safety and immunogenicity of a virus-like particle pandemic influenza A (H1N1) 2009 vaccine in a blinded, randomized, placebo-controlled trial of adults in Mexico. *Vaccine*, PMID: 21816199, v. 29, n. 44, p. 7826–7834, 13 out. 2011. Acesso em: 18 jul. 2012.

MACKAY, H. J. *et al.* Evaluation of pandemic H1N1 (2009) influenza vaccine in adults with solid tumor and hematological malignancies on active systemic treatment. *Journal of clinical virology: the official publication of the Pan American Society for Clinical Virology*, PMID: 21168361, v. 50, n. 3, p. 212–216, mar. 2011. Acesso em: 18 jul. 2012.

MADHUN, A. S. *et al.* An adjuvanted pandemic influenza H1N1 vaccine provides early and long term protection in health care workers. *Vaccine*, PMID: 21034828, v. 29, n. 2, p. 266–273, 16 dez. 2010. Acesso em: 24 fev. 2012.

MALTEZOU, H. C. *et al.* Seroepidemiological study of pandemic influenza H1N1 following the 2009-2010 wave in Greece. *Vaccine*, PMID: 21762749, v. 29, n. 38, p. 6664–6669, 2 set. 2011. Acesso em: 3 set. 2012.

MANDELL, G.; BENNETT, J.; DOLIN, R. *Principles and Practice of Infectious Diseases*. Philadelphia: Elsevier, 2005. v. 2.

MANUEL, O. *et al.* Humoral response to the influenza A H1N1/09 monovalent AS03-adjuvanted vaccine in immunocompromised patients. *Clinical Infectious Diseases: An Official Publication of the Infectious Diseases Society of America*, PMID: 21288852, v. 52, n. 2, p. 248–256, 15 jan. 2011. Acesso em: 29 abr. 2012.

MARUSZAK, H. *et al.* Improved serological response to H1N1 monovalent vaccine associated with viral suppression among HIV-1-infected patients during the 2009 influenza (H1N1) pandemic in the Southern Hemisphere. *HIV Medicine*, PMID: 22296264, 2 fev. 2012.

MCVERNON, J. *et al.* Seroprevalence of 2009 pandemic influenza A(H1N1) virus in Australian blood donors, October - December 2009. *Euro surveillance: bulletin européen sur les maladies transmissibles = European communicable disease bulletin*, PMID: 20946757, v. 15, n. 40, 2010.

MEYER, S. *et al.* Antibody response after a single dose of an AS03-adjuvanted split-virion influenza A (H1N1) vaccine in heart transplant recipients. *Transplantation*, PMID: 21358365, v. 91, n. 9, p. 1031–1035, 15 maio 2011. Acesso em: 18 jul. 2012.

MILLER, E. *et al.* Incidence of 2009 pandemic influenza A H1N1 infection in England: a cross-sectional serological study. *Lancet*, 9720, v. 375, p. 1100–8, 2010.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. *Informe Técnico Campanha Nacional de Vacinação contra a Influenza 2011*. [S.l.: s.n.], 2011

MIOTTI, P. *et al.* The influence of HIV infection on antibody responses to a two-dose regimen of influenza vaccine. *JAMA*, 6, v. 262, p. 779–83, 1989.

- MIRAGLIA, J. L. *et al.* Immunogenicity and reactogenicity of 2009 influenza A (H1N1) inactivated monovalent non-adjuvanted vaccine in elderly and immunocompromised patients. *PloS One*, PMID: 22087267, v. 6, n. 11, p. e27214, 2011. Acesso em: 25 fev. 2012.
- MOGHADAMI, M. *et al.* High titers of hemagglutination inhibition antibodies against 2009 H1N1 influenza virus in Southern Iran. *Iranian journal of immunology: IJI*, PMID: 20371918, v. 7, n. 1, p. 39–48, mar. 2010. Acesso em: 4 set. 2012.
- MÖRNER, A. *et al.* Pandemic influenza A(H1N1)pdm09 seroprevalence in Sweden before and after the pandemic and the vaccination campaign in 2009. *PloS one*, PMID: 23285299, v. 7, n. 12, p. e53511, 2012.
- MUTHURI, S. G. *et al.* Impact of neuraminidase inhibitor treatment on outcomes of public health importance during the 2009-2010 influenza A(H1N1) pandemic: a systematic review and meta-analysis in hospitalized patients. *The Journal of infectious diseases*, PMID: 23204175, v. 207, n. 4, p. 553–563, 15 fev. 2013.
- NABESHIMA, S. *et al.* Influenza in three patients with human immunodeficiency virus infection. *Intern Med*, 7, v. 39, p. 592–7, 2000.
- NAM, J. S. *et al.* The humoral immune response to the inactivated influenza A (H1N1) 2009 monovalent vaccine in patients with Type 2 diabetes mellitus in Korea. *Diabetic Medicine: A Journal of the British Diabetic Association*, PMID: 21672004, v. 28, n. 7, p. 815–817, jul. 2011. Acesso em: 24 fev. 2012.
- NELSON, K. *et al.* The influence of human immunodeficiency virus (HIV) infection on antibody responses to influenza vaccines. *Ann Intern Med*, 5, v. 109, p. 383–8, 1988.
- NEUMANN, G.; NODA, T.; KAWAOKA, Y. Emergence and pandemic potential of swine-origin H1N1 influenza virus. *Nature*, PMID: 19525932PMCID: PMC2873852, v. 459, n. 7249, p. 931–939, 18 jun. 2009. Acesso em: 19 jul. 2013.
- NEUZIL, K. *et al.* Cardiopulmonary hospitalizations during influenza season in adults and adolescents with advanced HIV infection. *J Acquir Immune Defic Syndr*, 3, v. 34, p. 304–7, 2003.
- NICHOLSON, K. G. *et al.* Immunogenicity and safety of a two-dose schedule of whole-virion and AS03A-adjuvanted 2009 influenza A (H1N1) vaccines: a randomised, multicentre, age-stratified, head-to-head trial. *The Lancet Infectious Diseases*, PMID: 21168369, v. 11, n. 2, p. 91–101, fev. 2011. Acesso em: 24 fev. 2012.
- NICHOLSON, K. G.; WOOD, J. M.; ZAMBON, M. Influenza. *Lancet*, PMID: 14643124, v. 362, n. 9397, p. 1733–1745, 22 nov. 2003. Acesso em: 10 jul. 2011.
- NICOLL, A. A new decade, a new seasonal influenza: the Council of the European Union Recommendation on seasonal influenza vaccination. *Euro surveillance: bulletin Européen sur les maladies transmissibles = European communicable disease bulletin*, PMID: 20067749, v. 15, n. 1, 7 jan. 2010.
- OHFUJI, S. *et al.* Immunogenicity of a monovalent 2009 influenza A (H1N1) vaccine among pregnant women: lowered antibody response by prior seasonal vaccination. *The Journal of infectious diseases*, PMID: 21459817, v. 203, n. 9, p. 1301–1308, 1 maio 2011. Acesso em: 18 jul. 2012.

- OPATOWSKI, L. *et al.* Transmission characteristics of the 2009 H1N1 influenza pandemic: comparison of 8 Southern hemisphere countries. *PLoS pathogens*, PMID: 21909272, v. 7, n. 9, p. e1002225, set. 2011.
- ORLANDO, G. *et al.* Pandemic influenza vaccine in adult HIV-1-infected patients. *AIDS*, 13, v. 24, p. 2142–3, 2010.
- PALACHE, A. *et al.* Influenza vaccines: the effect of vaccine dose on antibody response in primed populations during the ongoing interpandemic period. A review of the literature. *Vaccine*, 9, v. 11, p. 892–908, 1993.
- PAPENBURG, J. *et al.* Evaluation of serological diagnostic methods for the 2009 pandemic influenza A (H1N1) virus. *Clinical and vaccine immunology: CVI*, PMID: 21228145, v. 18, n. 3, p. 520–522, mar. 2011. Acesso em: 19 set. 2012.
- PARIANI, E. *et al.* Response to 2009 pandemic and seasonal influenza vaccines co-administered to HIV-infected and HIV-uninfected former drug users living in a rehabilitation community in Italy. *Vaccine*, PMID: 21974995, v. 29, n. 49, p. 9209–9213, 15 nov. 2011. Acesso em: 25 fev. 2012.
- PATROZOU, E.; MERMEL, L. Does influenza transmission occur from asymptomatic infection or prior to symptom onset? *Public Health Rep*, 2, v. 124, p. 193–6, 2009.
- PEREZ, C. *et al.* Pandemic influenza A (H1N1) in HIV-1-infected patients. *AIDS*, 2010.
- PLENNEVAUX, E. *et al.* Immune response after a single vaccination against 2009 influenza A H1N1 in USA: a preliminary report of two randomised controlled phase 2 trials. *Lancet*, 9708, v. 375, p. 41–8, 2010.
- PRACHAYANGPRECHA, S. *et al.* Epidemiological and serological surveillance of human pandemic influenza A virus infections during 2009-2010 in Thailand. *Japanese journal of infectious diseases*, PMID: 21937818, v. 64, n. 5, p. 377–381, 2011. Acesso em: 18 jul. 2012.
- PRACHAYANGPRECHA, S. *et al.* Serological analysis of human pandemic influenza (H1N1) in Thailand. *Journal of health, population, and nutrition*, PMID: 21261198, v. 28, n. 6, p. 537–544, dez. 2010. Acesso em: 18 jul. 2012.
- PRECIOSO, A. R. *et al.* A phase I randomized, double-blind, controlled trial of 2009 influenza A (H1N1) inactivated monovalent vaccines with different adjuvant systems. *Vaccine*, PMID: 21945258, v. 29, n. 48, p. 8974–8981, 8 nov. 2011. Acesso em: 18 jul. 2012.
- PUPPIN, D., Jr *et al.* HIV infection and loss of treponemal test reactivity. *Acta dermato-venereologica*, PMID: 1357901, v. 72, n. 4, p. 313, ago. 1992.
- RADWAN, H. *et al.* Influenza in human immunodeficiency virus-infected patients during the 1997-1998 influenza season. *Clin Infect Dis*, 2, v. 31, p. 604–6, 2000.
- REED, C. *et al.* Estimates of the prevalence of pandemic (H1N1) 2009, United States, April-July 2009. *Emerg Infect Dis*, 12, v. 15, p. 2004–7, 2009.
- RIBEIRO, A. C. M. *et al.* Reduced seroprotection after pandemic H1N1 influenza adjuvant-free vaccination in patients with rheumatoid arthritis: implications for clinical practice. *Annals of the*

Rheumatic Diseases, PMID: 21859696, v. 70, n. 12, p. 2144–2147, dez. 2011. Acesso em: 15 jan. 2012.

RIERA, M. *et al.* Clinical presentation and prognosis of the 2009 H1N1 influenza A infection in HIV-1-infected patients: a Spanish multicenter study. *AIDS*, 2010.

RODRÍGUEZ, A. *et al.* [Pandemic influenza A in the ICU: experience in Spain and Latin America. GETGAG/SEMICYUC/(Spanish Working Group on Severe Pandemic Influenza A/SEMICYUC)]. *Med Intensiva*, 2, v. 34, p. 87–94, 2010.

ROMAN, F. *et al.* AS03(A)-Adjuvanted influenza A (H1N1) 2009 vaccine for adults up to 85 years of age. *Clinical infectious diseases: an official publication of the Infectious Diseases Society of America*, PMID: 20687838, v. 51, n. 6, p. 668–677, 15 set. 2010. Acesso em: 18 jul. 2012.

ROMAN, F. *et al.* 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*, 7, v. 28, p. 1740–5, 2010.

RORAT, M. *et al.* The Clinical Course of Late Diagnosed Fatal Cases of A (H1N1) Influenza in Poland. *Postępy higieny i medycyny doświadczalnej (Online)*, PMID: 23799403, v. 67, p. 595–600, 2013.

RUBINSTEIN, E. *et al.* The responses of Aboriginal Canadians to adjuvanted pandemic (H1N1) 2009 influenza vaccine. *CMAJ: Canadian Medical Association journal = journal de l'Association medicale canadienne*, PMID: 21788422, v. 183, n. 13, p. E1033–1037, 20 set. 2011. Acesso em: 18 jul. 2012.

SAAD, C. G. S. *et al.* Immunogenicity and safety of the 2009 non-adjuvanted influenza A/H1N1 vaccine in a large cohort of autoimmune rheumatic diseases. *Annals of the rheumatic diseases*, PMID: 21540203, v. 70, n. 6, p. 1068–1073, jun. 2011. Acesso em: 18 jul. 2012.

SANTINI-OLIVEIRA, M. *et al.* H1N1pdm09 adjuvanted vaccination in HIV-infected adults: a randomized trial of two single versus two double doses. *PloS one*, PMID: 22761759, v. 7, n. 6, p. e39310, 2012.

SCHILD, G.; OXFORD, J.; VIRELIZIER, J. Immunity to influenza. *Dev Biol Stand*, v. 28, p. 253–72, 1975.

SCHOUT, D. *et al.* Epidemiology of human infection with the novel virus influenza A (H1N1) in the Hospital das Clínicas, São Paulo, Brazil--June-September 2009. *Clinics (Sao Paulo)*, 10, v. 64, p. 1025–30, 2009.

SECRETARIA DE VIGILÂNCIA EM SAÚDE - MINISTÉRIO DA SAÚDE. *Boletim eletrônico EPIDEMIOLOGICO: CADERNO ESPECIAL INFLUENZA, Influenza Pandêmica (H1N1) 2009 – Análise da situação epi demiológica e da resposta no ano de 2009.* . [S.l: s.n.]. Disponível em: <http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/boletim_eletronico_influenza_25_03.pdf>. , 10 mar. 2010

Seroepidemiological studies of pandemic influenza A (H1N1) 2009 virus. *Wkly Epidemiol Rec*, 24, v. 85, p. 229–35, 2010.

SHETH, A. N.; ALTHOFF, K. N.; BROOKS, J. T. Influenza susceptibility, severity, and shedding in HIV-infected adults: a review of the literature. *Clinical Infectious Diseases: An*

Official Publication of the Infectious Diseases Society of America, PMID: 21288848, v. 52, n. 2, p. 219–227, 15 jan. 2011. Acesso em: 25 fev. 2012.

SIMONSEN, L. *et al.* Pandemic versus epidemic influenza mortality: a pattern of changing age distribution. *J Infect Dis*, 1, v. 178, p. 53–60, 1998.

SOESMAN, N. *et al.* Efficacy of influenza vaccination in adult liver transplant recipients. *J Med Virol*, 1, v. 61, p. 85–93, 2000.

SOONAWALA, D. *et al.* Response to 2009 pandemic influenza A (H1N1) vaccine in HIV-infected patients and the influence of prior seasonal influenza vaccination. *PloS one*, PMID: 21304982, v. 6, n. 1, p. e16496, 2011. Acesso em: 7 jun. 2012.

STEPHENSON, I. *et al.* Reproducibility of Serologic Assays for Influenza Virus A (H5N1). *Emerging Infectious Diseases*, PMID: 19751587/PMCID: 2815968, v. 15, n. 8, p. 1250–1259, ago. 2009.

SUN, F. *et al.* Responses after one dose of a monovalent influenza A (H1N1) 2009 inactivated vaccine in Chinese population--a practical observation. *Vaccine*, PMID: 21767595, v. 29, n. 38, p. 6527–6531, 2 set. 2011. Acesso em: 18 jul. 2012.

TAKAHASHI, Y. Memory B cells in systemic and mucosal immune response: implications for successful vaccination. *Biosci Biotechnol Biochem*, 10, v. 71, p. 2358–66, 2007.

TALAAT, K. R. *et al.* A single dose of unadjuvanted novel 2009 H1N1 vaccine is immunogenic and well tolerated in young and elderly adults. *The Journal of infectious diseases*, PMID: 20874515, v. 202, n. 9, p. 1327–1337, 1 nov. 2010. Acesso em: 18 jul. 2012.

TAMURA, S.; KURATA, T. Defense mechanisms against influenza virus infection in the respiratory tract mucosa. *Jpn J Infect Dis*, 6, v. 57, p. 236–47, 2004.

TANDALE, B. V. *et al.* Seroepidemiology of pandemic influenza A (H1N1) 2009 virus infections in Pune, India. *BMC infectious diseases*, PMID: 20738878, v. 10, p. 255, 2010. Acesso em: 18 jul. 2012.

TAUBENBERGER, J.; MORENS, D. Influenza: the once and future pandemic. *Public Health Rep*, v. 125 Suppl 3, p. 16–26, 2010.

TEBAS, P. *et al.* Poor immunogenicity of the H1N1 2009 vaccine in well controlled HIV-infected individuals. *AIDS*, 14, v. 24, p. 2187–92, 2010.

THURN, J.; HENRY, K. Influenza A pneumonitis in a patient infected with the human immunodeficiency virus (HIV). *Chest*, 4, v. 95, p. 807–10, 1989.

TIAN, L. *et al.* Serologic survey of pandemic influenza A (H1N1 2009) in Beijing, China. *Preventive Medicine*, PMID: 21047527, v. 52, n. 1, p. 71–74, jan. 2011. Acesso em: 24 fev. 2012.

TIU, C. T. *et al.* Antibody response to inactivated influenza A (H1N1) 2009 monovalent vaccine in patients with and without HIV. *Journal of Acquired Immune Deficiency Syndromes (1999)*, PMID: 22005003, v. 58, n. 3, p. e99–102, 1 nov. 2011. Acesso em: 25 fev. 2012.

TRAUER, J. M. *et al.* Seroepidemiologic effects of influenza A(H1N1)pdm09 in Australia, New Zealand, and Singapore. *Emerging infectious diseases*, PMID: 23260059, v. 19, n. 1, p. 92–101, jan. 2013.

TREANOR, J. J. Influenza Virus. In: *Mandell GL, Bennett JE, Dolin R, editor. Mandell, Douglas, and Bennett's principles and practice of infectious diseases*. 6th ed ed. Philadelphia, Pennsylvania: [s.n.], 2005. v. 2. p. 2060–2085.

TREMBLAY, C. L. *et al.* Immunogenicity and tolerability of an inactivated and adjuvanted pandemic H1N1 influenza vaccine, in HIV-1-infected patients. *Vaccine*, PMID: 21185423, v. 29, n. 7, p. 1359–1363, 4 fev. 2011. Acesso em: 7 jun. 2012.

TRIFONOV, V.; KHIABANIAN, H.; RABADAN, R. Geographic dependence, surveillance, and origins of the 2009 influenza A (H1N1) virus. *The New England journal of medicine*, PMID: 19474418, v. 361, n. 2, p. 115–119, 9 jul. 2009.

TSAI, T. *et al.* Regional and age-specific patterns of pandemic H1N1 influenza virus seroprevalence inferred from vaccine clinical trials, August-October 2009. *Euro Surveill*, 30, v. 15, 2010.

VAJO, Z. *et al.* Safety and immunogenicity of a 2009 pandemic influenza A H1N1 vaccine when administered alone or simultaneously with the seasonal influenza vaccine for the 2009-10 influenza season: a multicentre, randomised controlled trial. *Lancet*, 9708, v. 375, p. 49–55, 2010.

VEGUILLA, V. *et al.* Sensitivity and specificity of serologic assays for detection of human infection with 2009 pandemic H1N1 virus in U.S. populations. *Journal of clinical microbiology*, PMID: 21471339, v. 49, n. 6, p. 2210–2215, jun. 2011. Acesso em: 8 jun. 2012.

VELLOZZI, C. *et al.* Adverse events following influenza A (H1N1) 2009 monovalent vaccines reported to the Vaccine Adverse Event Reporting System, United States, October 1, 2009-January 31, 2010. *Vaccine*, 2010. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=20850534>.

VENKATA, C.; SAMPATHKUMAR, P.; AFESSA, B. Hospitalized patients with 2009 H1N1 influenza infection: the Mayo Clinic experience. *Mayo Clin Proc*, 9, v. 85, p. 798–805, 2010.

VIASUS, D. *et al.* Factors associated with severe disease in hospitalized adults with pandemic (H1N1) 2009 in Spain. *Clinical microbiology and infection: the official publication of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*, PMID: 20825436, v. 17, n. 5, p. 738–746, maio 2011.

VIRELIZIER, J. Host defenses against influenza virus: the role of anti-hemagglutinin antibody. *J Immunol*, 2, v. 115, p. 434–9, 1975.

WAALEN, K. *et al.* High prevalence of antibodies to the 2009 pandemic influenza A(H1N1) virus in the Norwegian population following a major epidemic and a large vaccination campaign in autumn 2009. *Euro surveillance: bulletin européen sur les maladies transmissibles = European communicable disease bulletin*, PMID: 20738992, v. 15, n. 31, 2010.

WAHLGREN, J. Influenza A viruses: an ecology review. *Infection ecology & epidemiology*, PMID: 22957113, v. 1, 2011.

WHO. WHO | World now at the start of 2009 influenza pandemic. Disponível em: <http://www.who.int/mediacentre/news/statements/2009/h1n1_pandemic_phase6_20090611/en/>. Acesso em: 27 jan. 2013.

WOOD, J. M.; ROBERTSON, J. S. Reference viruses for seasonal and pandemic influenza vaccine preparation. *Influenza and Other Respiratory Viruses*, v. 1, n. 1, p. 5–9, 2007. Acesso em: 11 ago. 2013.

WORLD. *Chronology of Influenza A (H1N1)*. Disponível em: <[http://www.searo.who.int/LinkFiles/Influenza_A\(H1N1\)_Chronology_of_Influenza_A\(H1N1\).pdf](http://www.searo.who.int/LinkFiles/Influenza_A(H1N1)_Chronology_of_Influenza_A(H1N1).pdf)>.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. Manual for the laboratory diagnosis and virological surveillance of influenza. p. 153, 2011.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. *WHO | Influenza (Seasonal)*. Disponível em: <<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs211/en/>>. Acesso em: 31 out. 2013.

WRIGHT, P.; DOLIN, R.; LA MONTAGNE, J. From the National Institute of Allergy and Infectious Diseases of the National Institutes of Health, the Center for Disease Control, and the Bureau of Biologics of the Food and Drug Administration. Summary of clinical trials of influenza vaccines--II. *J Infect Dis*, 6, v. 134, p. 633–8, 1976.

WRIGHT, P. F.; NEUMANN, G.; KAWAOKA, Y. Orthomyxoviruses. In: *Knipe DM, Howley PM; editors-in-chief. Griffin DE et al, associated editor. Fields virology*. 5th ed. ed. Philadelphia, PA: [s.n.], 2007. v. 2. p. 1692–1740.

WU, J. *et al.* A rapid immune response to 2009 influenza A(H1N1) vaccines in adults: a randomized, double-blind, controlled trial. *The Journal of infectious diseases*, PMID: 20632888, v. 202, n. 5, p. 675–680, 1 set. 2010. Acesso em: 18 jul. 2012.

XU, C. *et al.* The seroprevalence of pandemic influenza H1N1 (2009) virus in China. *PloS one*, PMID: 21533034, v. 6, n. 4, p. e17919, 2011. Acesso em: 18 jul. 2012.

YANAGISAWA, N. *et al.* Reduced immune response to influenza A (H1N1) 2009 monovalent vaccine in HIV-infected Japanese subjects. *Vaccine*, PMID: 21689709, v. 29, n. 34, p. 5694–5698, 5 ago. 2011. Acesso em: 7 jun. 2012.

YANG, P. *et al.* Serological surveillance of 2009 H1N1 influenza in China. *International Journal of Infectious Diseases*, v. 15, n. 2, p. e151–e152, fev. 2011. Acesso em: 24 fev. 2012.

ZAMBON, M. *et al.* Diagnosis of influenza in the community: relationship of clinical diagnosis to confirmed virological, serologic, or molecular detection of influenza. *Arch Intern Med*, 17, v. 161, p. 2116–22, 2001.

ZHANG, X. *et al.* Serologic survey of the pandemic H1N1 2009 virus in Guangdong Province, China: a cross sectional study. *PloS one*, PMID: 21853064, v. 6, n. 8, p. e23034, 2011. Acesso em: 8 jun. 2012.

ZHU, F. *et al.* A novel influenza A (H1N1) vaccine in various age groups. *N Engl J Med*, 25, v. 361, p. 2414–23, 2009.

ZIMMER, S. *et al.* Seroprevalence following the second wave of Pandemic 2009 H1N1 influenza in Pittsburgh, PA, USA. *PLoS One*, 7, v. 5, p. e11601, 2010.

ANEXO I - Procedimento Operacional Padrão do Laboratório de Vírus Respiratórios e Sarampo da Fiocruz para realização da Inibição de Hemaglutinação



Ministério da Saúde
Fundação Oswaldo Cruz - Instituto Oswaldo Cruz
Laboratório de Vírus Respiratórios e do Sarampo
Laboratório de Referência Nacional para Influenza e Doenças Exantemáticas
Laboratório de Referência Regional para Sarampo e Centro Nacional de Referência para Influenza - OMS

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

TÍTULO

REAÇÃO DE INIBIÇÃO DA HEMAGLUTINAÇÃO

SUMÁRIO

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

ELABORADO MURILO KRANCZUK	VERIFICADO THIAGO MORENO	APROVADO MARILDA SOUZA	DATA 14/03/2010
------------------------------	-----------------------------	---------------------------	--------------------



Ministério da Saúde
Fundação Oswaldo Cruz - Instituto Oswaldo Cruz
Laboratório de Vírus Respiratórios e do Sarampo
Laboratório de Referência Nacional para Influenza e Doenças Exantemáticas
Laboratório de Referência Regional para Sarampo e Centro Nacional de
Referência para Influenza - OMS

CATEGORIA	REVISÃO	PÁGINA	CÓDIGO
POP técnico	01	2/12	POP-LVRS-TVR-009

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



Ministério da Saúde
Fundação Oswaldo Cruz - Instituto Oswaldo Cruz
Laboratório de Vírus Respiratórios e do Sarampo
Laboratório de Referência Nacional para Influenza e Doenças Exantemáticas
Laboratório de Referência Regional para Sarampo e Centro Nacional de
Referência para Influenza - OMS

CATEGORIA POP técnico	REVISÃO 01	PÁGINA 3/12	CÓDIGO POP-LVRS-TVR-009
--------------------------	---------------	----------------	----------------------------

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. 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



Ministério da Saúde
Fundação Oswaldo Cruz - Instituto Oswaldo Cruz
Laboratório de Vírus Respiratórios e do Sarampo
Laboratório de Referência Nacional para Influenza e Doenças Exantemáticas
Laboratório de Referência Regional para Sarampo e Centro Nacional de
Referência para Influenza - OMS

CATEGORIA POP técnico	REVISÃO 01	PÁGINA 4/12	CÓDIGO POP-LVRS-TVR-009
--------------------------	---------------	----------------	----------------------------

TÍTULO

REAÇÃO DE INIBIÇÃO DA HEMAGLUTINAÇÃO

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

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 ponteiros 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;
8.5. Solução de PBS, 0,01M, pH 7.3 ± 0.1;



Ministério da Saúde
Fundação Oswaldo Cruz - Instituto Oswaldo Cruz
Laboratório de Vírus Respiratórios e do Sarampo
Laboratório de Referência Nacional para Influenza e Doenças Exantemáticas
Laboratório de Referência Regional para Sarampo e Centro Nacional de
Referência para Influenza - OMS

CATEGORIA	REVISÃO	PÁGINA	CÓDIGO
POP tecnico	01	5/12	POP-LVRS-TVR-009
TÍTULO REAÇÃO DE INIBIÇÃO DA HEMAGLUTINAÇÃO			

- 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.



Ministério da Saúde
Fundação Oswaldo Cruz - Instituto Oswaldo Cruz
Laboratório de Virus Respiratórios e do Sarampo
Laboratório de Referência Nacional para Influenza e Doenças Exantemáticas
Laboratório de Referência Regional para Sarampo e Centro Nacional de
Referência para Influenza - OMS

CATEGORIA	REVISÃO	PÁGINA	CÓDIGO
POP técnico	01	6/12	POP-LVRS-TVR-009
TÍTULO REAÇÃO DE INIBIÇÃO DA HEMAGLUTINAÇÃO			

9. PROCEDIMENTO

9.1. Preparação de Hemácias

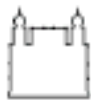
- 9.1.1. Tomar RBCs em solução de Alsever e passa-las (45ml) por um filtro de gaze;
- 9.1.2. Centrifugar a 1.200 RPM (~300 x g) por 5 min. (~500 x g para RBC de cobaio);
- 9.1.3. Retirar a solução de Alsever (sobrenadante), adicionar PBS 1X (50mL), misturar gentilmente e centrifugar conforme no item 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	REVISÃO	PÁGINA	CÓDIGO
POP técnico	01	7/12	POP-LVRS-TVR-009
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



Ministério da Saúde
Fundação Oswaldo Cruz - Instituto Oswaldo Cruz
Laboratório de Vírus Respiratórios e do Sarampo
Laboratório de Referência Nacional para Influenza e Doenças Exantemáticas
Laboratório de Referência Regional para Sarampo e Centro Nacional de
Referência para Influenza - OMS

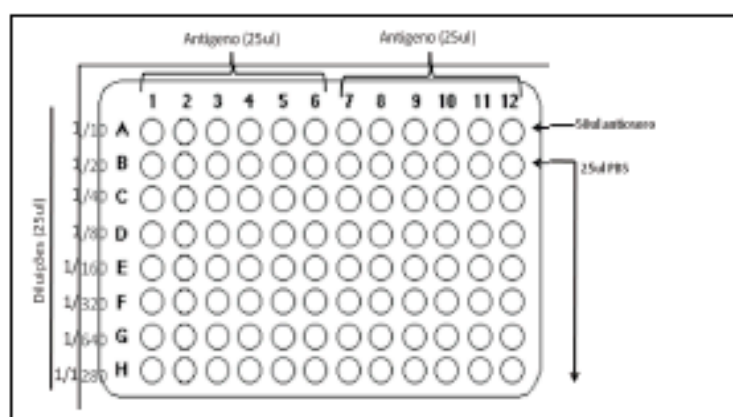
CATEGORIA POP técnico	REVISÃO 01	PÁGINA 8/12	CÓDIGO POP-LVRS-TVR-009
--------------------------	---------------	----------------	----------------------------

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	REVISÃO	PÁGINA	CÓDIGO
POP técnico	01	9/12	POP-LVRS-TVR-009
TÍTULO REAÇÃO DE INIBIÇÃO DA HEMAGLUTINAÇÃO			

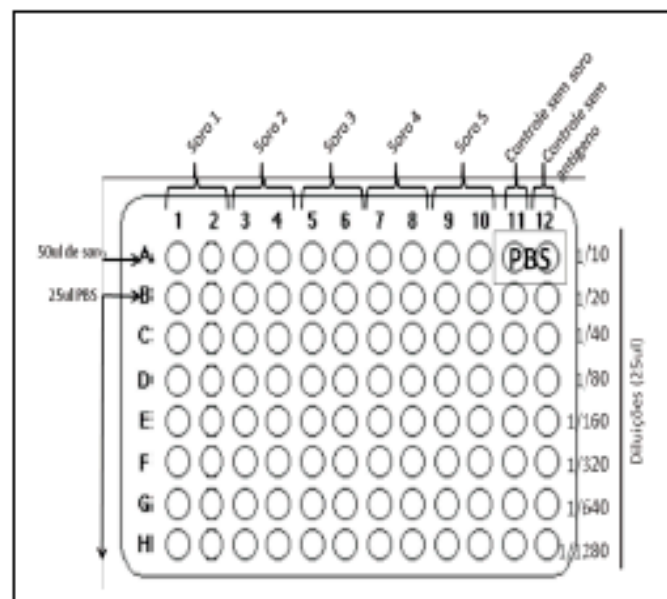
- 9.6.3. Adicione 50uL dos soros a serem estudados linha A em duplicada, excluindo-se os poços A11 e A12. Estes devem receber 50ul de PBS, conforme desenho esquemático no item 9.6.14;
- 9.6.4. Faça a diluição seriada de base 2 destes antisoros ao transferir 25uL dos poços da linha A para B e assim sucessivamente;
- 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.



Ministério da Saúde
Fundação Oswaldo Cruz - Instituto Oswaldo Cruz
Laboratório de Virus Respiratórios e do Sarampo
Laboratório de Referência Nacional para Influenza e Doenças Exantemáticas
Laboratório de Referência Regional para Sarampo e Centro Nacional de
Referência para Influenza - OMS

CATEGORIA	REVISÃO	PÁGINA	CÓDIGO
POP técnico	01	10/12	POP-LVRS-TVR-009

TÍTULO
REAÇÃO DE INIBIÇÃO DA HEMAGLUTINAÇÃO



10. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 10.1. Vigilância de las Enfermedades 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.



Ministério da Saúde
Fundação Oswaldo Cruz - Instituto Oswaldo Cruz
Laboratório de Virus Respiratórios e do Sarampo
Laboratório de Referência Nacional para Influenza e Doenças Exantemáticas
Laboratório de Referência Regional para Sarampo e Centro Nacional de
Referência para Influenza - OMS

CATEGORIA POP técnico	REVISÃO 01	PÁGINA 11/12	CÓDIGO POP-LVRS-TVR-009
TÍTULO REAÇÃO DE INIBIÇÃO DA HEMAGLUTINAÇÃO			

11. HISTÓRICO DA ÚLTIMA REVISÃO

Data	Rev. N°	Resumo das Alterações
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

ANEXO II – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido



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 sobre 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 têm 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 mm³. 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 mm³;
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^3 e outras 180 com CD4 maior que 200 células por mm^3 .

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 $\text{CD4} \leq 200 \text{ cels/mm}^3$ a com $\text{CD4} > 200 \text{ cels/mm}^3$ 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 DESTE 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;

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

- 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 Guillain-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 desta pesquisa 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 desta pesquisa não utilizará seu nome ou o identificará pessoalmente.

QUAIS SERÃO OS SEUS CUSTOS?

Os procedimentos e exames exigidos para a pesquisa serão feitos sem nenhum custo para você.

VOCÊ RECEBERÁ ALGUM PAGAMENTO?

Não. Você não receberá nenhum pagamento por estar participando desta pesquisa.

QUAIS SÃO OS SEUS DIREITOS COMO VOLUNTÁRIO DA PESQUISA?

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

PARA QUEM LIGAR EM CASO DE DÚVIDAS OU PROBLEMAS?

Para questões sobre esta pesquisa 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) 2270-7084

Para emergências médicas, durante finais de semana, feriados e noites, entre em contato com um plantonista do IPEC, no telefone 39885-9595.

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) 3985-9585.

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

Anexo III – Aprovação do CEP



Ministério da Saúde
FUNDECruz
Fundação Oswaldo Cruz
Instituto de Pesquisas Clínicas Evandro Chagas



Rio de Janeiro, 13 de março de 2012.

DECLARAÇÃO

O projeto "Soroprevalência de anticorpos contra o vírus pandêmico Influenza A/California/04/2009 (H1N1) em pacientes com HIV/AIDS", dissertação de mestrado de Ana Cristina Garcia Ferreira, orientada pela Dra. Beatriz Grinsztejn, submetido a este Comitê em 29/11/2011, trata-se de um subprojeto do projeto "Estudo de Fase II para avaliar a segurança e a imunogenicidade da vacina anti H1N1 em pacientes infectados pelo HIV", aprovado por este Comitê em 08/03/2010, CAAE 0009.0.009.000-10, Parecer 010/2010, coordenado pela Dra. Marília Santini de Oliveira.

Declaramos que este Comitê o apreciou e o aprova na presente data.

Atenciosamente,

Dr. Carlos Augusto de
Oliveira
Presidente do Comitê
de Ética em Pesquisa
13/03/2012