

GABRIELLA MONDINI

Análise da segurança e da imunogenicidade da
vacina influenza sazonal trivalente (fragmentada e
inativada) integralmente produzida pelo Instituto
Butantan em 2013, 2014 e 2015

Dissertação apresentada à Faculdade de
Medicina da Universidade de São Paulo para
obtenção do título de Mestre em Ciências

Programa de Pediatria

Orientador: Prof. Dr. Alexander Roberto Precioso

São Paulo

2018

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Preparada pela Biblioteca da
Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo

©reprodução autorizada pelo autor

Mondini, Gabriella

Análise da segurança e da imunogenicidade da
vacina influenza sazonal trivalente (fragmentada e
inativada) integralmente produzida pelo Instituto
Butantan em 2013, 2014 e 2015 / Gabriella Mondini. -
- São Paulo, 2018.

Dissertação(mestrado)--Faculdade de Medicina da
Universidade de São Paulo.

Programa de Pediatria.

Orientador: Alexander Roberto Precioso.

Descritores: 1.Vacina contra influenza sazonal
2.Imunogenicidade da vacina 3.Segurança da vacina
4.Estudos de coortes 5.Adulto 6.Idoso

USP/FM/DBD-160/18

Responsável: Kátia Maria Bruno Ferreira - CRB-8/6008

Dedicatória

Aos meus pais, Paulo (in memoriam) e Irani
que me ensinaram que a humildade é a
maior virtude que devemos ansiar.

Agradecimentos

Agradeço ao meu orientador, Prof. Dr. Alexander Roberto Precioso, por toda sua dedicação e empenho na conclusão deste trabalho. Sem sua visão e envolvimento, esta etapa não teria se concretizado.

Ao Instituto Butantan pelo custeio dos estudos e aos meus colegas da Divisão de Ensaios Clínicos e Farmacovigilância pela parceria e apoio.

Ao Centro de Referência para Imunobiológicos Especiais e Centro de Pesquisas do Instituto da Criança do HCFMUSP que, por suas equipes, executaram os protocolos com toda dedicação e a todos os voluntários que concordaram em participar dos estudos.

Em especial, à Dra. Patrícia Emília Braga e Joane do Prado Santos por acreditarem em mim mais do que eu mesma e à Ana Paula Batista, por sua compreensão e companheirismo. À Vera Lúcia Gattás por investir nesta recém-formada, há 9 anos, me dando a oportunidade de ser a profissional que sou hoje.

Aos meus irmãos e sobrinhos que torceram por mim e me fortaleceram dia-a-dia. Em particular, à minha mãe que, mesmo com sua pouca instrução, seu jeito singular e sem entender os meandros da academia, me deu suporte.

Às amigas Mara, Kate e Fernanda, que me incentivaram sempre. Ao Grupo Impacto que compreendeu e apoiou minha ausência, se colocando na brecha por mim.

Ao Autor e consumidor da vida, que têm um propósito e ensinamento para tudo que vivemos.

Esta tese está de acordo com as seguintes normas, em vigor no momento desta publicação:

Referências: adaptado de *International Committee of Medical Journals Editors* (Vancouver).

Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina. Divisão de Biblioteca e Documentação. *Guia de apresentações de dissertações, teses e monografias*. Elaborado por Anneliese Carneiro da Cunha, Mria Julia de A.L.Freddi, Maria F. Crestana, Marinalva de Souza Aragão, Suely Campos Cardoso, Valéria Vilhena, 3ª ed. São Pualo: Divisão de Biblioteca e Documentação; 2011

Abreviaturas dos títulos dos periódicos de acordo com *List of Journals Indexed in Index Medicus*.

Sumário

Lista de Abreviaturas

Lista de Figuras

Lista de Quadros

Lista de Tabelas

Resumo

Abstract

1	INTRODUÇÃO	1
1.1	Agente etiológico da gripe	1
1.2	Vigilância epidemiológica dos vírus influenza.....	5
1.3	Vacinas de influenza.....	12
1.4	Vacinação contra os vírus influenza	13
1.5	Desenvolvimento da vacina influenza sazonal trivalente (fragmentada e inativada) do Instituto Butantan, São Paulo – Brasil.....	14
1.6	Estudos clínicos de vacina influenza trivalente sazonal (fragmentada e inativada).....	21
2	JUSTIFICATIVA	23
3	HIPÓTESE DO ESTUDO.....	24
4	OBJETIVOS.....	25
4.1	Objetivo geral.....	25
4.2	Objetivos Específicos	25
5	MÉTODOS.....	26
5.1	Desenho dos estudos	26
5.2	Locais dos estudos	26
5.3	Períodos dos estudos	26
5.4	População dos estudos	27
5.5	Procedimentos dos estudos	29
5.6	Desfechos do estudo	31
5.7	Tamanho amostral.....	39
5.8	Análise estatística.....	39
5.9	Aspectos Éticos	41

6	RESULTADOS.....	42
6.1	Períodos dos estudos	42
6.2	Descrição da população dos estudos	42
6.3	Dados de Segurança	46
6.4	Dados de Imunogenicidade	52
7	DISCUSSÃO DOS RESULTADOS	63
8	CONCLUSÃO	69
9	PERSPECTIVAS FUTURAS.....	70
9.1	Vacina influenza sazonal (inativada e particulada) quadrivalente	70
9.2	Programas de desenvolvimento de adjuvantes	70
10	ANEXOS	71
10.1	Anexo A - Cartão do Participante estudos 2013, 2014 e 2015	71
10.2	Anexo B - TCLE estudo 2013	72
10.3	Anexo C – TCLE estudo 2014	78
10.4	Anexo D – TCLE estudo 2015	81
11	REFERÊNCIAS.....	90

Lista de Abreviaturas

ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
BPP	Boas Práticas de Produção
CAPPesq	Comissão de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa
CDC	<i>Centers for Disease Control and Prevention</i> ou Centro de Controle e Prevenção de Doenças
CID-10	Classificação Internacional de Doenças e Problemas Relacionados à Saúde
CRF	<i>Case Report Form</i>
CRIE	Centro de Referência de Imunobiológicos Especiais
Dp	Desvio padrão
EA	Evento adverso
EMA	<i>European Medicines Agency</i> ou Agência Europeia de Medicamentos
EUA	Estados Unidos da América
Fiocruz	Fundação Oswaldo Cruz
GISN	<i>Global Influenza Surveillance Network</i>
GISRS	<i>Global Influenza Surveillance and Response System</i>
HÁ	Hemaglutinina
HIV	<i>Human Immunodeficiency Virus</i>
HRS	Hemólise radial simples
IAL	Instituto Adolfo Lutz
IB	Instituto Butantan
IC	Intervalo de Confiança
IEC	Instituto Evandro Chagas
IF	<i>Immunofluorescence</i>
IH	Inibidores da hemaglutinação
IM	Intramuscular
ITI	Vacina influenza trivalente inativada
LACEN	Laboratórios Centrais de Saúde Pública
LAIV	<i>Live attenuated intranasal vaccine</i>
LRN	Laboratórios de Referência Nacional

LRR	Laboratórios de Referência Regional
MN	Microneutralização
MS	Ministério da Saúde
N	Neuraminidase
OMS	Organização Mundial da Saúde
PASNI	Programa Brasileiro de Autossuficiência em Imunobiológicos
PCR	<i>Polymerase chain reaction</i>
PNI	Programa Nacional de Imunizações
QIV	<i>Quadrivalent inactivated vaccine</i> ou vacina influenza quadrivalente
RA	Reação adversa
RBC	<i>Red Blood Cell Count</i>
RMGT	Razão média geométrica dos títulos
RNA	Ácido ribonucleico
SES/SP	Secretaria de Estado da Saúde de São Paulo
SC	Soroconversão
SG	Síndrome Gripal
SIH	Sistema de Informações Hospitalares
SIM	Sistema de Informações de Mortalidade
SIVEP-Gripe	Sistema de Informação da Vigilância Epidemiológica da Gripe
SP	Soroproteção
SRAG	Síndrome Respiratória Aguda Grave
SUS	Sistema Único de Saúde
SVS	Secretaria de Vigilância em Saúde
TCLE	Termo de Consentimento Livre e Esclarecido
TIV	<i>Trivalente inactivated vaccine</i>
WHO	<i>World Health Organization</i> ou Organização Mundial da Saúde

Lista de Figuras

Figura 1 - Vírus Influenza: variações antigênicas menores ou “antigenic drift” e variações antigênicas maiores ou “antigenic shift”.....	3
Figura 2 - Potenciais hospedeiros do vírus influenza.	4
Figura 3 - Ações da Rede de Vigilância Global da Influenza (Global Influenza Surveillance Network – GISN).....	6
Figura 4 - Localização dos Laboratórios Nacionais de Influenza no Brasil e Unidades Federativas associadas aos mesmos.	7
Figura 5 - Organograma Operacional de processamento de amostras clínicas coletadas de pacientes com síndrome gripal.	10
Figura 6 - Fluxo de encaminhamento de informação e de amostras virais do Brasil para o CDC-Atlanta e OMS. ^e	10
Figura 7 - Etapas de produção da vacina influenza trivalente (fragmentada e inativada) produzida pelo Instituto Butantan.....	18
Figura 8 - Número de participantes incluídos na análise de segurança e de imunogenicidade segundo ano de vacinação e grupo etário	44

Lista de Quadros

Quadro 1 - Parâmetros imunológicos aceitáveis de imunogenicidade para vacina influenza sazonal (fragmentada e inativada), em adultos e idosos..... 21

Quadro 2 - Classificação de intensidade dos eventos adversos clínicos solicitados..... 33

Quadro 3 - Classificação de intensidade dos eventos adversos clínicos não solicitados..... 34

Quadro 4 - Classificação de causalidade dos eventos adversos clínicos..... 35

Lista de Tabelas

Tabela 1 - Características sócio demográficas dos participantes segundo ano de vacinação e grupo etário	43
Tabela 2 - Reações adversas segundo ano de estudo e grupo etário	47
Tabela 3 - Distribuição das reações adversas solicitadas e não solicitadas segundo ano de vacinação e grupo etário	48
Tabela 4 - Resultados dos títulos de anticorpos inibidores da hemaglutinação (IH) pré e pós-vacinação do estudo de 2013	53
Tabela 5 - Resultados dos títulos de anticorpos inibidores da hemaglutinação (IH) pré e pós-vacinação do estudo de 2014	55
Tabela 6 - Resultados dos títulos de anticorpos inibidores da hemaglutinação (IH) pré e pós-vacinação do estudo de 2015	57
Tabela 7 - Razão da média geométrica dos títulos de anticorpos inibidores da hemaglutinação (IH) e porcentagem de soroconversão pós vacinação segundo ano de estudo e resultado pré-vacinação	58

Resumo

Mondini G. *Análise da segurança e da imunogenicidade da vacina influenza sazonal trivalente (fragmentada e inativada) integralmente produzida pelo Instituto Butantan em 2013, 2014 e 2015* [dissertação]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 2018.

INTRODUÇÃO: A vacinação anual é recomendada como a medida mais efetiva contra a influenza sazonal. O Instituto Butantan (IB) realizou, anualmente, estudos clínicos das vacinas influenza sazonais trivalentes (fragmentada e inativada), produzidas em 2013, 2014 e 2015. **MÉTODOS:** Estudos de coorte prospectivos para descrever a imunogenicidade e a segurança da vacina influenza produzida pelo IB nos anos de 2013, 2014 e 2015 em participantes adultos saudáveis e idosos. Após assinatura do TCLE os participantes foram submetidos à coleta de sangue e receberam uma dose da vacina. Nos dias 1, 2 e 3 após a vacinação foram contatados para avaliação da segurança (reações adversas solicitadas locais e sistêmicas e não solicitadas). No dia 21(+7) pós-vacinação retornaram ao centro de pesquisa para nova checagem da segurança e para a coleta de sangue para a avaliação da imunogenicidade pós-vacinação. As análises de imunogenicidade foram feitas através do método inibição de hemaglutinação (IH). Os desfechos de imunogenicidade foram: porcentagem de soroconversão (SC), porcentagem de soroproteção (SP) e razão da média geométrica dos títulos (RMGT) de anticorpos inibidores da hemaglutinação. O estudo de 2013 foi conduzido no Centro de Referência para Imunobiológicos Especiais (CRIE) e no Centro de Pesquisa Clínica do Instituto da Criança, Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, os estudos de 2014 e 2015 foram realizados apenas no CRIE. As composições das vacinas utilizadas nos estudos em 2013, 2014 e 2015 seguiram as recomendações da OMS para vacina influenza sazonal do hemisfério sul. **RESULTADOS:** No ano de 2013, foram incluídos no estudo 47 adultos e 13 idosos, em 2014, 60 adultos e 60 idosos e em 2015, 62 adultos e 57 idosos. Nos estudos de 2013, 2014 e 2015, dor foi a reação adversa local mais frequente e cefaleia a sistêmica mais relatada. Todas as reações adversas observadas foram classificadas como leves ou moderadas e nenhuma como grave. Porcentagens de SP >70% e >60% foram demonstradas para adultos e idosos, respectivamente, para os três vírus vacinais, nos estudos de 2013, 2014 e 2015. Porcentagem de SC >40% foi demonstrada para os adultos, para os três vírus vacinais, apenas no estudo de 2014 e porcentagem de SC >30% foi demonstrada nos idosos, para os três vírus vacinais, apenas nos estudos de 2013 e 2014. RMGT >2.5 nos adultos para os três vírus vacinais foi demonstrada apenas no estudo de 2013 e RMGT >2 nos idosos, para os três vírus vacinais, foi demonstrada nos estudos de 2013, 2014 e 2015. **CONCLUSÃO:** As vacinas influenza sazonal de 2013, 2014 e 2015, produzidas integralmente pelo Instituto

Butantan, foram seguras e imunogênicas segundo os parâmetros de imunogenicidade definidos pela EMA.

Descritores: vacina contra influenza sazonal; imunogenicidade da vacina; segurança da vacina; estudos de coortes; adulto; idoso.

Abstract

Mondini G. *Safety and immunogenicity of a seasonal trivalent inactivated influenza vaccine produced by Butantan Institute in 2013, 2014 e 2015* [dissertation]. São Paulo: "Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo"; 2018.

INTRODUCTION: Annual vaccination is most effective way to prevent seasonal influenza illness. Instituto Butantan (IB) performed clinical studies with its 2013, 2014 and 2015 seasonal trivalent influenza vaccines (split-virion and inactivated)

METHODS: Prospective cohort studies to describe the safety and immunogenicity of Instituto Butantan influenza vaccine, in healthy adults and elderly, from 2013 to 2015. Soon after the informed consent was signed, participants underwent blood collection followed by vaccination. On study days 1, 2 and 3 post vaccination participants were contacted by the stuffy to evaluate the occurrence of solicited (local and systemic) and non-solicited adverse reactions. On study day 21(+7) subjects returned to the clinical site for final safety assessments and blood collection for the immunogenicity evaluation post vaccination. The immunogenicity analyses were performed by means of haemagglutination inhibition assay (HI). The immunogenicity endpoints were: seroprotection (SPR) and seroconversion (SCR) rates and the geometric mean HI antibody titer ratio (GMTR). The 2013 study The Centro de Referência para Imunobiológicos Especiais (CRIE) and at the Centro de Pesquisa Clínica do Instituto da Criança, Hospital das Clínicas of Medical School of University of São Paulo and the 2014 and 2015 studies were conducted at CRIE. The vaccine composition followed the WHO recommendation for the southern hemisphere seasonal influenza vaccine

RESULTS: 47 healthy adults and 13 elderly participated in the 2013 study, 60 healthy adults and 60 elderly in the 2014 study, and 62 healthy adults and 57 elderly in the 2015 study. In the 2013, 2014 and 2015 studies, pain was the most frequent local adverse reaction and headache the most frequent systemic adverse reaction. All observed adverse reactions were classified as mild or moderate and none as severe. SPR >70% and SPR >60% were observed in adults and elderly, respectively, for the three vaccine viruses, in the 2013, 2014 and 2015 studies. SCR >40% was observed in adults, for the three vaccine viruses, only in the 2014 study and SCR >30% was observed in elderly, for the three vaccine viruses, only in the 2013 and 2014 studies. GMTR >2.5 among adults, for the three vaccine viruses was only observed in the 2013 study and GMTR >2.0 was observed among elderly, for the three vaccine viruses, in the 2013, 2014 and 2015 studies. **CONCLUSION:** The 2013, 2014 and 2015 seasonal influenza vaccines produced by Instituto Butantan were safe and immunogenic according to the immunogenicity criteria defined by EMA.

Descriptors: seasonal influenza vaccine; vaccine immunogenicity, vaccine safety; cohort studies; adult; elderly.

1 INTRODUÇÃO

A influenza ou gripe é uma doença de origem viral de alta transmissibilidade que acomete o trato respiratório de pessoas em qualquer idade e tem distribuição global. Segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS), anualmente, esta doença resulta em 3 a 5 milhões de casos graves e 250.000 a 500.000 óbitos ⁽¹⁾.

A transmissão ocorre por meio de secreções das vias respiratórias da pessoa contaminada ao falar, tossir, espirrar ou pelas mãos. Esta doença apresenta gravidade variável, de quadros leves a casos mais graves, caracterizados por pneumonia e óbito, e pode ser tratada com o uso de drogas antivirais e medidas gerais de suporte, sendo a vacinação anual a melhor forma de prevenção ⁽²⁾.

Os grupos populacionais de maior risco para desenvolver complicações associadas à doença influenza são: idosos maiores de 65 anos, gestantes, portadores de doenças crônicas, imunodeprimidos, crianças menores de 5 anos e profissionais da área da saúde ^(3, 4).

1.1 Agente etiológico da gripe

O agente etiológico da gripe é o *Myxovirus influenzae*, também denominado vírus influenza. Os vírus influenza são partículas envelopadas de RNA de fita simples segmentada e subdividem-se nos tipos A, B e C, sendo que apenas os do tipo A e B têm relevância clínica em humanos ^(5, 6).

Os vírus influenza apresentam alta variabilidade e capacidade de adaptação além de facilidade de transmissão, características estas que os

tornam capazes de causar epidemias anuais recorrentes, eventuais pandemias e de acometer várias faixas etárias num curto intervalo de tempo. Por serem compostos de material genético fragmentado estão sujeitos a altas taxas de mutação durante a replicação, em especial das glicoproteínas de superfície hemaglutinina e neuraminidase. Estas mutações, conseqüentemente, provocam o aparecimento de novas variantes para as quais a população ainda não apresenta imunidade, já que a infecção prévia por determinada cepa confere pouca ou nenhuma proteção contra os vírus de surgimento mais recente ^(5, 6).

As variações antigênicas a que os vírus influenza estão sujeitos são denominadas menores ou “*antigenic drift*” e maiores ou “*antigenic shift*” (Figura 1). As variações antigênicas menores representam mutações pontuais nos segmentos do genoma viral que resultam em mudanças nos aminoácidos que compõem as glicoproteínas de superfície, particularmente na hemaglutinina. Surgem, então, novas variantes virais capazes de escapar da imunidade estimulada por infecção ou vacinação prévias ⁽⁶⁻⁸⁾.

As variações antigênicas maiores são aquelas resultantes da substituição completa de um ou ambos segmentos do genoma viral, que controlam a produção de glicoproteínas de superfície. Essas alterações genômicas se devem ao reagrupamento do material genético viral de origem humana e do material viral genético oriundo de outras espécies animais ⁽⁶⁻⁸⁾.

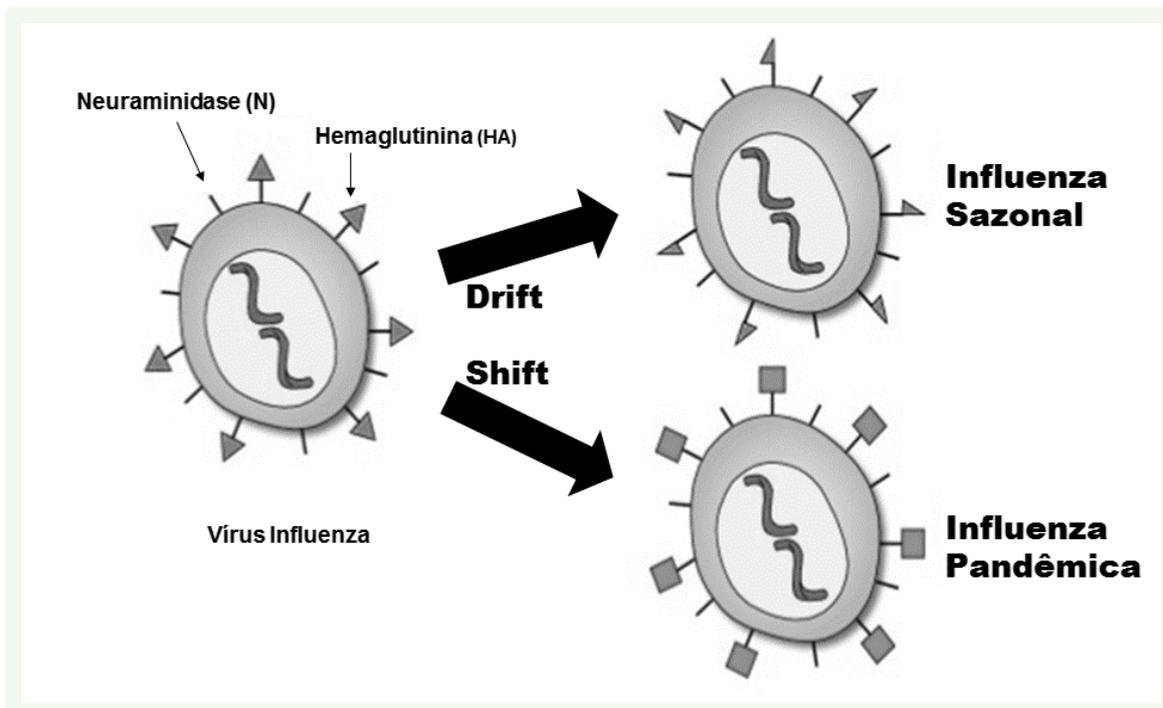


Figura 1 - Vírus Influenza: variações antigênicas menores ou “antigenic drift” e variações antigênicas maiores ou “antigenic shift”.^a

Quando ocorrem grandes variações antigênicas, conhecidas como *antigenic shifts*, a maioria da população não tem imunidade para combater os novos vírus, sendo assim, a doença dissemina-se rapidamente causando epidemia ou pandemia ⁽⁶⁻⁸⁾.

Os vírus influenza A apresentam maior variabilidade e, portanto, são divididos em subtipos de acordo com as diferenças de suas glicoproteínas de superfície, denominadas hemaglutinina (HA) e neuraminidase (N). Existem 15 tipos de hemaglutinina e 9 tipos de neuraminidase identificadas em diferentes espécies animais (Figura 2). Atualmente são conhecidas três hemaglutininas (H1, H2 e H3) e duas neuraminidasas (N1 e N2) presentes nos vírus influenza do tipo A adaptados para infectar seres humanos. O vírus influenza do tipo A,

^aFonte: Hyunsuh K, et al.⁽⁸⁾

por possuir inúmeros reservatórios animais, é o que está mais sujeito às variações antigênicas menores e maiores (5-7, 9).

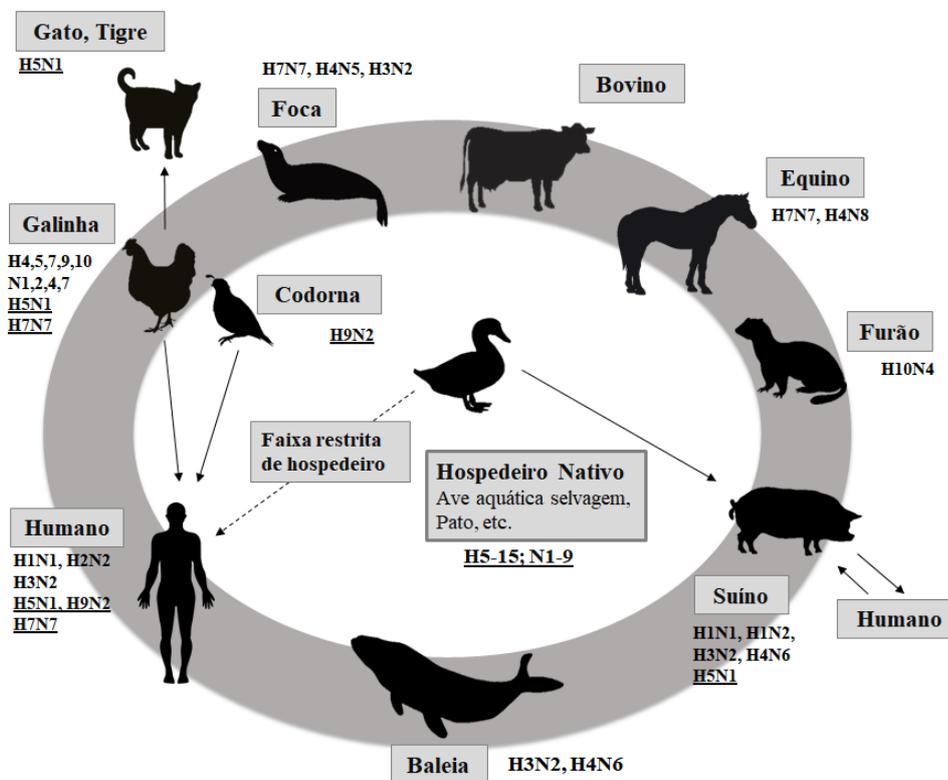


Figura 2 - Potenciais hospedeiros do vírus influenza.^b

O vírus influenza do tipo B apresenta estabilidade antigênica intermediária entre os vírus do tipo A e C, tendo este último se mostrado bastante estável. O vírus do tipo B possui duas linhagens geneticamente distintas: *Yamagata* e *Victoria* (10). Por não apresentarem quantidade considerável de reservatórios animais os vírus influenza dos tipos B e C, que não dispõem de inúmeros reservatórios animais, não têm apresentado grandes variações genéticas (6, 9, 10).

^b Figura construída a partir da referência: Suzuki Y (9).

Em função desses rearranjos constantes no material genético dos vírus ocorrem as epidemias e pandemias. No século XX aconteceram 3 grandes pandemias de influenza: a Gripe Espanhola em 1918-19, a Gripe Asiática em 1957-58 e a Gripe de Hong Kong em 1968-69; e no século XXI, até o momento, ocorreu apenas uma epidemia causada pelo vírus influenza A de origem suína, denominado influenza A H1N1 2009. Esta epidemia foi declarada em 11/06/2009 e o seu fim em 10/08/2010 ⁽⁹⁾.

1.2 Vigilância epidemiológica dos vírus influenza

Em 1952 a OMS estabeleceu o Sistema Global de Vigilância e Resposta da Influenza (Global Influenza Surveillance and Response System – GISRS) que, a partir de 2011, passou a ser denominada Rede de Vigilância Global da Influenza (Global Influenza Surveillance Network – GISN). A GISN monitora a circulação e evolução global dos vírus influenza fornecendo recomendações em relação a diagnóstico laboratorial, vacinas, susceptibilidade antiviral e acesso de risco. Através de suas atividades também atua como um mecanismo de alerta para o surgimento de vírus influenza com potencial de causar pandemia/epidemia ^(11, 12).

Atualmente, a GISN conta com 142 Centros Nacionais de Influenza localizados em 115 países, 6 Centros Colaboradores da OMS (em Londres, Atlanta, Melbourne, Tóquio, Pequim e Memphis), 4 Laboratórios Regulatórios e 13 Laboratórios de Referência para vírus influenza H5 (Figura 3) ^(12, 13, 14). No Brasil, são três os Laboratórios Nacionais de Influenza que contribuem com a OMS: o Instituto Adolfo Lutz (IAL) em São Paulo, a Fundação Oswaldo Cruz

(Fiocruz) no Rio de Janeiro e o Instituto Evandro Chagas (IEC) em Belém (Figura 4) ⁽¹⁵⁾.

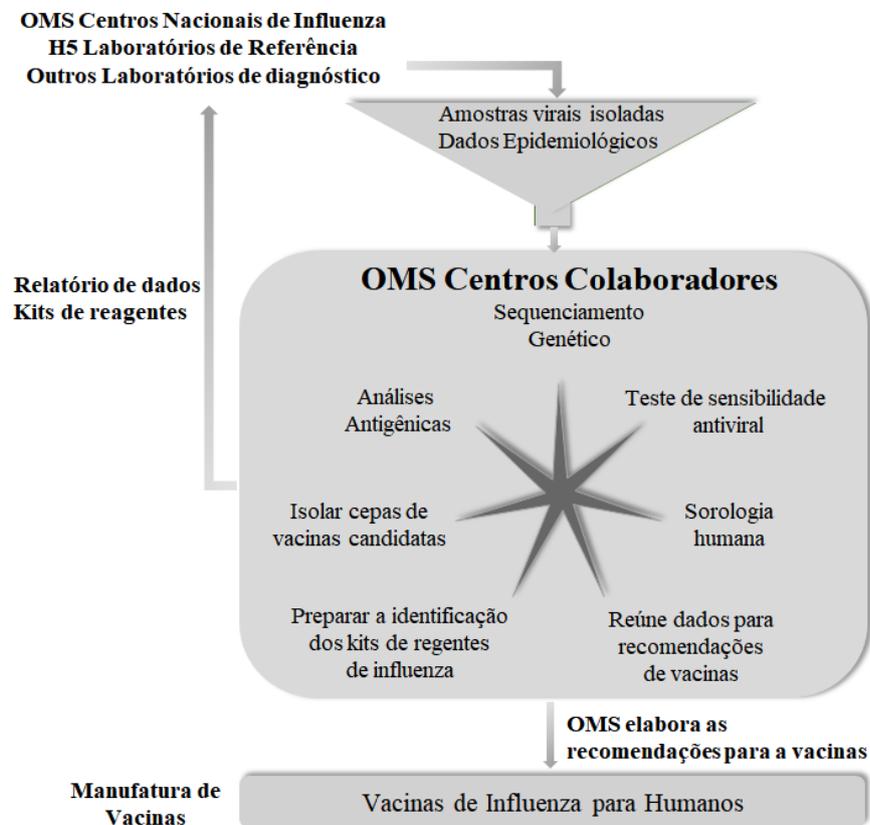


Figura 3 - Ações da Rede de Vigilância Global da Influenza (Global Influenza Surveillance Network – GISN).^c

^c Fonte da figura 3 (tradução): World Health Organization (WHO) ⁽¹⁴⁾.

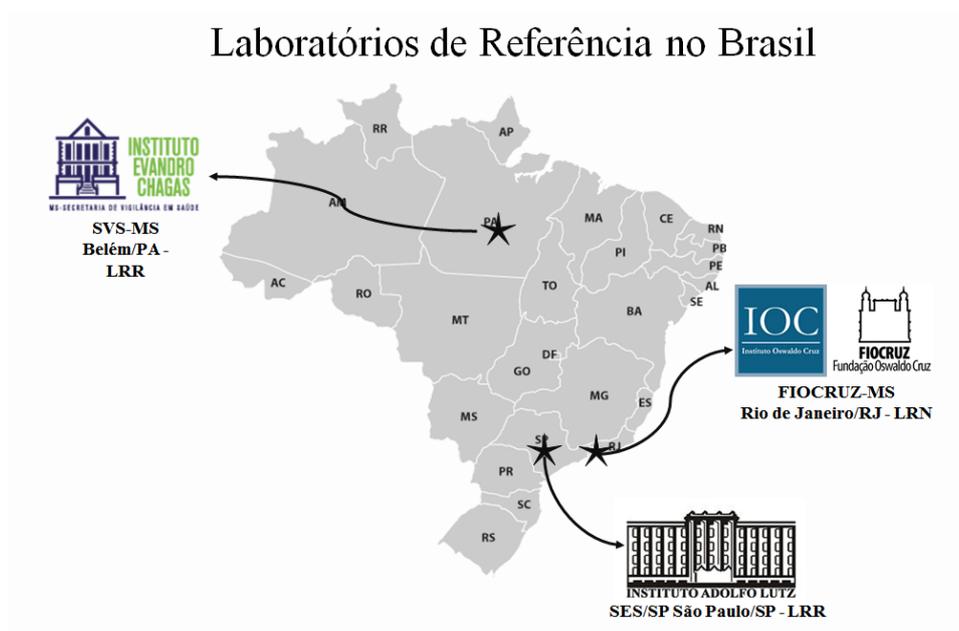


Figura 4 - Localização dos Laboratórios Nacionais de Influenza no Brasil e Unidades Federativas associadas aos mesmos.^d

1.2.1 Vigilância do vírus influenza no Brasil

A vigilância da influenza no Brasil, implantada pelo Ministério da Saúde (MS) ⁽¹⁶⁾ em 2000, é composta pela:

- Vigilância Sentinela da Influenza para Síndrome Gripal (SG) e Síndrome Respiratória Aguda Grave (SRAG) em Unidade de Terapia Intensiva através do Sistema de Informação da Vigilância Epidemiológica da Gripe (SIVEP-Gripe);
- Notificação Universal da SRAG de casos hospitalizados e de óbitos relacionados à influenza, por meio do Sistema de Informação de Agravos de Notificação (Sinan Influenza Web);

^d Fonte: Ministério da Saúde-PNI. ⁽¹⁵⁾

- identificação de internações e óbitos por influenza e pneumonia no Sistema de Informações Hospitalares do SUS (SIH) e no Sistema de Informações de Mortalidade (SIM), respectivamente, utilizando a Classificação Internacional de Doenças (CID-10) J09 a J18; e
- investigação de surtos, óbitos e eventos incomuns suspeitos para influenza no módulo de surto no sistema de informação online SinanNET. Laboratorialmente, essa vigilância conta com a participação dos Laboratórios Centrais de Saúde Pública (LACEN) e dos três Laboratórios Nacionais de Influenza.

O Brasil possui 252 unidades sentinelas (pelo menos uma por unidade federativa), sendo 140 unidades sentinelas para SG e 112 unidades sentinelas para SRAG, destas destacam-se 17 unidades sentinelas responsáveis tanto pelo monitoramento de SG quanto para SRAG. O Estado de São Paulo tem 13 unidades sentinelas: Hospital Infantil Menino Jesus, Hospital Vila Maria e Hospital Guarulhos (todos na região metropolitana de São Paulo), e nas cidades de Osasco, Mauá, Mogi das Cruzes, Santos, Taubaté, Campinas, Sorocaba, Ribeirão Preto, São José do Rio Preto e Bauru.

O objetivo principal da vigilância da influenza no Brasil é identificar os vírus respiratórios circulantes no país para:

- colaborar na adequação da Vacina de Influenza Sazonal do Hemisfério Sul;
- identificar situações inusitadas e, precocemente, de novo subtipo viral;

- realizar análises complementares de espécimes virais e enviá-los para o Centro de Controle e Prevenção de Doenças (Centers for Disease Control and Prevention - CDC) em Atlanta (EUA); e
- conhecer a patogenicidade e virulência dos vírus respiratórios em cada período sazonal, visando a orientação terapêutica de acordo com o agente.

As amostras clínicas coletadas de pacientes com síndrome gripal nas unidades sentinelas são encaminhadas periodicamente para os LACEN para a tipagem viral (imunofluorescência) e, em seguida, para os Laboratórios de Referência onde são realizados o isolamento e a subtipagem virais (PCR em tempo real) (Figura 5) ⁽¹⁷⁾. As informações geradas nos Laboratórios de Referência Nacional, bem como amostras virais isoladas são encaminhadas para o CDC-Atlanta (centro colaborador internacional da OMS de referência para o Brasil), o qual realiza testes laboratoriais para confirmação da cepa viral (Figura 6) ^(14, 17).

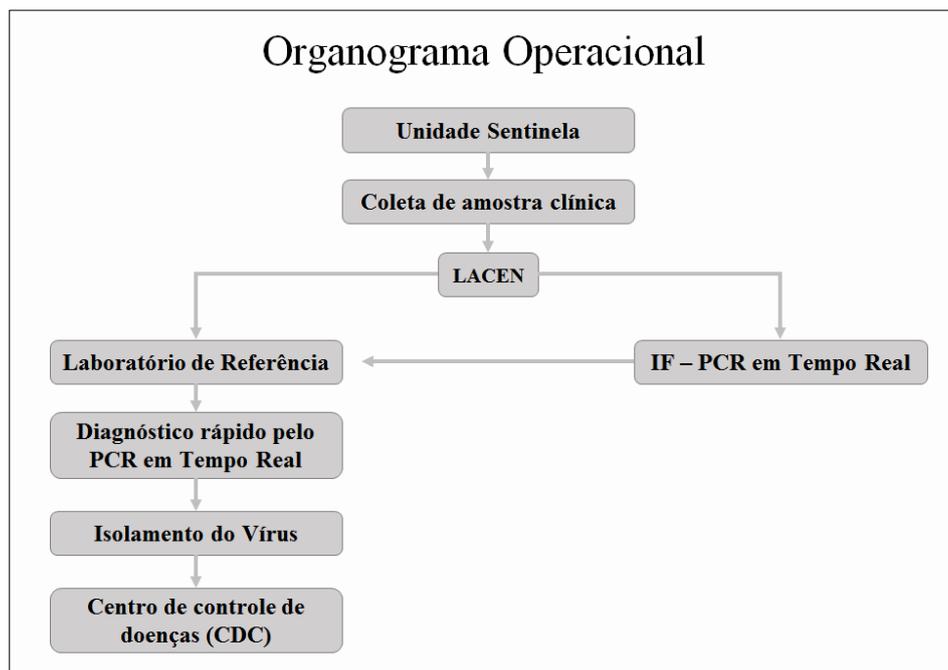


Figura 5 - Organograma Operacional de processamento de amostras clínicas coletadas de pacientes com síndrome gripal.^e



Figura 6 - Fluxo de encaminhamento de informação e de amostras virais do Brasil para o CDC-Atlanta e OMS.^e

^e Figuras construídas a partir das referências: World Health Organization (WHO) ⁽¹⁴⁾ e Ministério da saúde (MS-SVS) ⁽¹⁷⁾

1.2.2 Classificação das cepas do vírus influenza

Os processos de análise das cepas de influenza também envolvem o estabelecimento de classificação e catalogação das mesmas por intermédio de um código oficial ⁽¹⁸⁾ da OMS que se baseia em: 1) tipo antigênico da nucleoproteína central (tipo A, B ou C); 2) hospedeiro de origem (suíno, equino ou aviário); quando não especificado, o vírus tem origem humana; 3) localização geográfica do primeiro isolamento (Texas, Taiwan, Beijing, Sydney, etc.); 4) número laboratorial da cepa, atribuído de acordo com a ordem cronológica na qual a cepa foi isolada em determinada localidade e 5) ano de isolamento. Além disso, para o vírus influenza tipo A, os subtipos de hemaglutinina (HA) e neuraminidase (N) são discriminados entre parênteses. Assim, a cepa A/Sydney/5/97 (H3N2) é uma variante do tipo A, de origem humana, isolada na cidade de Sydney em 1997, com antígenos de superfície H3 e N2.

Com base nos dados epidemiológicos coletados ao redor do mundo ^(12, 14), um comitê de especialistas reúne-se na OMS duas vezes ao ano para formalizar a recomendação das cepas do vírus influenza a serem incluídas na composição da vacina para os hemisférios norte e sul ⁽¹⁹⁾. Desde 1977, a recomendação para a composição da vacina contra gripe tem incluído três cepas virais: duas do tipo A, respectivamente dos subtipos H1N1 e H3N2, e uma do tipo B (vacina trivalente de influenza), e mais recentemente alguns produtores de vacina de influenza têm optado por incluir as duas linhagens do tipo B (vacina quadrivalente de influenza).

A composição viral das vacinas dos hemisférios norte e sul pode ser igual ou diferente, isso está associado à circulação viral predominante nos hemisférios durante os períodos de vigilância. Sendo assim, a OMS sugere a composição da

vacina de influenza para o hemisfério norte em março e para o hemisfério sul em setembro [12, 19].

1.3 Vacinas de influenza

A busca por uma vacina de influenza começou no início do século XX, assim que o vírus influenza foi isolado e descrito como o agente causador da doença no ano de 1933 ⁽²⁰⁾. A primeira vacina foi comercializada no ano de 1945, na iminência da Segunda Guerra Mundial, após estudos de eficácia impulsionados pelo exército americano, que temia uma nova pandemia de influenza como a que havia devastado a Europa durante a Primeira Guerra Mundial. A habilidade de multiplicar o vírus em ovos de galinha embrionados associado ao desenvolvimento de mecanismos de inativação, possibilitaram a produção da vacina influenza de vírus inteiros inativados ⁽⁶⁾.

Atualmente, diferentes plataformas tecnológicas têm sido utilizadas para a produção de vacina influenza: ovos embrionados de galinhas, cultura celular, virossomo e proteína recombinante. As vacinas influenza produzidas a partir de replicação viral, seja em ovos embrionados ou cultura celular, podem ser inativadas ou atenuadas. As vacinas inativadas podem ser de células inteiras ou fragmentadas, sendo as inativadas fragmentadas as mais utilizadas por serem menos reatogênicas ⁽⁴⁾.

A vacina sazonal de influenza pode ser trivalente inativada ou atenuada (duas cepas de influenza A e uma linhagem de influenza B) ou quadrivalente atenuada ou inativada (duas cepas de influenza A e duas linhagens de influenza B), sendo ambas indicadas pela Organização Mundial da Saúde. Existe ainda a

possibilidade de produção de vacinas monovalentes específicas para situações de pandemias ^(6, 7, 12).

A vacina influenza trivalente inativada (ITI) é conhecida internacionalmente por “trivalent inactivated vaccine” ou “TIV” e a quadrivalente inativada por “quadrivalente inactivated vaccine” ou “QIV”. A vacina influenza atenuada de uso intra-nasal é conhecida por “live attenuated intranasal vaccine” ou “LAIV”. A ITI está liberada para uso em crianças a partir de 6 meses de idade, adultos, idosos, portadores de doenças crônicas ou imunodeprimidos, gestantes e puérperas; a LAIV somente para pessoas saudáveis de 2 a 49 anos de idade, excluindo gestantes ^(4, 6, 21).

No Brasil, o Ministério da Saúde utiliza, nas suas campanhas nacionais de vacinação, as vacinas inativadas fragmentadas trivalentes ⁽²²⁾. Atualmente existem 37 produtores de vacina influenza sazonal distribuídos em 18 países ^f, um deles é o Instituto Butantan (São Paulo, Brasil) que produz a vacina influenza sazonal trivalente (inativada fragmentada).

1.4 Vacinação contra os vírus influenza

A vacinação anual é recomendada pela OMS ⁽¹⁾ como a medida mais efetiva contra a influenza sazonal. Atualmente, o CDC recomenda o uso da vacina para todos os indivíduos acima de 6 meses de idade (“imunização universal”), embora os grupos populacionais de maior risco para desenvolver complicações associadas à doença influenza sejam: idosos (>65 anos),

^f Fonte: Costa A. (Pan American Health Organization). Influenza Global Vaccine Supply: Current status of vaccine production. (PAHO Health Disaster Coordinators Meeting; 2006; Peru) [online] [cited in 2018 Apr 7]. Available in: http://www.paho.org/hq/index.php?option=com_docman&task=doc_download&gid=15626&Itemid=270

gestantes, portadores de doenças crônicas, imunodeprimidos, crianças menores de 5 anos e profissionais da área da saúde ⁽⁴⁾.

No Brasil, o Programa Nacional de Imunizações (PNI), da Secretaria de Vigilância em Saúde do Ministério da Saúde, realiza campanhas anuais de vacinação contra influenza sazonal desde 1999 ⁽²³⁾. Neste primeiro ano a imunização contra influenza foi indicada apenas para idosos com mais de 65 anos de idade, sendo já em 2000, indicada para idosos a partir de 60 anos de idade. Desde então, o PNI vem, progressivamente, expandindo a imunização contra influenza para outros grupos etários e populações com características específicas. A partir de 2016, a campanha nacional de vacinação para influenza tem sido indicada para os seguintes grupos populacionais: crianças entre 6 meses e 5 anos de idade, idosos com 60 anos ou mais, gestantes em qualquer período gestacional, puérperas (até 45 dias após o parto), profissionais da área da saúde, povos indígenas, adolescentes e jovens de 12 a 21 anos de idade sob medidas socioeducativas, população privada de liberdade, funcionários do sistema prisional, portadores de doenças crônicas não transmissíveis e outras condições clínicas especiais ⁽²⁴⁾. Em 2017, os professores de escolas públicas e privadas também passaram a fazer parte do grupo alvo para a vacinação ⁽¹⁵⁾.

1.5 Desenvolvimento da vacina influenza sazonal trivalente (fragmentada e inativada) do Instituto Butantan, São Paulo – Brasil

O Instituto Butantan (IB), vinculado ao Governo de Estado de São Paulo, foi fundado em 1901 e desde a sua fundação tem atuado como um centro de referência para pesquisa, desenvolvimento e produção de anti-venenos e antitoxinas ⁽²⁵⁾. A partir da década de 80 passou também a atuar de forma

significativa na pesquisa, no desenvolvimento e na produção de vacinas com valor agregado para a saúde pública, contribuindo desta forma com o Programa Brasileiro de Autossuficiência em Imunobiológicos (PASNI) ⁽²⁶⁾.

Dentre as diferentes estratégias utilizadas pelo IB para o desenvolvimento e incorporação de novas tecnologias destacam-se as parcerias com a iniciativa privada. O primeiro programa de transferência de tecnologia vivenciado pelo IB com a iniciativa privada foi o de produção de vacina de influenza sazonal estabelecido com a empresa Pasteur-Merieux-Sanofi-Aventis em 1999 ⁽²⁷⁾.

De comum acordo entre os parceiros, este programa ocorreu em etapas pré-estabelecidas. A primeira etapa caracterizou-se pela distribuição, através do IB, da vacina sazonal de influenza produzida pela Pasteur-Merieux-Sanofi-Aventis. Na etapa seguinte o IB recebeu a vacina envasada, realizou os testes de controle de qualidade e foi responsável pela distribuição nacional desta vacina. Na próxima etapa o IB recebeu a vacina formulada e realizou o envase, os testes de controle de qualidade e a distribuição. Em seguida, o IB recebeu os componentes concentrados (“bulk”) da vacina trivalente e realizou a formulação, envase e os testes de controle de qualidade. Finalmente, o IB passou a realizar todos os processos produtivos incluindo o crescimento das cepas vacinais em ovos embrionados de galinha ⁽²⁷⁾.

Com esse programa, o IB absorveu a tecnologia para a produção de vacina influenza sazonal trivalente (fragmentada e inativada). A base tecnológica dessa produção caracteriza-se pela utilização de ovos embrionados de galinha para o crescimento e replicação das cepas virais que compõem a vacina. A vacina de influenza sazonal trivalente resultante deste processo é composta de

2 cepas do vírus influenza do tipo A (15 µg de cada cepa A) e uma linhagem do vírus influenza do tipo B (15 µg), totalizando 45 µg de antígeno vacinal ⁽²⁷⁾.

Em 2003 foram assinados convênios com o Ministério da Saúde para compra de equipamentos e com a Secretaria de Estado de Saúde de São Paulo para a construção da fábrica de produção. Em 2006 a Sanofi Pasteur (antiga Pasteur-Merieux-Sanofi-Aventis) transferiu a tecnologia de produção propriamente dita para o Instituto Butantan. Nos anos seguintes o Instituto Butantan passou a produzir a vacina sazonal de influenza sob supervisão da Sanofi Pasteur até que, em 2011, o Instituto Butantan foi certificado pela Sanofi Pasteur. Finalmente, em 2013, o Instituto Butantan recebeu a certificação de Boas Práticas de Produção (BPP) ⁽²⁸⁾ pela ANVISA (Agência Nacional de Vigilância Sanitária) e, desde então, vem produzindo e entregando a vacina sazonal de influenza para o Ministério da Saúde (MS). Em 2013, 2014 e 2015 o IB entregou ao PNI 6.330.400, 10.280.270 e 33.087.570 doses de vacina influenza sazonal inativada trivalente, respectivamente.

1.5.1 Descrição sucinta do processo de produção da vacina influenza sazonal trivalente (fragmentada e inativada) do Instituto Butantan

A vacina influenza trivalente (fragmentada e inativada) produzida pelo Instituto Butantan é obtida a partir de ovos embrionados de galinha 10 – 11 dias) que, quando chegam ao IB, são inspecionados por meio de ovoscópio automático para garantir vascularização adequada dos embriões. Os ovos com embriões vivos são então inoculados com o vírus vacinal na cavidade alantóica.

Uma vez inoculados, os ovos são submetidos à incubação, possibilitando a replicação do vírus vacinal. Posteriormente, os ovos incubados são alocados

em câmaras frias para retração da vascularização, morte do embrião e liberação do vírus vacinal no líquido alantóico. O líquido alantóico concentrado é purificado e os vírus vacinais obtidos são submetidos à fragmentação. A seguir realiza-se um processo de clarificação para a remoção de partículas virais indesejáveis (fragmentos virais grandes ou mesmo vírus inteiros). A esta suspensão viral fragmentada é adicionado o formaldeído para o estabelecimento da inativação. Por fim, a vacina monovalente passa por filtração esterilizante, testes de controle e é refrigerada aguardando formulação. Esse processo é feito para cada um dos três vírus vacinais e quando os três componentes monovalentes estão prontos os mesmos são formulados (mistura das três vacinas monovalentes), sendo em seguida realizado o envase resultando em uma apresentação final de 10 doses por frasco de vacina.

A Figura 7 apresenta as etapas de produção da vacina influenza trivalente (fragmentada e inativada) produzida pelo Instituto Butantan.

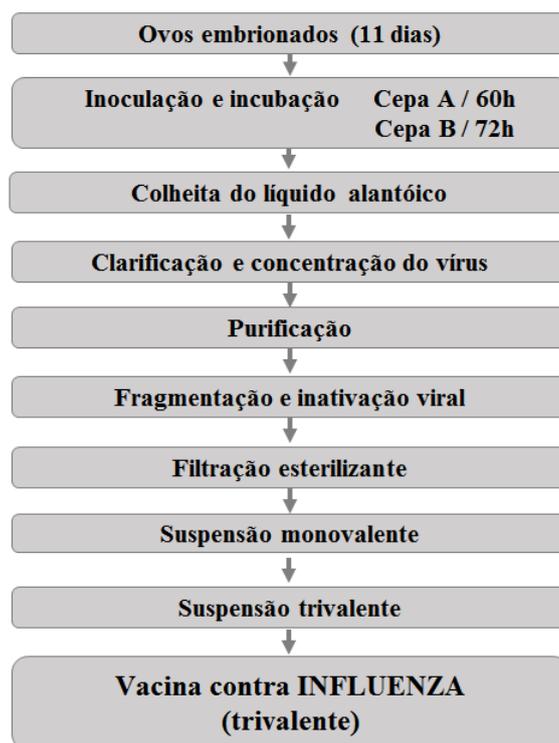


Figura 7 - Etapas de produção da vacina influenza trivalente (fragmentada e inativada) produzida pelo Instituto Butantan.⁹

1.5.2 Desenvolvimento clínico da vacina influenza sazonal trivalente (fragmentada e inativada) do Instituto Butantan

O desenvolvimento clínico da vacina influenza sazonal pode englobar a realização de diversos tipos de estudos, desde ensaios clínicos (fases de I a IV) até do tipo coorte prospectivo ⁽²⁹⁾.

Entre os desenhos de estudos clínicos anuais sugeridos, os mais frequentemente usados eram os do tipo Fase I/II ou de coorte prospectivo (este último podendo ser realizado após o licenciamento sanitário da vacina e durante

⁹ Imagem criada a partir dos dados de: Haaheim LR, Madhun AS, Cox R. Pandemic influenza vaccines – the challenges. *Viruses*. Dez. 2009; 1(3): 1089-1109. DOI: 10.3390/v1031089

a utilização da vacina de forma rotineira na população) envolvendo a participação de adultos entre 18 e 59 anos de idade e idosos com 60 anos ou mais.

Até 2015, a ANVISA optou por seguir a orientação da Agência Europeia de Medicamentos (*European Medicines Agency - EMA*) da necessidade de se avaliar anualmente a segurança e a imunogenicidade da vacina influenza sazonal (fragmentada e inativada). A orientação desta agência preconizava ⁽³⁰⁾ a realização de tais estudos no período pós comercialização e com a participação de um número reduzido de participantes. A definição por um tamanho amostral reduzido levava em consideração que, apesar das mudanças nas cepas vacinais, o sistema produtivo e o perfil de segurança anual das vacinas de influenza sazonal não apresentavam variação significativa. Além disso, era e ainda é mandatório para os produtores de vacina, o estabelecimento de atividades de farmacovigilância pós-registro para suprir as limitações metodológicas dos estudos até então realizados ⁽³¹⁾. Portanto, seguindo a orientação da ANVISA, a Divisão de Ensaios Clínicos e Farmacovigilância do Instituto Butantan realizou estudos clínicos para a avaliação da segurança e da imunogenicidade das vacinas influenza sazonal trivalentes (fragmentadas e inativadas) produzidas em 2013, 2014 e 2015.

1.5.3 Avaliação de segurança da vacina influenza sazonal trivalente (fragmentada e inativada)

A avaliação da segurança da vacina influenza sazonal nos estudos preconizados para serem realizados anualmente envolve o monitoramento de eventos e reações adversas, locais e sistêmicos, solicitados e não solicitados ^{(30,}
³²⁾.

Considera-se um evento adverso (EA) ⁽²⁹⁾ pós-vacinação qualquer ocorrência médica desfavorável que ocorra em um participante que foi vacinado e que não necessariamente tenha uma relação causal com a administração da vacina. Portanto, um evento adverso pode ser qualquer sinal, sintoma ou doença desfavorável e não intencional (incluindo uma descoberta anormal em exame laboratorial), temporalmente associado com o produto da vacinação, seja ele relacionado ou não com esse produto. Por outro lado, a reação adversa (RA) pós-vacinação representa um evento adverso com pelo menos uma possibilidade razoável de causalidade com a vacina.

Os EAs são ainda classificados como solicitados e não solicitados; os solicitados referem-se àqueles que serão perguntados (ou monitorados), enquanto que os EAs não solicitados são aqueles não perguntados (ou monitorados), mas que podem ser relatados pelo receptor da vacina ou por qualquer profissional da saúde ⁽²⁹⁾.

Com base nas recomendações da EMA, o estudo anual de avaliação da segurança e da imunogenicidade da vacina influenza sazonal trivalente (fragmentada e inativada), em adultos e idosos, deveria monitorar predominantemente, até 3 dias após a vacinação, as seguintes reações adversas: a) locais: enduração; equimose; eritema e dor; e b) sistêmicas: febre; fadiga e calafrios ⁽³⁰⁾.

1.5.4 Avaliação da imunogenicidade da vacina influenza sazonal (fragmentada e inativada)

Seguindo também as recomendações da EMA ⁽³⁰⁾ para a avaliação anual da imunogenicidade da vacina influenza sazonal trivalente (fragmentada e

inativada), em adultos e idosos, os seguintes parâmetros imunológicos deveriam ser descritos: porcentagem de soroconversão (SC), porcentagem de soroproteção (SP) e razão da média geométrica dos títulos (RMGT) de anticorpos inibidores da hemaglutinação (IH). Segundo as recomendações a vacina seria considerada imunogênica quando um dos parâmetros com valores aceitáveis fosse demonstrado. Os valores aceitáveis para os parâmetros de imunogenicidade estão descritos no Quadro 1.

Quadro 1 - Parâmetros imunológicos aceitáveis de imunogenicidade para vacina influenza sazonal (fragmentada e inativada), em adultos e idosos.

Parâmetros – um ou mais dos seguintes:	18 a 60 anos	> 60 anos
Soroconversão (SC)*ou aumento significativo† no título	>40%	>30%
Razão da média geométrica do título (RMGT)	>2,5	>2,0
Soroproteção (SP) sujeitos com título pós-vacinação ≥40 (1/dil)	>70%	>60%
* Para sujeitos com título pré-vacinal <10 (1/dil), proporção de sujeitos com título pós-vacinal ≥40 (1/dil) (método IH).		
† Aumento significativo é um aumento de quatro vezes ou mais no título de IH pós-vacinal.		

1.6 Estudos clínicos de vacina influenza trivalente sazonal (fragmentada e inativada)

Ao longo dos anos, vários estudos clínicos pré e pós comercialização, com vacinas de influenza trivalente sazonal (fragmentada e inativada), semelhantes à vacina produzida pelo IB, foram realizados ⁽³³⁻⁴⁰⁾.

Em todos os estudos a imunogenicidade da vacina ITI foi caracterizada seguindo os parâmetros recomendados pela EMA, ou seja, porcentagem de soroproteção, porcentagem de soroconversão e a razão da média geométrica dos títulos de anticorpos inibidores da hemaglutinação (IH).

Os dados de segurança descritos na literatura ⁽³³⁻⁴⁰⁾ mostram que a vacina influenza sazonal trivalente (fragmentada e inativada) é segura e que as reações

adversas locais mais frequentes são dor, eritema e enduração, enquanto que as reações adversas sistêmicas mais frequentes são cefaleia, mialgia e fadiga ou cansaço.

2 JUSTIFICATIVA

Analisar os dados de segurança e de imunogenicidade das vacinas influenza sazonal trivalentes (fragmentadas e inativadas) produzidas integralmente pelo Instituto Butantan em 2013, 2014 e 2015.

3 HIPÓTESE DO ESTUDO

A hipótese deste estudo é que as vacinas de influenza sazonal trivalentes (fragmentadas e inativadas) produzidas integralmente pelo Instituto Butantan em 2013, 2014 e 2015 são seguras e imunogênicas conforme os parâmetros de segurança e imunogenicidade estabelecidos pela Agência Europeia de Medicamentos.

4 OBJETIVOS

4.1 Objetivo geral

Descrever a segurança e a imunogenicidade da vacina influenza sazonal trivalente (fragmentada e inativada) integralmente produzida pelo Instituto Butantan em 2013, 2014 e 2015, respectivamente, em adultos saudáveis com idade de 18 a 59 anos e em idosos com 60 anos ou mais.

4.2 Objetivos Específicos

4.2.1 Segurança

Descrever as reações adversas solicitadas (locais e sistêmicas) e não solicitadas ocorridas até o Dia 3 pós-vacinação, em adultos saudável (entre 18 e 59 anos de idade) e em idosos (com 60 anos ou mais) que receberam a vacina influenza sazonal trivalente (fragmentada e inativada) integralmente produzida pelo Instituto Butantan em 2013, 2014 e 2015, respectivamente.

4.2.2 Imunogenicidade

Descrever a imunogenicidade da vacina influenza sazonal trivalente (fragmentada e inativada) em adultos saudáveis com 18 a 59 anos de idade e em idosos com 60 anos ou mais, até o Dia 21 (+7) pós-vacinação, através das porcentagens de soroconversão e soroproteção e da razão da média geométrica dos títulos de anticorpos inibidores da hemaglutinação.

5 MÉTODOS

5.1 Desenho dos estudos

Os estudos de 2013, 2014 e 2015 foram do tipo coorte prospectivos e conduzidos de acordo com as Boas Práticas Clínicas (BPC) ⁽²⁹⁾. Foram inscritos no ClinicalTrials.gov: (2013: NCT02819115, 2014: NCT02819180 e 2015: NCT 02313740). Patrocinador financeiro: Fundação Butantan.

5.2 Locais dos estudos

O estudo de 2013 foi conduzido no Centro de Referência de Imunobiológicos Especiais (CRIE) do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo e no Centro de Pesquisa Clínica do Instituto da Criança do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo. Os estudos de 2014 e 2015 foram realizados exclusivamente no Centro de Referência de Imunobiológicos Especiais (CRIE) do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo. Os três estudos foram realizados durante as Campanhas Nacionais contra Influenza, do Ministério da Saúde de 2013, 2014 e 2015, respectivamente.

5.3 Períodos dos estudos

Os estudos de 2013, 2014 e 2015 foram realizados durante as respectivas Campanhas Nacionais contra Influenza.

5.4 População dos estudos

Adultos saudáveis, de ambos os sexos, entre 18 e 59 anos de idade e idosos com 60 anos ou mais que foram convidados a participar dos estudos em 2013, 2014 e 2015. O convite para participação ocorreu no momento em que eles compareceram espontaneamente para a vacinação nos locais estabelecidos para o estudo. Essas faixas etárias seguiram as preconizadas pela EMA ⁽³⁰⁾.

Os participantes dos estudos foram selecionados com base em critérios de inclusão e exclusão descritos abaixo. Para participação efetiva no estudo, os participantes deveriam cumprir com todos os critérios de inclusão e não apresentar nenhum critério de exclusão.

5.4.1 Critérios de inclusão:

- ser um adulto saudável, homem ou mulher, com 18 a 59 anos de idade, ou idoso com idade igual ou superior a 60 anos de idade;
- estar disponível para participar durante todo o período de estudo de aproximadamente 21 dias;
- ter indicação para vacinação contra influenza;
- demonstrar intenção, documentada pela assinatura do TCLE (Termo de Consentimento Livre e Esclarecido), de participar do estudo (Anexo A).

5.4.2 Critérios de Exclusão

- evidência de doença ativa neurológica, cardíaca, pulmonar, hepática ou renal conforme história clínica e/ou exame físico (exceto hipertensão arterial sistêmica controlada entre os idosos);

- evidência de doenças com comprometimento do sistema imunológico inclusive: HIV, diabetes mellitus, neoplasias (exceto carcinoma basocelular) e doenças autoimunes;
- apresentar doença comportamental, cognitiva ou psiquiátrica que, na opinião do investigador principal ou seu representante médico, afete a capacidade do participante em potencial em entender e colaborar com as exigências do protocolo do estudo;
- ter história de utilização considerada abusiva de álcool ou drogas nos últimos 12 meses que tenha causado problemas médicos, profissionais ou familiares, como indicado pela história clínica;
- relatar história de alergia a ovo ou a qualquer outro componente da vacina;
- relatar história de reação adversa grave ao uso de vacina contra influenza em um período de 6 semanas após a vacinação;
- relatar história de Síndrome de Guillain-Barré ou outras neuropatias desmielinizantes;
- apresentar diagnóstico de asma com história de internação hospitalar nos últimos seis meses devido à doença;
- ter suspeita ou confirmação de febre nas 72 horas que antecedem à vacinação ou temperatura axilar superior a 37,8°C no dia da vacinação;
- relatar uso de corticoides (excluindo via tópica ou nasal) ou outras drogas imunossupressoras no prazo de 42 dias antes do início do estudo. Será considerada dose imunossupressora de corticóide aquela que for equivalente a uma dose ≥ 10 mg de prednisona por dia por mais de 14 dias;

- relatar alteração da coagulação por doença crônica ou por uso de medicamentos varfarínicos ou heparina nos sete dias anteriores à vacinação;
- ter recebido vacina com vírus vivo nos últimos 28 dias ou vacina com vírus morto nos últimos 14 dias que antecedem a vacinação, ou ainda ter imunização programada para os primeiros 21 dias após ter recebido vacinação;
- ter recebido qualquer vacina de influenza nos últimos 6 meses;
- relatar história de asplenia;
- ter recebido hemoderivados nos últimos 6 meses, incluindo transfusões ou imunoglobulina, ou administração programada de hemoderivados ou imunoglobulina para os primeiros 21 dias após a vacinação;
- ter contraindicação para vacinação contra influenza, inclusive alergia às proteínas de ovo;
- ter feito uso de medicamento experimental nos últimos 42 dias antes da vacinação;
- apresentar qualquer outra condição que, na opinião do investigador principal ou do seu representante médico, possa colocar em risco a segurança ou os direitos de um participante em potencial ou que o impeça de cumprir com este protocolo.

5.5 Procedimentos dos estudos

Os procedimentos descritos abaixo foram aplicados igualmente nos estudos de 2013, 2014 e 2015.

Todos os participantes incluídos nos estudos tiveram seus dados registrados em formulário estruturado e em formulário eletrônico de registro de caso (Case Report Form, “CRF”). Para inserção do dado no CRF foi utilizado o sistema OpenClinica, sistema este validado e de acordo com as exigências requeridas pelos padrões nacionais e internacionais de manejo de dados clínicos.

Os participantes que demonstraram interesse em participar do estudo foram recebidos pela equipe local de pesquisadores que forneceu informações gerais sobre o estudo e aplicou o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido. Ao assinar o TCLE, os participantes concordaram em cumprir com os procedimentos descritos a seguir.

5.5.1 Visita de Vacinação (Dia 0)

Após assinatura do TCLE os participantes passaram por avaliação clínica através de anamnese e exame físico para avaliação de critérios de inclusão e exclusão. Todos aqueles que cumpriram com todos os critérios de inclusão e não apresentaram nenhum critério de exclusão foram incluídos no estudo, passaram por uma coleta de sangue (5ml) e, em seguida, receberam a vacina.

Após a vacinação, os participantes permaneceram em observação por 30 minutos para o monitoramento de possíveis eventos adversos, sendo dispensados a seguir. Todos os participantes foram liberados em posse de um termômetro para a aferição diária da sua temperatura corporal, nos três dias seguintes à vacinação, e do “Cartão do Participante” (Anexo A) para registro das temperaturas corpóreas. Este cartão continha a identificação do centro de pesquisa e do pesquisador, forma de contato e agendamento do retorno.

5.5.2 Contato de segurança (Dias 1, 2 e 3)

Nos dias 1, 2 e 3 após a vacinação, os participantes foram contatados por telefone ou pessoalmente para verificar a ocorrência de eventos adversos solicitados e não solicitados.

5.5.3 Visita de segurança (Dia 21(+7))

No dia 21(+7) os participantes retornaram ao centro de pesquisa para a checagem e avaliação de eventos ou reações adversas, solicitadas e não solicitadas até o dia 21(+7), e para a coleta de 5 ml de sangue para a avaliação da imunogenicidade.

5.6 Desfechos do estudo

5.6.1 Desfecho de segurança

Os desfechos de segurança foram as reações adversas locais e sistêmicas, solicitadas e não solicitadas, relatadas pelos participantes até o Dia 3 após a vacinação.

5.6.1.1 Reações adversas locais solicitadas: dor, eritema, inchaço, enduração e equimose;

5.6.1.2 Reações adversas sistêmicas solicitadas: febre, calafrio, cefaleia, mialgia e fadiga;

5.6.1.3 Classificação de intensidade das reações adversas solicitadas e não solicitadas

Todos os eventos adversos clínicos locais e sistêmicos, incluindo as reações adversas, foram classificados quanto à intensidade de acordo com

“Guidance for Industry: Toxicity Grading Scale for Healthy Adult and Adolescent Volunteers Enrolled in Preventive Vaccine Clinical Trial” ⁽⁴¹⁾. Este guia apresenta critérios que caracterizam os eventos adversos clínicos de forma uniformizada aprimorando a realização de comparações entre os participantes de um mesmo estudo e entre participantes de estudos diferentes.

Os limites dos parâmetros deste guia ⁽⁴¹⁾ foram definidos com base em dados publicados na literatura e provenientes de ensaios clínicos de vacinas em indivíduos saudáveis. Os parâmetros clínicos utilizados neste estudo para avaliação das reações adversas locais e sistêmicas (solicitadas) estão descritos nos Quadros 2 e 3, respectivamente.

Quadro 2 - Classificação de intensidade dos eventos adversos clínicos solicitados

Evento Adverso	Grau 1	Grau 2	Grau 3	Grau 4
Dor no local da administração da vacina	Não interfere com atividades diárias	Uso repetido de analgésico não narcótico >24 horas OU Interfere pouco com atividades diárias	Qualquer uso de analgésico narcótico OU Impede atividades diárias	Visita ao pronto socorro* OU Hospitalização
Eritema no local da administração da vacina**	25 – 50 mm	51 – 100 mm	>100 mm	Necrose OU Dermatite esfoliativa
Inchaço no local da administração da vacina**	25 – 50 mm	51 – 100 mm OU Interfere pouco com atividades diárias	>100 mm	Necrose
Enduração no local da administração da vacina**	25 – 50 mm	51 – 100 mm OU Interfere com atividades diárias	>100 mm	Necrose
Equimose no local da administração da vacina	25 – 50 mm	51 – 100 mm OU Interfere com atividades diárias	>100 mm	Necrose
Febre	37,8 – 38,4°C	38,5 – 38,9°C	39,0 – 40,0°C	>40°C
Calafrios	Sensação leve de frio; arrepio, bater os dentes	Tremor moderado do corpo inteiro, requer uso de narcóticos	Grave ou prologando, sem resposta aos narcóticos	-----
Cefaléia	Não interfere com atividades diárias	Uso repetido de analgésico não narcótico >24 horas OU Interfere pouco com atividades diárias	Qualquer uso de analgésico narcótico OU Impede atividades diárias	Visita ao pronto socorro* OU Hospitalização
Fadiga	Não interfere com atividades diárias	Interfere pouco com atividades diárias	Impede atividades diárias	Visita ao pronto socorro* OU Hospitalização
Mialgia	Não interfere com atividades diárias	Interfere pouco com atividades diárias	Impede atividades diárias	Visita ao pronto socorro* OU Hospitalização
* Requer 12 horas ou mais de internação em enfermaria ou pronto socorro para manejo do Evento Adverso. ** O valor registrado deve ser o aferido no local de maior diâmetro e como uma variável contínua.				

Quadro 3 - Classificação de intensidade dos eventos adversos clínicos não solicitados

Grau 1 (leve)	Grau 2 (moderado)	Grau 3 (grave)	Grau 4 (muito grave)
Não interfere com atividades diárias	Interfere pouco nas atividades diárias	Impede atividades diárias	Visita ao pronto socorro * OU Hospitalização

5.6.1.4 Classificação de causalidade das reações adversas

Além das reações adversas solicitadas citadas anteriormente também foram consideradas reações adversas todos os eventos adversos não solicitados com relação causal (Quadro 4) certa, possível ou provável, ocorridos em até três dias após a vacinação. As relações de causalidade foram definidas com base no “Uppsala Monitoring Centre/OMS” ⁽⁴²⁾.

Quadro 4 - Classificação de causalidade dos eventos adversos clínicos

Certa	Provável	Possível	Improvável	Não relacionado
Evento ou alteração (valor anormal) em exame laboratorial, com relação temporal plausível em relação à administração da intervenção;	Um evento clínico, incluindo uma alteração (valor anormal) em exame laboratorial, com relação temporal razoável em relação à administração da intervenção;	Um evento clínico, incluindo uma alteração (valor anormal) em exame laboratorial, com relação temporal razoável em relação à administração da intervenção;	Um evento clínico, incluindo uma alteração (valor anormal) em exame laboratorial, que devido ao momento da administração da intervenção faz uma relação improvável, mas não impossível;	Um evento clínico, incluindo uma alteração (valor anormal) em exame laboratorial, que devido ao momento da administração da intervenção faz com que não exista uma relação;
Não pode ser explicado por doença concomitante ou outra intervenção ou medicamento; O evento é definido farmacologicamente ou fenomenologicamente (i.e., uma desordem objetiva e específica ou um fenômeno farmacologicamente reconhecido);	Improvável que seja atribuído à uma doença concomitante ou à outra intervenção ou medicamento;	Também pode ser explicado por doença concomitante ou outras intervenções ou medicamentos;	Outra doença ou outro medicamento fornecem uma explicação plausível	Outra doença ou outro medicamento fornecem uma explicação plausível
A resposta à interrupção ou retirada é plausível (farmacologicamente, patologicamente);	A resposta à interrupção ou retirada é clinicamente razoável;	Falta de informação ou ainda falta de clareza sobre a retirada ou interrupção do tratamento		
Reexposição satisfatória, se necessário	Reexposição não exigida			

5.6.2 Desfecho de Imunogenicidade

Os desfechos de imunogenicidade preconizados pela EMA ⁽³⁰⁾ para a avaliação da imunogenicidade de vacinas influenza sazonal foram: porcentagem de soroconversão, porcentagem de soroproteção e razão da média geométrica

de anticorpos inibidores da hemaglutinação. A definição para cada um desses desfechos é apresentada a seguir:

- Soroconversão: definida por títulos de anticorpos inibidores da hemaglutinação (IH) $\geq 1:40$ pós-vacinação em participantes com títulos de anticorpos $< 1:10$ pré-vacinação, ou como um aumento de pelo menos 4 vezes nos títulos de anticorpos pós-vacinação em participantes com títulos de anticorpos pré-vacinação $\geq 1:10$;
- Soroproteção: definida por títulos de anticorpos inibidores da hemaglutinação (IH) $\geq 1:40$ pós-vacinação;
- Razão da média geométrica dos títulos de anticorpos inibidores da hemaglutinação (IH): média geométrica dos títulos de anticorpos IH pós-vacinação dividida pela média geométrica dos títulos de anticorpos IH pré-vacinação dos indivíduos.

Segundo a EMA ⁽³⁰⁾ a imunogenicidade da vacina sazonal de influenza é considerada adequada quando um dos seguintes parâmetros (também descritos no Quadro 1) é observado para os três vírus vacinais:

a) Em adultos de 18 a 59 anos de idade: Porcentagem de soroconversão $>40\%$ e/ou porcentagem de soroproteção $>70\%$ e/ou razão da média geométrica de anticorpos IH $>2,5$.

b) Em idosos maiores de 60 anos: Porcentagem de soroconversão $>30\%$ e/ou porcentagem de soroproteção $>60\%$ e/ou razão da média geométrica de anticorpos IH $>2,0$.

5.6.2.1 Análise laboratorial de imunogenicidade

Segundo a EMA e a OMS, os testes tradicionalmente indicados para análise de imunogenicidade da vacina influenza sazonal trivalente (fragmentada e inativada) são: inibição de hemaglutinação (IH), hemólise radial simples (HRS) e microneutralização (MN) ⁽⁴³⁾. O teste IH foi descrito pela primeira vez na década de 40 ^(44,45) e tem sido o mais utilizado nos estudos anuais de vacina influenza sazonal ⁽⁴⁶⁾.

O teste IH foi utilizado nos estudos de 2013, 2014 e 2015 para a demonstração da imunogenicidade da vacina de cada ano. Todas as análises foram realizadas pelo Instituto Adolfo Lutz o qual faz parte da GISN da OMS, sendo um dos Laboratórios de Referência Regional do Brasil credenciado como Centro de Referência para Influenza ^(14, 47).

Sumariamente, os procedimentos ⁽⁴⁷⁾ utilizados na realização do teste IH foram:

a) tratamento do soro – para a retirada de inibidores inespecíficos, os soros dos participantes foram submetidos à ação da enzima RDE por 18 horas a 37°C e inativados a 56°C por 30 minutos;

b) titulação do antígeno por reação de Hemaglutinação (H); e

c) reação de Inibição de Hemaglutinação (IH): Às diluições seriadas do soro (1:10 a 1:640) foram adicionadas 8 unidades hemaglutinantes de antígeno, previamente titulados por reação de hemaglutinação. Após incubação por 30 minutos à temperatura ambiente, hemáceas de galinha ou de peru foram adicionadas em todos os orifícios da microplaca e após 30 minutos de incubação à temperatura ambiente e procedeu-se às leituras. As titulações de anticorpos nos soros obtidos pré e pós-vacinação foram realizada simultaneamente. As amostras foram duplamente testadas e o valor médio geométrico foi utilizado nas

análises. Os títulos de anticorpos foram testados a uma diluição inicial de 1:10 e a uma diluição final de 1: 2560. Para fins de cálculo, os títulos negativos foram atribuídos a um valor de 1: 5 e aqueles $\geq 1: 2560$ foram atribuídos a um valor de 1: 2560.

5.6.2.2 Composição das vacinas influenza sazonal trivalentes (fragmentadas e inativadas) utilizadas em 2103, 2014 e 2015.

As vacinas utilizadas nos estudos foram compostas pelos seguintes vírus vacinais: **2013** ⁽⁴⁸⁾ (Vírus influenza A /Califórnia/7/2009 (H1N1) pdm09; Vírus influenza A/Victoria/361/2011 (H3N2) e Vírus influenza B/Wisconsin/1/2010; **2014** ⁽⁴⁹⁾ (Vírus influenza A /Califórnia/7/2009 (H1N1) pdm09; Vírus influenza A/Texas/50/2012 (H3N2) e Vírus influenza B/Massachusetts/2/2012) e em **2015** ⁽⁵⁰⁾ (Vírus influenza A/Califórnia/7/2009 (H1N1) pdm09; Vírus influenza A/South Australia/55/2014 (H3N2) [similar ao vírus influenza A/Switzerland/9715293/2013 (H3N2)] e Vírus influenza B/Phuket/3073/2013).

Todas as vacinas analisadas tinham a apresentação de suspensão injetável em frasco ampola multidose (10 doses), com orientação de conservação entre 2 e 8°C, podendo ser utilizadas em até sete dias após a abertura do frasco, desde que mantida a orientação de conservação ^h.

A forma de administração preferencial indicada foi por via intramuscular (IM), recomendando-se a administração via subcutânea somente para pessoas que apresentassem discrasias sanguíneas ou estivessem fazendo uso de medicamentos anticoagulantes orais ^h.

^h Recomendações contidas na bula da **vacina influenza (fragmentada e inativada)** produzida pelo Instituto Butantan.

A dose de imunização preconizada, com volume de 0,5mL, continha 15 μ g de hemaglutinina para cada uma das três cepas vacinais. As cepas utilizadas, nos anos de estudo, para composição da vacina seguiram as recomendações da Organização Mundial da Saúde para vacinas de influenza sazonal do Hemisfério Sul ⁽⁴⁸⁻⁵⁰⁾.

5.7 Tamanho amostral

Os três estudos realizados seguiram as recomendações da EMA ⁽³⁰⁾ quanto ao tamanho amostral necessário para avaliação de segurança e imunogenicidade da vacina influenza sazonal. Segundo esta agência é necessário que cada grupo etário (adultos saudáveis entre 18 e 59 anos de idade e idosos com 60 ou mais) contenha no mínimo 50 participantes.

5.8 Análise estatística

Inicialmente efetuou-se a análise descritiva das características sócio demográficas e da ocorrência de reações adversas em cada grupo (adultos e idosos) de cada estudo. Os resultados foram apresentados em tabelas de frequências para as variáveis qualitativas e, no que tange às variáveis quantitativas, foram feitas estimativas das medidas de tendência central e de dispersão.

Em cada estudo, as variáveis sexo, raça e número de participantes com reações adversas foram comparadas entre os grupos empregando-se o teste qui-quadrado e, em situações em que este teste não era apropriado, utilizou-se o teste exato de Fisher.

Para análise de segurança apresentou-se uma tabela de frequências, considerando todos os participantes, com a ocorrência de todas as reações adversas observadas, solicitadas e não solicitadas, em cada estrato de cada estudo. As frequências observadas em cada grupo foram comparadas pelo teste exato de Fisher.

A análise de imunogenicidade, para cada cepa de cada estudo, foi efetuada por protocolo, ou seja, somente para os participantes com medidas pré e pós-vacinação. Nesta análise, calcularam-se as médias geométricas dos títulos IH, pré e pós-vacinação, e a razão entre ambas com seu respectivo intervalo com 95% de confiança (IC 95%) para cada cepa e grupo (adultos e idosos). Também foram calculadas, para cada grupo e cepa, as porcentagens de participantes apresentando títulos de anticorpos IH pré-vacinação $\geq 1:40$ e as porcentagens de soroconversão e de soroproteção pós-vacinação com seus respectivos IC 95%.

Em seguida, tanto para os idosos quanto para os adultos, foram calculadas as razões entre as médias geométricas e as porcentagens de soroconversão e de soroproteção, todos com seus respectivos IC 95%, para aqueles com resultado pré-vacinação $< 1:40$ e para os participantes com resultado pré-vacinação $\geq 1:40$. Em cada faixa etária de cada estudo, as razões das médias geométricas foram comparadas empregando-se o teste não paramétrico de Mann-Whitney e as porcentagens de soroconversão através do teste exato de Fisher. Neste estudo adotou-se nível de significância de 5%.

Os dados foram inseridos no programa Excel e analisados no programa estatístico STATA versão 13.0 (StataCorp LP, CollegeStation, Texas, USA).

5.9 Aspectos Éticos

Os estudos de 2013, 2014 e 2015 foram aprovados pela Comissão de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (CAPPesq), sob os números 16528813.5.1001.0068, 28891914.6.0000.0068 e 42621915.5.0000.0068, respectivamente. Os três estudos foram conduzidos de acordo com os princípios da Declaração de Helsinki.

6 RESULTADOS

6.1 Períodos dos estudos

Os estudos de 2013, 2014 e 2015 ocorreram nos períodos de 4 de junho a 27 de julho de 2013, de 22 de abril a 4 de junho de 2014 e de 4 de maio a 23 de junho de 2015, respectivamente. Os voluntários foram convidados a participar do estudo no momento em que compareceram espontaneamente aos locais de vacinação da campanha nacional de imunização contra influenza patrocinada pelo PNI-MS. Obteve-se a assinatura do TCLE (Anexos B, C e D) de cada voluntário antes da sua participação no estudo.

6.2 Descrição da população dos estudos

As características sócio demográficas dos participantes dos estudos de 2013, 2014 e 2015 estão descritas na Tabela 1. O número total de participantes incluídos nas análises de segurança e de imunogenicidade, dos três estudos, está descrito na Figura 8.

Tabela 1 - Características sócio demográficas dos participantes segundo ano de vacinação e grupo etário

VARIÁVEIS	Estudo 2013 n=60			Estudo 2014 n=120			Estudo 2015 n=119		
	Adultos (n=47)	Idosos (n=13)	<i>p</i> *	Adultos (n=60)	Idosos (n=60)	<i>p</i> **	Adultos (n=62)	Idosos (n=57)	<i>p</i> **
Idade (P_{50} (P_{25} – P_{75}))	33,3 (25,3– 44,8)	67,8 (62,3– 70,0)	NA	30,1 (27,2– 42,4)	66,9 (62,9– 73,1)	NA	31,5 (27,7– 42,0)	68,3 (65,5– 75,0)	NA
Sexo (n (%))			0,045			0,845			0,725
Feminino	29 (61,7)	12 (92,3)		41 (68,3)	40 (66,7)		40 (64,5)	35 (61,4)	
Masculino	18 (38,3)	1 (7,7)		19 (31,7)	20 (33,3)		22 (35,5)	22 (38,6)	
Raça (n (%))			0,159***			0,001***			0,977***
Branca	38 (80,8)	8 (61,5)		42 (70,0)	24 (40,0)		48 (77,4)	44 (77,2)	
Negra	2 (4,3)	-		4 (6,7)	2 (3,3)		1 (1,6)	2 (3,5)	
Parda	3 (6,4)	1 (7,7)		1 (1,7)	1 (1,7)		9 (14,5)	2 (3,5)	
Amarela	4 (8,5)	2 (15,4)		4 (6,6)	2 (3,3)		4 (6,5)	8 (14,0)	
Outra	-	2 (15,4)		9 (15,0)	31 (51,7)		-	1 (1,8)	

NA: não se aplica

(*) teste exato de Fisher

(**) teste qui-quadrado

(***) branca x outras

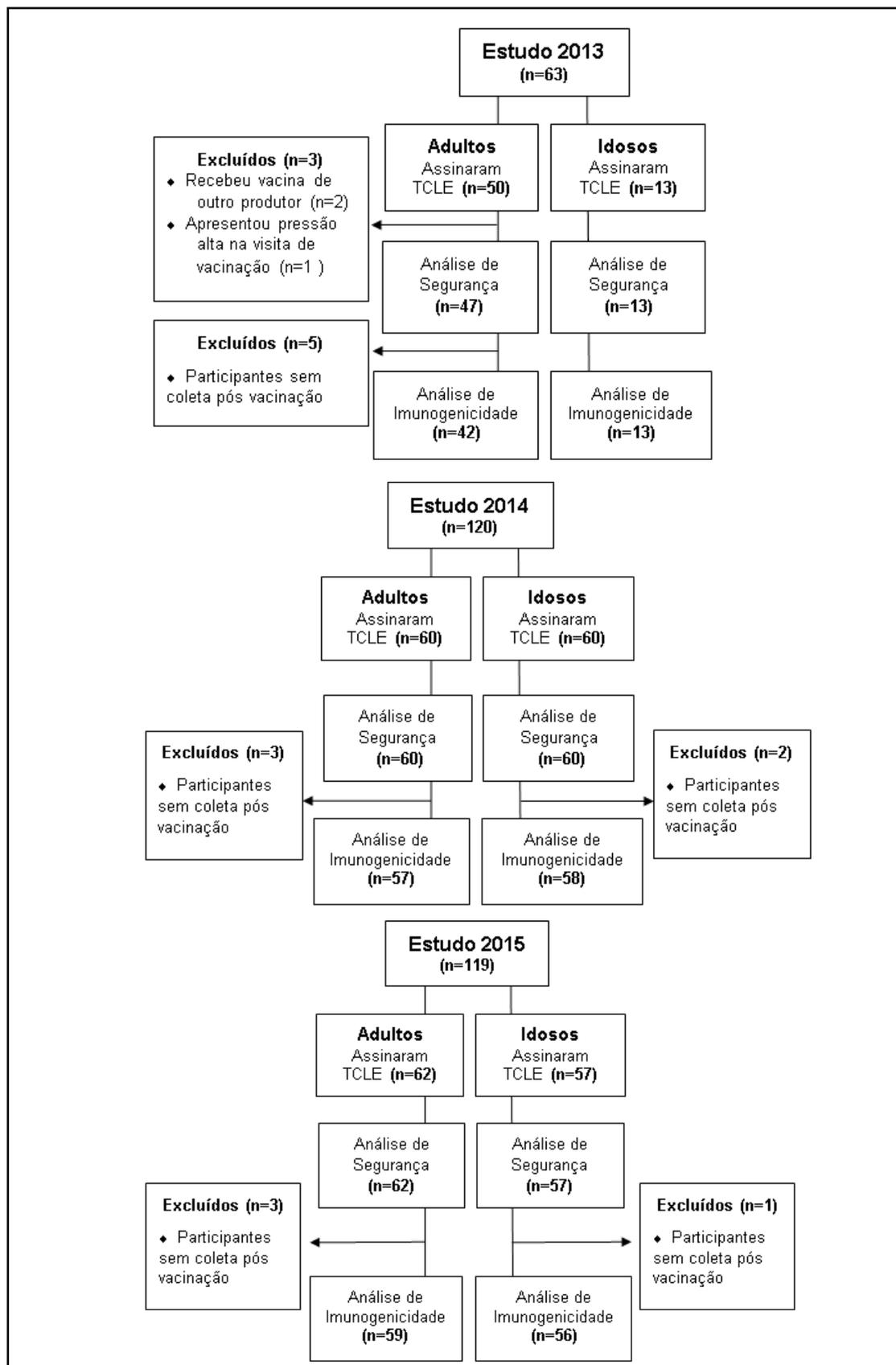


Figura 8 - Número de participantes incluídos na análise de segurança e de imunogenicidade segundo ano de vacinação e grupo etário

6.2.1 Estudo de 2013

Para o estudo de 2013 planejou-se o recrutamento de 50 adultos saudáveis e 50 idosos, no entanto apenas 63 (63% do tamanho amostral planejado) concordaram em participar do estudo e assinaram o TCLE, sendo 50 adultos e 13 idosos.

Dos 50 adultos que concordaram em participar do estudo apenas 47 (94%) foram incluídos na análise, uma vez que dois deles receberam uma vacina de influenza sazonal não produzida pelo IB e um apresentou-se hipertenso no dia da vacinação e, portanto, não foi vacinado. Em relação aos idosos, apenas 13 (26%) voluntários concordaram em participar do estudo e assinaram o TCLE.

A mediana da idade dos participantes adultos neste estudo foi 33,3 anos e dos idosos, 67,8 anos. Observou-se predomínio do sexo feminino e da raça branca nos dois grupos etários.

6.2.2 Estudo de 2014

Para o estudo de 2014 planejou-se o recrutamento de 60 adultos saudáveis e 60 idosos, sendo que 120 (100%) participantes concordaram em participar do estudo e assinaram o TCLE, sendo 60 adultos e 60 idosos.

A mediana da idade dos participantes adultos neste estudo foi 30,1 anos e dos idosos, 66,9 anos. Neste estudo também se observou predomínio do sexo feminino e da raça branca nos dois grupos etários.

6.2.3 Estudo de 2015

Para o estudo de 2015 planejou-se o recrutamento de 60 adultos saudáveis e 60 idosos, sendo que 119 (99,2%) participantes concordaram em participar do estudo e assinaram o TCLE. A exclusão de um voluntário se deveu ao fato dele ter recebido outra vacina influenza sazonal que não a do IB.

Sessenta e dois participantes adultos foram analisados no estudo, ao contrário dos 60 adultos planejados. Isso ocorreu porque dois participantes, quando vacinados, foram classificados como idosos, mas após a verificação dos dados, constatou-se que ambos tinham idade correspondente ao grupo de adultos.

A mediana da idade dos participantes adultos neste estudo foi 31,5 anos e dos idosos, 68,3 anos. Neste estudo também se observou predomínio do sexo feminino e da raça branca nos dois grupos etários.

6.3 Dados de Segurança

As reações adversas (RAs), solicitadas e não solicitadas, relatadas até o terceiro dia pós-vacinação, segundo ano de vacinação e grupo etário, estão descritas na Tabela 2. A classificação das RAs segundo ano de vacinação e grupo etário encontra-se descrita na Tabela 3.

Tabela 2 - Reações adversas segundo ano de estudo e grupo etário

VARIÁVEL	Estudo 2013 n=60		Estudo 2014 n=120		Estudo 2015 n=119	
	Adultos (n=47)	Idosos (n=13)	Adultos (n=60)	Idosos (n=60)	Adultos (n=62)	Idosos (n=57)
número de participantes com RA	24 (51,0%)	4 (30,8%)	41 (68,3%)	16 (26,7%)	33 (53,2%)	16 (28,1%)
	<i>p</i> =0,226*		<i>p</i> <0,001**		<i>p</i> =0,005**	
número de RAs	34	6	85	25	61	34
número de RAs por participante***						
média (dp)	1,4 (0,7)	1,5 (0,6)	2,1 (1,4)	1,6 (1,2)	1,8 (1,5)	2,1 (1,8)
mediana (min-máx)	1 (1 - 3)	1,5 (1 - 2)	1 (1 - 5)	1 (1 - 5)	1 (1 - 8)	1,5 (1 - 7)
Intensidade das RAs						
1	32 (94,1%)	6 (100%)	85 (100%)	25 (100%)	49 (80,3%)	24 (70,6%)
2	2 (5,9%)	-	-	-	12 (19,7%)	10 (29,4%)
tempo entre vacinação e início das RAs (dias)						
média (dp)	1,2 (0,9)	0,3 (0,8)	0,4 (0,6)	0,6 (0,9)	0,8 (0,8)	0,4 (0,8)
mediana (min-máx)	1 (0 - 3)	0 (0 - 2)	0 (0 - 3)	0 (0 - 3)	1 (0 - 3)	0 (0 - 3)
tempo de duração das RAs (dias)						
média (dp)	1,0 (2,2) ⁺	6,5 (9,3) ⁺⁺	1,9 (1,2)	2,0 (1,2)	1,4 (4,4)	1,1 (1,0)
mediana (min-máx)	0 (0 - 12) ⁺	3 (0 - 20) ⁺⁺	2 (0 - 7)	2 (0 - 6)	1 (0 - 34)	1 (0 - 3)

(*) teste exato de Fisher

(+) 4 RAs com dados ignorados

(**) teste qui-quadrado

(++) 2 RAs com dados ignorados

(***) dentre os que apresentaram RA

dp: desvio padrão

Tabela 3 - Distribuição das reações adversas solicitadas e não solicitadas segundo ano de vacinação e grupo etário

REAÇÕES ADVERSAS	Estudo 2013 n=60			Estudo 2014 n=120			Estudo 2015 n=119		
	Adultos (n=47)	Idosos (n=13)	<i>p</i> *	Adultos (n=60)	Idosos (n=60)	<i>p</i> *	Adultos (n=62)	Idosos (n=57)	<i>p</i> *
Solicitadas									
Locais									
Dor	15 (31,9)	2 (15,4)	0,314	40 (66,7)	12 (20,0)	<0,001	29 (46,8)	13 (22,8)	0,007
Eritema	1 (2,1)	-	0,596	-	-	-	1 (1,6)	2 (3,5)	0,606
Edema	-	-	-	2 (3,3)	-	0,496	4 (6,5)	2 (3,5)	0,681
Enduração	1 (2,1)	-	0,296	6 (10,0)	3 (5,0)	0,491	3 (4,8)	1 (1,8)	0,620
Equimose	-	1 (7,7)	0,217	2 (3,3)	1 (1,7)	>0,999	1 (1,6)	1 (1,8)	>0,999
Sistêmicas									
Febre	3 (6,4)	-	0,350	1 (1,7)	2 (3,3)	>0,999	3 (4,8)	3 (5,3)	>0,999
Calafrio	1 (2,1)	-	0,596	5 (8,3)	-	0,057	1 (1,6)	3 (5,3)	0,348
Cefaleia	4 (8,5)	1 (7,7)	0,925	11 (18,3)	3 (5,0)	0,086	7 (11,3)	4 (7,0)	0,533
Fadiga	-	-	-	8 (13,3)	2 (3,3)	0,047	2 (3,2)	1 (1,8)	>0,999
Mialgia	-	-	-	10 (16,7)	2 (3,3)	0,029	5 (8,1)	2 (3,5)	0,442
Não Solicitadas									
Dor de garganta	2 (4,2)	-	>0,999	-	-	-	-	-	-
Tosse	3 (6,4)	-	>0,999	-	-	-	-	-	-
Rinorreia	3 (6,4)	1 (7,7)	>0,999	-	-	-	-	-	-
Boca seca	-	-	-	-	-	-	1 (1,6)	-	>0,999
Dor das articulações	-	-	-	-	-	-	1 (1,6)	-	>0,999
Insonia	-	-	-	-	-	-	1 (1,6)	-	-
Náusea	-	-	-	-	-	-	-	1 (1,8)	0,479
Prurido	1 (2,1)	1 (7,7)	0,389	-	-	-	-	-	-
Prurido local da vacina	-	-	-	-	-	-	2 (3,2)	1 (1,8)	>0,999

(*) teste exato de Fisher

6.3.1 Estudo de 2013

Em 2013, 60 participantes foram incluídos na análise de segurança, 47 (78,3%) adultos e 13 (21,7%) idosos. O número total de adultos com RAs foi 24 (51,1%) e de idosos 4 (30,8%). Não houve diferença com significância estatística na ocorrência de RAs ao comparar adultos e idosos ($p=0,226$) (Tabela 2).

O número total de RAs foi 40, sendo 34 (85,0%) em adultos e 6 (15,0%) em idosos. O número médio de RAs por adulto foi 1,4 (desvio padrão (dp)=0,7) e por idoso 1,5 (dp=0,6).

Das 34 RAs observadas nos adultos, 32 (94,1%) foram classificadas como grau I (leve) e 2 (5,9%) como grau II (moderada). Nos idosos todas as RAs foram classificadas como grau I (leve). Não foram observadas RAs graves ou muito graves.

O tempo médio de aparecimento das RAs foi de 1,2 (dp=0,9) dias nos adultos e de 0,3 dias (dp=0,8) nos idosos. A duração média das RAs nos adultos foi de 1 (dp=2,2) dia e de 6,5 (dp=9,3) dias nos idosos.

As RAs locais solicitadas observadas em adultos foram dor, eritema e endureção, e nos idosos dor e equimose, sendo dor a RA local mais frequente em ambos os grupos (Tabela 3). Entre as RAs sistêmicas solicitadas observadas, as mais frequentes nos adultos foram cefaleia, febre e calafrio e entre os idosos, houve o registro de apenas um caso de cefaleia. Não houve diferença com significância estatística quanto à ocorrência das RAs locais e sistêmicas solicitadas ao comparar adultos e idosos. A ocorrência das RAs não solicitadas em adultos e idosos está também descrita na Tabela 3.

6.3.2 Estudo de 2014

Em 2014, 120 participantes idosos foram incluídos na análise de segurança, 60 (50,0%) adultos e 60 (50,0%). O número total de adultos com RAs foi 41 (68,3%) e de idosos 16 (30,8%). O número de adultos com RAs foi significativamente maior quando comparado ao número de idosos com RAs ($p < 0,001$) (Tabela 2).

O número total de RAs foi 110, sendo 85 (77,3%) em adultos e 25 (22,7%) em idosos. O número médio de RAs por adulto foi 2,1 ($dp=1,4$) e por idoso 1,6 ($dp=1,2$).

As 85 (100%) RAs observadas nos adultos e as 25 (100%) observadas nos idosos foram classificadas como grau I (leve). Não foram observadas RAs graves ou muito graves.

O tempo médio de aparecimento das RAs foi de 0,4 ($dp=0,6$) dias nos adultos e de 0,6 dias ($dp=0,9$) nos idosos. A duração média das RAs nos adultos foi de 1,9 ($dp=1,2$) dias e de 2,0 ($dp=1,2$) dias nos idosos.

As RAs locais solicitadas observadas em adultos foram dor, edema, enduração e equimose, e nos idosos, dor, enduração e equimose, sendo dor a RA local mais frequente em ambos os grupos (Tabela 3). A ocorrência de dor local foi maior, com significância estatística, nos adultos quando comparados aos idosos ($p < 0,001$). Todas as RAs sistêmicas solicitadas foram observadas nos adultos, ou seja, febre, calafrio, cefaleia, fadiga e mialgia, e nos idosos as mesmas observadas nos adultos com exceção de calafrios. A ocorrência de fadiga e mialgia foi significativamente maior nos adultos quando comparados aos idosos ($p=0,047$ e $p=0,029$, respectivamente). Não foram observadas RAs não solicitadas tanto nos adultos quanto nos idosos.

6.3.3 Estudo de 2015

Em 2015, 119 participantes idosos foram incluídos na análise de segurança, 62 (52,1%) adultos e 57 (47,9%) (Tabela 2). O número total de adultos com RAs foi 33 (53,2%) e de idosos 16 (28,1%). O número de adultos com RAs foi significativamente maior quando comparado ao número de idosos com RAs ($p=0,005$).

O número total de RAs foi 95, sendo 61 (64,2%) em adultos e 34 (35,8%) em idosos. O número médio de RAs por adulto foi 1,8 ($dp=1,5$) e por idoso 2,1 ($dp=1,8$).

Das 61 RAs observadas nos adultos, 49 (80,3%) foram classificadas como grau I (leve) e 12 (19,3%) como grau II (moderada). Nos idosos, das 34 RAs observadas, 24 (70,6%) foram classificadas como grau I (leve) e 10 (29,4%) como grau II (moderada). Não foram observadas RAs graves ou muito graves.

O tempo médio de aparecimento das RAs foi de 0,8 ($dp=0,8$) dias nos adultos e de 0,4 ($dp=0,8$) dias nos idosos. A duração média das RAs nos adultos foi de 1,4 ($dp=4,4$) dias e de 1,1 ($dp=1,0$) dias nos idosos.

Todas as RAs locais solicitadas foram observadas nos adultos e nos idosos, ou seja, dor, eritema, edema, endureção e equimose (Tabela 3). Dor foi a RA local mais frequente em ambos os grupos. A ocorrência de dor local foi maior, com significância estatística, nos adultos quando comparados aos idosos ($p=0,007$). Todas as RAs sistêmicas solicitadas foram observadas nos adultos e nos idosos, ou seja, febre, calafrio, cefaleia, fadiga e mialgia. Não houve diferença com significância estatística quanto à ocorrência das RAs sistêmicas solicitadas entre adultos e idosos. A ocorrência das RAs não solicitadas em adultos e idosos está também descrita na Tabela 3.

6.4 Dados de Imunogenicidade

Amostras sanguíneas para a análise de imunogenicidade foram coletadas no dia 0 (imediatamente antes da vacinação) e no dia 21 (+7) (pós-vacinação) de cada estudo. Os resultados de imunogenicidade dos estudos de 2013, 2014 e 2015 estão descritos nas Tabelas de 4 a 7.

6.4.1 Estudo de 2013

Dos 47 adultos incluídos na análise de segurança, 42 (89,4%) foram incluídos na análise de segurança; 5 adultos foram excluídos desta análise por não terem coletado sangue após a vacinação. Os 13 (100%) idosos incluídos na análise de segurança foram incluídos na análise de imunogenicidade.

Antes da vacinação, 50,0% dos adultos apresentaram títulos de anticorpos IH $\geq 1:40$ para os vírus H1N1, H3N2 e influenza B. Entre os idosos, 53,8% apresentaram títulos IH $\geq 1:40$ para o vírus H1N1 e 30,8% apresentaram para os vírus H3N2 e influenza B (Tabela 4).

Nos adultos, após a vacinação, observou-se porcentagem de soroproteção maior que 70% (H1N1: 95,2% [IC 95%: 83,8 - 99,4]; H3N2: 95,2% [IC 95%: 83,8 - 99,4]; B: 90,5% [IC 95%: 77,4 - 97,3]), porcentagem de soroconversão maior que 40% (H1N1: 57,1% [IC 95%: 41,0 - 72,3]; H3N2: 78,6% [IC 95%: 63,2 - 89,7]; B: 90,5% [IC 95%: 77,4 - 97,3]) e razão da média geométrica dos títulos de anticorpos IH maior que 2,5 (H1N1: 5,4 [IC 95%: 3,5 - 8,1]; H3N2: 9,6 [IC 95%: 6,5 - 14,1]; B: 3,6 [IC 95%: 2,7 - 4,8]), para os três vírus vacinais (Tabela 4).

Nos idosos, após a vacinação, observou-se porcentagem de soroproteção maior que 60% (H1N1: 100% [IC 95%: 75,3 - 100]; H3N2: 92,3% [IC 95%: 64,0

– 99,8]; B: 92,3% [IC 95%: 64,0 – 99,8]), porcentagem de soroconversão maior que 30% (H1N1: 76,9% [IC 95%: 46,2 - 95,0]; H3N2: 61,5% [IC 95%: 31,6 – 86,1]; B: 69,2% [IC 95%: 38,6 - 90,9]) e razão da média geométrica dos títulos de anticorpos IH maior que 2,0 (H1N1: 8,4 [IC 95%: 3,8 - 19,0]; H3N2: 8,4 [IC 95%: 3,4 - 21,0]; B: 4,5 [IC 95%: 2,4-8,2]), para os três vírus vacinais (Tabela 4).

Tabela 4 - Resultados dos títulos de anticorpos inibidores da hemaglutinação (IH) pré e pós-vacinação do estudo de 2013

RESULTADOS	Adultos (n=42)	Idosos (n=13)
	(IC 95%)	
Pré-vacinação		
IH ≥1:40		
H1N1	50,0% (34,2 – 65,8)	53,8% (25,1 – 80,8)
H3N2	50,0% (34,2 – 65,8)	30,8% (9,1 – 61,4)
B	50,0% (34,2 – 65,8)	30,8% (9,1 – 61,4)
Média Geométrica		
H1N1	31,2 (19,3 – 50,5)	32,3 (13,4 – 77,8)
H3N2	24,0 (16,1 – 35,8)	23,5 (10,5 – 52,5)
B	24,8 (17,3 – 35,5)	18,0 (10,8 – 29,9)
Pós-vacinação		
Média Geométrica		
H1N1	167,0 (119,0 – 234,4)	272,7 (167,3 – 444,4)
H3N2	230,0 (153,8 – 344,1)	198,0 (99,1 – 395,7)
B	89,8 (67,2 – 120,0)	80,0 (43,2 – 148,2)
Razão Média Geométrica		
H1N1	5,4 (3,52 – 8,1)	8,4 (3,8 – 19,0)
H3N2	9,6 (6,5 – 14,1)	8,4 (3,4 – 21,0)
B	3,6 (2,7 – 4,8)	4,5 (2,4 – 8,2)
Soroconversão		
H1N1	57,1% (41,0 – 72,3)	76,9% (46,2 – 95,0)
H3N2	78,6% (63,2 – 89,7)	61,5% (31,6 – 86,1)
B	52,4% (36,4 – 68,0)	69,2% (38,6 – 90,9)
Soroproteção		
H1N1	95,2% (83,8 – 99,4)	100% (75,3 – 100)
H3N2	95,2% (83,8 – 99,4)	92,3% (64,0 – 99,8)
B	90,5% (77,4 – 97,3)	92,3% (64,0 – 99,8)

6.4.2 Estudo de 2014

No estudo de 2014, dos 120 participantes incluídos no estudo, 115 (95,8%) realizaram coletas de sangue pré e pós-vacinação e, portanto, foram incluídos na análise de imunogenicidade, sendo 57 adultos e 58 idosos (Tabela 5). Três adultos e 2 idosos foram excluídos da análise de imunogenicidade por não apresentarem coleta de sangue pós-vacinação.

Antes da vacinação, 84,2% dos adultos apresentaram títulos de anticorpos IH \geq 1:40 para o vírus H1N1, 77,2% para o vírus H3N2 e 87,7% para o vírus B. Entre os idosos, 56,9% apresentavam títulos IH \geq 1:40 para o vírus H1N1, 81,0% para os vírus H3N2 e 74,1% para o vírus B (Tabela 5).

Nos adultos, após a vacinação, observou-se porcentagem de soroproteção maior que 70% (H1N1: 96,5% [IC 95%: 87,9 - 99,6]; H3N2: 98,2% [IC 95%: 90,6 - 100]; B: 100% [IC 95%: 93,7 - 100]) para os três vírus vacinais, porcentagem de soroconversão menor que 40% para os vírus três vacinais (H1N1: 38,6% [IC 95%: 26,0 - 52,4]; H3N2: 31,6% [IC 95%: 19,9 - 45,2]; B: 17,5% [IC 95%: 8,7 - 29,9]) e razão da média geométrica dos títulos de anticorpos IH maior que 2,5 apenas para os vírus vacinais H1N1 (2,6 [IC 95%: 2,2 - 3,1]) e H3N2 (2,8 [IC 95%: 2,1 - 3,7]). Para o vírus B observou-se razão da média geométrica dos títulos de anticorpos IH igual a 2,3 (IC 95%: 1,8 - 2,8) (Tabela 5).

Nos idosos, após a vacinação, observou-se porcentagem de soroproteção maior que 60% (H1N1: 93,1% [IC 95%: 83,3 - 98,1]; H3N2: 98,3% [IC 95%: 90,8 - 100]; B: 98,3% [IC 95%: 90,8 - 100]), porcentagem de soroconversão maior que 30% (H1N1: 48,3% [IC 95%: 35,0 - 61,8]; H3N2: 37,9% [IC 95%: 25,5 - 51,6]; B: 37,9% [IC 95%: 25,5 - 51,6]) e razão da média geométrica dos títulos de

anticorpos IH maior que 2,0 (H1N1: 3,9 [IC 95%: 3,1 - 5,0]; H3N2: 3,0 [IC 95%: 2,2 - 3,9]; B: 2,8 [IC 95%: 2,2 - 3,5]), para os três vírus vacinais (Tabela 5).

Tabela 5 - Resultados dos títulos de anticorpos inibidores da hemaglutinação (IH) pré e pós-vacinação do estudo de 2014

RESULTADOS	Adultos (n=57)	Idosos (n=58)
	(IC 95%)	
Pré-vacinação		
IH ≥1:40		
H1N1	84,2% (72,1 – 92,5)	56,9% (43,2 – 69,8)
H3N2	77,2% (64,2 – 87,3)	81,0% (68,6 – 90,1)
B	87,7% (76,3 – 94,9)	74,1% (61,0 – 84,7)
Média Geométrica		
H1N1	72,6 (54,2 – 97,2)	31,5 (23,3 – 42,6)
H3N2	74,4 (51,4 – 107,6)	78,1 (56,5 – 108,0)
B	180,7 (125,3 – 260,6)	57,9 (44,4 – 75,7)
Pós-vacinação		
Média Geométrica		
H1N1	187,4 (145,9 – 240,8)	123,0 (94,0 – 160,9)
H3N2	209,1 (165,3 – 264,5)	231,7 (182,8 – 293,7)
B	408,1 (305,5 – 545,3)	161,9 (125,6 – 208,8)
Razão Média Geométrica		
H1N1	2,6 (2,2 – 3,1)	3,9 (3,1 – 5,0)
H3N2	2,8 (2,1 – 3,7)	3,0 (2,2 – 3,9)
B	2,3 (1,8 – 2,8)	2,8 (2,2 – 3,5)
Soroconversão		
H1N1	38,6% (26,0 – 52,4)	48,3% (35,0 – 61,8)
H3N2	31,6% (19,9 – 45,2)	37,9% (25,5 – 51,6)
B	17,5% (8,7 – 29,9)	37,9% (25,5 – 51,6)
Soroproteção		
H1N1	96,5% (87,9 – 99,6)	93,1% (83,3 – 98,1)
H3N2	98,2% (90,6 – 100)	98,3% (90,8 – 100)
B	100% (93,7 – 100)	98,3% (90,8 – 100)

6.4.3 Estudo de 2015

No estudo de 2015 dos 119 participantes, 115 (96,6%) realizaram coletas de sangue pré e pós-vacinação e, portanto, foram incluídos na análise de imunogenicidade, sendo 59 adultos e 56 idosos (Tabela 6). Três adultos e um

idoso foram excluídos da análise de imunogenicidade por não apresentarem coleta de sangue pós-vacinação.

Antes da vacinação, 78,0% dos adultos apresentaram títulos de anticorpos IH $\geq 1:40$ para o vírus H1N1, 57,6% para o vírus H3N2 e 88,1% para o vírus B. Entre os idosos, 39,3% apresentavam títulos IH $\geq 1:40$ para o vírus H1N1, 48,2% para os vírus H3N2 e 62,5% para o vírus B (Tabela 6).

Nos adultos, após a vacinação, observou-se porcentagem de soroproteção maior que 70% (H1N1: 94,9% [IC 95%: 85,9 - 98,9]; H3N2: 98,3% [IC 95%: 90,9 - 100]; B: 96,6% [IC 95%: 88,3 - 99,6]) para os três vírus vacinais, porcentagem de soroconversão maior que 40% apenas para o vírus vacinal H3N2 (72,9% [IC 95%: 59,7 - 83,6]) e razão da média geométrica dos títulos de anticorpos IH maior que 2,5 apenas para o vírus vacinal H3N2 (5,5 [IC 95%: 4,1 - 7,3]). A porcentagem de soroconversão foi menor que 40% para os vírus vacinais H1N1 (15,3% [IC 95%: 7,2 - 27,0]) e influenza B (13,6% [IC 95%: 6,0 - 25,0]). A razão da média geométrica dos títulos de anticorpos IH menor que 2,5 também foi observada para estes vírus vacinais sendo para o H1N1 (1,9 [IC 95%: 1,6 - 2,4]) e para o vírus B (1,8 [IC 95%: 1,5 - 2,1]) (Tabela 6).

Nos idosos, após a vacinação, observou-se porcentagem de soroproteção maior que 60% para os três vírus vacinais (H1N1: 66,1% [IC 95%: 52,2 - 78,2]; H3N2: 87,5% [IC 95%: 75,9 - 94,8]; B: 87,5% [IC 95%: 75,9 - 94,8]), porcentagem de soroconversão maior que 30% apenas para os vírus vacinais H3N2 (67,9% [IC 95%: 54,0 - 79,7]) e influenza B (39,3% [IC 95%: 26,5 - 53,2]) e razão da média geométrica dos títulos de anticorpos IH maior que 2,0 para os três vírus vacinais (H1N1: 2,5 [IC 95%: 2,1 - 3,0]; H3N2: 6,2 [IC 95%: 4,7 - 8,2]; B: 2,6 [IC

95%: 2,1 - 3,2]). Para o vírus vacinal H1N1 a porcentagem de soroconversão foi inferior a 30% (25,0% [IC 95%: 14,4 - 38,4]).

Tabela 6 - Resultados dos títulos de anticorpos inibidores da hemaglutinação (IH) pré e pós-vacinação do estudo de 2015

RESULTADOS	Adultos (n=59)	Idosos (n=56)
	(IC 95%)	
Pré-vacinação		
IH \geq1:40		
H1N1	78,0% (65,3 – 87,7)	39,3% (26,5 – 53,2)
H3N2	57,6% (44,1 – 70,4)	48,2% (34,7 – 62,0)
B	88,1% (77,1 – 95,1)	62,5% (48,5 – 75,1)
Média Geométrica		
H1N1	69,5 (53,3 – 90,6)	23,8 (17,9 – 31,5)
H3N2	33,1 (23,9 – 45,9)	29,0 (22,1 – 38,0)
B	81,9 (64,8 – 103,6)	38,5 (30,1 – 49,4)
Pós-vacinação		
Média Geométrica		
H1N1	134,1 (106,2 – 169,5)	59,4 (45,0 – 78,5)
H3N2	182,1 (140,9 – 235,3)	178,9 (128,6 – 248,7)
B	143,9 (115,0 – 180,2)	100,0 (78,4 – 127,5)
Razão Média Geométrica		
H1N1	1,9 (1,6 – 2,4)	2,5 (2,1 – 3,0)
H3N2	5,5 (4,1 – 7,3)	6,2 (4,7 – 8,2)
B	1,8 (1,5 – 2,1)	2,6 (2,1 – 3,2)
Soroconversão		
H1N1	15,3% (7,2 – 27,0)	25,0% (14,4 – 38,4)
H3N2	72,9% (59,7 – 83,6)	67,9% (54,0 – 79,7)
B	13,6% (6,0 – 25,0)	39,3% (26,5 – 53,2)
Soroproteção		
H1N1	94,9% (85,9 – 98,9)	66,1% (52,2 – 78,2)
H3N2	98,3% (90,9 – 100)	87,5% (75,9 – 94,8)
B	96,6% (88,3 – 99,6)	87,5% (75,9 – 94,8)

6.4.4 Comparação da razão da média geométrica dos títulos de anticorpos IH e porcentagem de soroconversão, pós-vacinação, entre participantes com títulos de anticorpos IH <1:40 e \geq 1:40 no período pré-vacinação

Os resultados das comparações das RMGTs e das porcentagens de SC segundo resultados da pré-vacinação (<1:40 e \geq 1:40) nos estudos de 2013, 2014 e 2015 estão descritos na Tabela 7.

Tabela 7 - Razão da média geométrica dos títulos de anticorpos inibidores da hemaglutinação (IH) e porcentagem de soroconversão pós vacinação segundo ano de estudo e resultado pré-vacinação

RESULTADOS	Adultos				p*	Idosos				p*
	<1:40		≥1:40			<1:40		≥1:40		
	n	(IC 95%)	n	(IC 95%)		n	(IC 95%)	n	(IC 95%)	
Estudo 2013										
RMGT										
H1N1	21	13,6 (7,9 - 23,4)	21	2,1 (1,6 - 2,8)	<0,001	6	25,4 (9,4 - 68,6)	7	3,3 (1,6 - 6,7)	0,009
H3N2	21	15,0 (8,5 - 26,5)	21	6,1 (3,8 - 10,0)	0,023	9	16,0 (5,5 - 46,4)	4	2,0 (2,0 - 2,0)	0,011
B	21	5,9 (4,4 - 8,0)	21	2,2 (1,5 - 3,3)	<0,001	9	5,4 (2,7 - 11,1)	4	2,8 (0,4 - 19,1)	0,337
Soroconversão										
H1N1	21	90,5% (69,6 - 98,8)	21	23,8% (8,2 - 47,2)	<0,001	6	100% (54,1 - 100)	7	57,1% (18,4 - 90,1)	0,192
H3N2	21	85,7% (63,7 - 97,0)	21	71,4% (47,8 - 88,7)	0,454	9	88,9% (51,8 - 99,7)	4	0,0% (0,0 - 60,2)	0,007
B	21	76,2% (52,8 - 91,8)	21	28,6% (11,3 - 52,2)	0,005	9	77,8% (40,0 - 97,2)	4	50,0% (6,8 - 93,2)	0,530
Estudo 2014										
RMGT										
H1N1	9	4,3 (2,6 - 7,1)	48	2,3 (2,0 - 2,8)	0,011	25	5,6 (3,8 - 8,2)	33	3,0 (2,2 - 4,0)	0,005
H3N2	13	9,4 (4,0 - 22,1)	44	2,0 (1,7 - 2,3)	<0,001	11	10,3 (3,9 - 26,9)	47	2,2 (1,8 - 2,7)	<0,001
B	7	8,0 (2,5 - 25,8)	50	1,9 (1,6 - 2,2)	<0,001	15	4,6 (2,7 - 7,9)	43	2,3 (1,8 - 3,0)	0,010
Soroconversão										
H1N1	9	66,7% (29,9 - 92,5)	48	33,3% (20,4 - 48,4)	0,075	25	68,0% (46,5 - 85,1)	33	33,3% (18,0 - 51,8)	0,016
H3N2	13	69,2% (38,6 - 90,9)	44	20,5% (9,8 - 35,3)	0,002	11	81,8% (48,2 - 97,7)	47	27,7% (15,6 - 42,6)	0,001
B	7	71,4% (29,0 - 96,3)	50	10,0% (3,3 - 21,8)	0,001	15	66,7% (38,4 - 88,2)	43	27,9% (15,3 - 43,7)	0,013
Estudo 2015										
RMGT										
H1N1	13	3,8 (2,0 - 7,3)	46	1,6 (1,4 - 1,9)	0,002	34	2,9 (2,3 - 3,7)	22	2,0 (1,6 - 2,5)	0,044
H3N2	25	10,6 (7,5 - 14,8)	34	3,4 (2,4 - 4,8)	<0,001	29	8,0 (5,5 - 11,7)	27	4,7 (3,1 - 7,0)	0,053
B	7	3,3 (1,4 - 7,9)	52	1,6 (1,4 - 1,9)	0,028	21	3,7 (2,5 - 5,6)	35	2,1 (1,6 - 2,7)	0,014
Soroconversão										
H1N1	13	38,5% (13,9 - 68,4)	46	8,7% (2,4 - 20,8)	0,019	34	29,4% (15,1 - 47,5)	22	18,2% (5,2 - 40,3)	0,529
H3N2	25	96,0% (79,6 - 99,9)	34	55,9% (37,9 - 72,8)	0,001	29	72,4% (52,8 - 87,3)	27	63,0% (42,4 - 80,6)	0,570
B	7	42,9% (9,9 - 81,6)	52	9,6% (3,2 - 21,0)	0,046	21	47,6% (25,7 - 70,2)	35	34,3% (19,1 - 52,2)	0,401

RMGT: razão da média geométrica dos títulos

6.4.4.1 Estudo de 2013

No estudo de 2013, entre os adultos com títulos de anticorpo IH <1:40 antes da vacinação, as razões da média geométrica dos títulos de anticorpos IH para os três vírus vacinais foram maiores, com significância estatística, que as razões observadas entre os adultos que tinham títulos de anticorpos IH pré-vacinação $\geq 1:40$ (H1N1: $p < 0,001$; H3N2: $p < 0,023$; influenza B: $p < 0,001$) (Tabela 7).

A porcentagem de soroconversão para os vírus vacinais H1N1 e influenza B foi maior, com significância estatística, entre os adultos com títulos de anticorpo IH <1:40 antes da vacinação quando comparada à porcentagem de soroconversão observada nos adultos com títulos de anticorpos IH pré-vacinação $\geq 1:40$ (H1N1: $p < 0,001$; influenza B: $p = 0,005$, respectivamente). No entanto não se observou diferença, com significância estatística, na porcentagem de soroconversão para o vírus H3N2 ($p = 0,454$) entre esses dois subgrupos (Tabela 7).

Nos idosos com títulos de anticorpo IH <1:40 antes da vacinação, as razões da média geométrica dos títulos de anticorpos IH para os vírus vacinais H1N1 e H3N2 foram maiores, com significância estatística, que as razões observadas entre os idosos que tinham títulos de anticorpos IH pré-vacinação $\geq 1:40$, (H1N1: $p = 0,009$; H3N2: $p = 0,011$, respectivamente). No entanto não se observou diferença, com significância estatística, na razão da média geométrica dos títulos de anticorpos IH para o vírus influenza B ($p = 0,337$) entre esses dois subgrupos de idosos (Tabela 7).

A porcentagem de soroconversão para o vírus H3N2 foi maior, com significância estatística, nos idosos com títulos de anticorpo IH <1:40 antes da

vacinação quando comparada à porcentagem de soroconversão observada entre os idosos com títulos de anticorpos IH pré-vacinação $\geq 1:40$ ($p=0,007$). No entanto, não se observou diferença estatisticamente significativa quanto a porcentagem de soroconversão para os vírus H1N1 e influenza B ($p=0,192$ e $p=0,530$, respectivamente) entre esses dois subgrupos de idosos (Tabela 7).

6.4.4.2 Estudo de 2014

No estudo de 2014, entre os adultos com títulos de anticorpo IH $< 1:40$ antes da vacinação, as razões da média geométrica dos títulos de anticorpos IH para os três vírus vacinais foram maiores, com significância estatística, que as razões observadas entre os adultos que tinham títulos de anticorpos IH pré-vacinação $\geq 1:40$ (H1N1: $p=0,011$; H3N2: $p<0,001$; B: $p<0,001$) (Tabela 7).

A porcentagem de soroconversão para os vírus vacinais H3N2 e influenza B também foi maior, com significância estatística, entre os adultos com títulos de anticorpo IH $< 1:40$ antes da vacinação quando comparada à porcentagem de soroconversão observada nos adultos com títulos de anticorpos IH pré-vacinação $\geq 1:40$ (H3N2: $p=0,002$; B: $p=0,001$). No entanto, não se observou diferença, com significância estatística, para a porcentagem de soroconversão para os vírus H1N1 ($p=0,075$) entre esses dois subgrupos de adultos (Tabela 7).

Nos idosos com títulos de anticorpo IH $< 1:40$ antes da vacinação, as razões da média geométrica dos títulos de anticorpos IH para os três vírus vacinais foram maiores, com significância estatística, que as razões observadas entre os idosos que tinham títulos de anticorpos IH pré-vacinação $\geq 1:40$, (H1N1 $p=0,005$; H3N2: $p<0,011$; B: $p<0,010$). (Tabela 7).

A porcentagem de soroconversão para os três vírus vacinais foi maior, com significância estatística, nos idosos com títulos de anticorpo IH <1:40 antes da vacinação quando comparada à porcentagem de soroconversão observada entre nos idosos com títulos de anticorpos IH pré-vacinação \geq 1:40 (H1N1: $p=0,016$; H3N2: $p=0,001$; B: $p=0,013$) (Tabela 7).

6.4.4.3 Estudo de 2015

No estudo de 2015, entre os adultos com títulos de anticorpo IH <1:40 antes da vacinação, as razões da média geométrica dos títulos de anticorpos IH para os três vírus vacinais foram maiores, com significância estatística, que as razões observadas nos adultos que tinham títulos de anticorpos IH pré-vacinação \geq 1:40 (H1N1: $p=0,002$; H3N2: $p<0,001$; B: $p=0,028$) (Tabela 7).

A porcentagem de soroconversão para os três vírus vacinais foi maior, com significância estatística, nos adultos com títulos de anticorpo IH <1:40 antes da vacinação quando comparada a porcentagem de soroconversão observada entre os adultos com títulos de anticorpos IH pré-vacinação \geq 1:40 (H1N1: $p=0,019$; H3N2: $p=0,001$; B: $p=0,046$) (Tabela 7).

Nos idosos com títulos de anticorpo IH <1:40 antes da vacinação, as razões da média geométrica dos títulos de anticorpos IH para os vírus vacinais H1N1 e influenza B foram maiores, com significância estatística, que as razões observadas nos idosos que tinham títulos de anticorpos IH pré-vacinação \geq 1:40, (H1N1: $p=0,044$; B: $p=0,014$, respectivamente). No entanto, não se observou diferença, com significância estatística, quanto à razão da média geométrica dos títulos de anticorpos IH para o vírus H3N2 ($p=0,053$) entre esses dois subgrupos de idosos (Tabela 7).

Não houve diferença estatisticamente significativa quanto à porcentagem de soroconversão, para os três vírus vacinais, entre idosos com títulos de anticorpos IH <1:40 e os com títulos de anticorpos IH ≥1:40, antes da vacinação (H1N1: $p=0,529$; H3N2: $p=0,570$; B: $p=0,401$) (Tabela 7).

7 DISCUSSÃO DOS RESULTADOS

A vacinação anual é recomendada pela OMS como a medida mais efetiva contra a influenza sazonal. No Brasil, o Programa Nacional de Imunizações (PNI), da Secretaria de Vigilância em Saúde do Ministério da Saúde, realiza campanhas anuais de vacinação contra influenza sazonal desde 1999.

A produção de vacina influenza sazonal no Instituto Butantan resultou do programa de transferência de tecnologia estabelecido entre este instituto e a empresa Sanofi Pasteur em 1999 ⁽²⁷⁾. Com esse programa, o IB absorveu a tecnologia de produção (ovos embrionados de galinha) da vacina influenza sazonal inativada e fragmentada (“split vírus”) trivalente (2 cepas do vírus influenza A e uma linhagem do vírus influenza B).

No momento da definição do programa de transferência de tecnologia estabeleceu-se também a capacidade produtiva de 20 milhões de dose visando a atender a campanha nacional de imunização para influenza do PNI, que na época indicava a imunização apenas para idosos. Com a tecnologia absorvida integralmente o IB passou a entregar a vacina sazonal de influenza para o PNI em 2013, momento este que já se deparava com um novo desafio, o de aumentar a sua capacidade de produção anual da vacina influenza sazonal, uma vez que o PNI passou a indicar novos grupos populacionais para a imunização anual. A capacidade produtiva anual do IB foi aumentando paulatinamente desde 2013 até que em 2018 o instituto foi capaz de produzir e disponibilizar ao PNI 60 milhões de dose da vacina.

De 2013 a 2015, a ANVISA solicitou ao IB a realização de estudos prospectivos pós-registro para a demonstração da segurança e da

imunogenicidade em adultos saudáveis e idosos. Em comum acordo com a ANVISA e seguindo as recomendações da EMA para a realização de ensaios clínicos com vacina sazonal de influenza (referencia), desenhou-se os estudos aqui descritos, com um pequeno número de participantes, mínimo de 50 para cada grupo de estudo. A definição de um número reduzido de participantes nos estudos se deveu ao fato da vacina do IB ser o resultado de um processo de transferência de tecnologia, portanto considerada exatamente “igual” à vacina de influenza sazonal da empresa Sanofi Pasteur, sendo que para esta vacina já existiam dados suficientes demonstrando a sua segurança e a sua imunogenicidade. Além disso, a EMA também recomendava, para a atualização anual de cepas da vacina influenza sazonal, a realização de estudos com um número pequeno de participantes. Associado as essas justificativas, ressalta-se que o consenso internacional prioriza as atividades de farmacovigilância como o principal mecanismo de monitoramento das potenciais reações adversas associadas as vacinas de influenza sazonal. Em outras palavras, potenciais reações adversas raras e graves, com a Síndrome de Guillain-Barré, não são considerados desfechos a serem monitorados em tais estudos clínicos pós-registro de atualização anual de cepas.

Entre as estratégias da Divisão de Ensaios Clínicos e Farmacovigilância do IB para a realização de estudos clínicos com imunobiológicos produzidos pelo instituto destaca-se o estabelecimento de parcerias com instituições nacionais ligadas ao Sistema Único de Saúde (SUS). Entre essas parcerias destacam-se as realizadas com serviços de saúde associados às universidades brasileiras e o Instituto Adolfo Lutz, sendo os centros de pesquisa clínica das universidades os locais onde os ensaios clínicos são realizados e o Instituto Adolfo Lutz o local

de realização dos testes laboratoriais para as avaliações imunológicas de resposta a vacinação e análises sorológicas. Ou seja, tais parcerias têm possibilitado a integração entre pesquisa básica de imunobiológicos, desenvolvimento e produção de vacinas e realização de estudos clínicos, completando assim o processo de inovação caracterizado pela disponibilização de vacinas produzidas por laboratórios públicos brasileiros para o SUS. Nos estudos da vacina influenza em 2013, 2014 e 2015 houve a participação do Instituto Adolfo Lutz, do Centro de Referência de Imunobiológicos Especiais (CRIE) do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo e do Centro de Pesquisa Clínica do Instituto da Criança do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.

Um total de 299 voluntários participaram dos estudos, 59 em 2013, 120 em 2014 e 119 em 2013. O estudo de 2013 teve o menor número de participantes, 47 adultos e 13 idosos. A principal razão pelo número reduzido de participantes foi o tempo prolongado para a obtenção das aprovações necessárias comprometendo o processo de recrutamento durante a campanha nacional de imunização para influenza daquele ano.

No estudo de 2013, as idades medianas dos participantes adultos e idosos foram 33.3 e 67.8 anos, respectivamente; em 2014 30.1 e 66.9 anos, respectivamente; e em 2015 31.5 e 68.3 anos, respectivamente. Esses valores confirmam a participação de dois grupos distintos de estudo quanto à idade. Embora a participação de voluntários do sexo feminino tenha sido maior que a de participantes do sexo masculino, nos três estudos, apenas no estudo de 2013 a participação do sexo feminino foi significativamente superior à do sexo masculino. Em outros estudos realizados pela Divisão de Ensaios Clínicos e

Farmacovigilância do IB (referencia) também se observou a predominância de participação de voluntários do sexo feminino.

Os achados de segurança descritos para as vacinas de 2013, 2014 e 2015 mostram que elas foram bem toleradas e que nenhum evento não-esperado ou novo sinal de segurança foram observados. As reações adversas observadas nos adultos e nos idosos foram classificadas predominantemente como leves e moderadas e nenhuma como grave. Além disso, foram observadas predominantemente nas primeiras 24 horas após a vacinação e desapareceram predominantemente até 7 dias. Reações adversas predominantemente leves ou moderadas, com aparecimento nas primeiras 24 horas após a vacinação e resolução até 7 dias são achados comuns descritos para outras vacinas de influenza sazonal trivalentes e inativadas ^(34, 51).

A reação adversa local observada com maior frequência, tanto em adultos quanto nos idosos, nos três estudos, foi dor no local da aplicação da vacina, e a sistêmica cefaleia. Tais reações adversas também têm sido descritas na literatura como as principais reações adversas associadas a imunização com vacina influenza sazonal trivalente e inativada ^(33, 35-37). Os poucos episódios de febre observados também são reconhecidos como potenciais reações adversas associadas a este tipo de vacina e não são considerados graves ou associados às complicações ⁽⁵²⁾.

Os resultados de imunogenicidade demonstrados para as vacinas de influenza de 2013, 2014 e 2015 confirmaram que essas vacinas foram imunogênicas, tanto em adultos como em idosos, uma vez que pelo menos um dos critérios de imunogenicidade descritos pela EMA foi observado para os três vírus vacinais.

A imunogenicidade da vacina de 2013 foi demonstrada tanto em adultos como nos idosos, para os três vírus vacinais, pelas taxas de soroconversão e soroproteção e também pela razão da média geométrica de anticorpos IH. No estudo de 2014 a imunogenicidade da vacina foi demonstrada, para os três vírus vacinais, nos adultos pela taxa de soroproteção, e nos idosos pelas taxas de soroconversão e proteção, e também pela razão da média geométrica de anticorpos IH. No estudo de 2015 a imunogenicidade foi demonstrada, para os três vírus vacinais, nos adultos pela taxa de soroproteção, e nos idosos pela taxa de soroproteção e pela razão da média geométrica de anticorpos IH.

Surpreendentemente, valores adequados de porcentagem de soroconversão não foram observados para os três vírus vacinais, entre os adultos, no estudo de 2014 e, especificamente, para os vírus H1N1 e influenza B no estudo de 2015. No entanto, quando se analisa a porcentagem de soroconversão no estudo de 2014, entre os adultos, observam-se valores significativamente maiores desta porcentagem, para os vírus vacinais H3N2 e influenza B, entre os participantes que tinham títulos de anticorpos IH <1:40 antes da vacinação quando comparados àqueles que tinham títulos de anticorpos IH \geq 1:40. Ressaltando que a porcentagem de soroconversão acabou sendo maior que 40% entre os que tinham títulos de anticorpos IH <1:40 antes da vacinação.

No estudo de 2015 também se observaram valores significativamente maiores na porcentagem de soroconversão para os vírus vacinais H1N1 e influenza B, nos adultos com títulos de anticorpos IH <1:40 antes da vacinação quando comparados àqueles que tinham títulos de anticorpos IH \geq 1:40 antes da vacinação. Mesmo assim, não se observou porcentagem de soroconversão

acima de 40% para o vírus vacinal H1N1 entre os adultos com títulos de anticorpos IH <1:40. Esses achados sugerem que, em adultos, os níveis de anticorpos IH pré-vacinais podem impactar na porcentagem de soroconversão para a vacina da influenza e que esse impacto é cepa-específico.

Finalizando, ressalta-se que a experiência adquirida pelo Instituto Butantan na produção de vacina influenza e na realização de ensaios clínicos tem obtido reconhecimento nacional e internacional. Além disso, o IB tem sido considerado, enquanto produtor público de vacinas, fundamental para contribuir com programas de imunização global.

8 CONCLUSÃO

Os resultados deste estudo demonstraram que as vacinas influenza sazonal 2013, 2014 e 2015 (inativadas e particuladas) produzidas integralmente pelo Instituto Butantan foram bem toleradas e seguras, uma vez que nenhum evento não-esperado ou novo sinal de segurança foram observados. Além disso, demonstrou-se que essas vacinas foram consideradas imunogênicas com base nos parâmetros de imunogenicidade definidos pela EMA. Os resultados satisfatórios de segurança e imunogenicidade demonstrados ao longo dos três anos de estudo confirmaram a consistência de produção de vacina influenza sazonal pelo Instituto Butantan.

9 PERSPECTIVAS FUTURAS

9.1 Vacina influenza sazonal (inativada e particulada) quadrivalente

O Instituto Butantan já iniciou o programa de desenvolvimento produtivo e clínico de uma vacina influenza sazonal (inativada e particulada) quadrivalente. Por estar em fase inicial ainda não é possível definir quando esta vacina estará disponível para o Programa Nacional de Imunizações;

9.2 Programas de desenvolvimento de adjuvantes

Além de vacina influenza sazonal (inativada e particulada) sem adjuvante, o Instituto Butantan também tem investido em programas de desenvolvimento de adjuvantes que poderão, eventualmente, ser adicionados não somente à vacina de influenza sazonal, mas também à outras vacinas em desenvolvimento por este instituto.

10 ANEXOS

10.1 Anexo A – Cartão do Participante estudos 2013, 2014 e 2015

ATRÁS	Centro de Pesquisa: _____ Telefone: _____ horário comercial _____ Pesquisador _____	CARTÃO DO PARTICIPANTE Estudo de Coorte Prospectivo para Avaliar a Segurança e Imunogenicidade da Vacina Influenza Sazonal (Fragmentada e Inativada) do Instituto Butantan em Adultos e Idosos Saudáveis. Nome: _____ Id: _____	FRENTE																			
	Controle de Temperatura nos 3 dias após a vacinação Data da Vacinação ____/____/____ 1º Dia ____/____/____ Temperatura: _____ °C 2º Dia ____/____/____ Temperatura: _____ °C 3º Dia ____/____/____ Temperatura: _____ °C	COMPARECER NO CENTRO DE PESQUISA: <table border="1"> <thead> <tr> <th>DIA</th> <th>HORA</th> <th>DESCRIÇÃO DA VISITA</th> <th>AGENDADO POR</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td> </td> <td> </td> <td> </td> <td> </td> </tr> <tr> <td> </td> <td> </td> <td> </td> <td> </td> </tr> <tr> <td> </td> <td> </td> <td> </td> <td> </td> </tr> <tr> <td> </td> <td> </td> <td> </td> <td> </td> </tr> </tbody> </table>		DIA	HORA	DESCRIÇÃO DA VISITA	AGENDADO POR															
DIA	HORA	DESCRIÇÃO DA VISITA	AGENDADO POR																			

10.2 Anexo B – TCLE Estudo de 2013

Termo de Consentimento Livre e Esclarecido
 FLU-01-1B
 Versão 1.0 de 25 de Abril de 2013
 Página 1 de 6

CRIE e Instituto da Criança
 Hospital das Clínicas da FMUSP
 HU-USP

Instituto da Criança e CRIE do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina e Hospital Universitário da
 Universidade de São Paulo HCFMUSP / HU-USP

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

DADOS DO PARTICIPANTE

Nome:

Documento de Identidade: Sexo: M [] F []

Data de Nascimento:/...../.....

Endereço: N° Apto

Bairro: CEP:

Cidade: Estado: País:

Telefones: /

E-mail (opcional):.....

DADOS SOBRE A PESQUISA

Título: Estudo de Coorte Prospectivo para Avaliar a Segurança e Imunogenicidade da Vacina Influenza Sazonal (Fragmentada e Inativada) do Instituto Butantan em Adultos Saudáveis e Idosos

Versão: 1.0 de 25 de Abril de 2013

Patrocinador: Instituto Butantan

Avaliação do risco da pesquisa: Risco Baixo

Locais de Pesquisa	Investigador Principal	Telefone
Centro de Pesquisas Clínicas do Instituto da Criança do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo	Dra. Lúcia Maria Mattei de Arruda Campos	11 2661-8833
Centro de Referência de Imunobiológicos Especiais (CRIE) – Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo	Dra. Marta Heloisa Lopes	11 2661-6392
Hospital Universitário da Universidade de São Paulo HU-USP	Dra. Valeria Cassettari	11 3091-9242

Este termo de consentimento livre e esclarecido pode conter palavras que você não compreenda. Por favor, peça ao médico ou a outra pessoa da equipe do estudo para explicar o que significa qualquer palavra ou informação que você não entenda. Antes de assinar, você pode levar para casa uma cópia deste documento para pensar a respeito ou conversar com sua família ou amigos antes de tomar sua decisão.

Rubrica do pesquisador: _____

Rubrica do Participante: _____

OBJETIVO DO ESTUDO

A gripe é uma doença causada por vírus conhecidos pelo nome de influenza, ela é facilmente transmissível de pessoa para pessoa e pode acometer pessoas de qualquer idade. Segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS), todo ano ocorrem de 3 a 5 milhões de casos graves da doença e de 250.000 a 500.000 mortes. Existem três vírus diferentes de influenza que causam de gripe em humanos e por isso a vacina protege contra estes três vírus. Como o vírus da gripe tem grande capacidade de se modificar e a proteção da vacina dura entre 6 e 12 meses, cada ano é necessário que as pessoas se vacinem.

O Ministério da Saúde promove campanhas anuais de vacinação contra a gripe, e você está sendo convidado a participar de um estudo que deseja avaliar a resposta de uma das vacinas utilizadas na campanha, a vacina produzida pelo Instituto Butantan. É importante ressaltar que você será vacinado(a) mesmo se decidir não participar do estudo, a vacinação não faz parte dos procedimentos do estudo.

QUEM É CONVIDADO A PARTICIPAR?

Homens e mulheres maiores de 18 anos que recebem a vacina de influenza conforme a indicação do Ministério da Saúde neste ano de 2013. Se concordar, você deve assinar este Termo de Consentimento Informado, mas é importante que você só faça isso depois de ler todo o documento e tirar todas as dúvidas com a equipe do estudo.

COMO SERÁ O ESTUDO?

Este estudo tem duração de 21 dias, e começa no dia que você assinar este documento e receber a vacina. Você terá que vir ao centro de pesquisa duas (2) vezes: no dia que tomar a vacina e 21 dias depois. Abaixo está escrito tudo que acontecerá nestes 2 dias:

➤ Dia da Vacinação

- Você passará por uma consulta médica para saber se há alguma condição que impeça a sua participação nesse estudo;
- Será coletada uma amostra de sangue (5 ml) para um teste de laboratório que serve para avaliar se você ficou protegido contra cada um dos três principais vírus que causam a gripe;
- Você será vacinado e ficará em observação por 30 minutos;

Rubrica do pesquisador: _____

Rubrica do Participante: _____

- Antes de ser liberado você receberá um termômetro e o seu Cartão do Participante, pedimos que você meça sua temperatura nos três dias após a vacinação e anote no cartão.

Nos 3 dias depois de receber a vacina você receberá um telefonema de um dos membros da equipe para saber como você está sentindo e se teve febre. Durante este telefonema você deverá ter o seu “Cartão do Participante” com você e dizer qual foi sua temperatura naquele dia. Todos os contatos serão feitos somente através de números telefônicos, email ou endereço autorizado por você.

➤ **2ª Visita (21 dias após a vacinação)**

- Você passará por uma consulta médica para sabermos se aconteceu algo relacionado à sua saúde após a vacinação;
- Será feita a coleta de sangue (5 ml), para que o teste para o teste de laboratório que avalia se você ficou protegido ou não contra cada um dos três principais vírus que causam a gripe.

Entrega do resultado laboratorial

Assim que o resultado do teste de laboratório que avalia se você ficou protegido ou não contra cada um dos três principais vírus que causam a gripe ficar pronto entraremos em contato com você para combinar a maneira mais conveniente para você receber esse resultado.

DESCONFORTOS E RISCOS ESPERADOS

• **Punção venosa (coleta de sangue)**

O local da coleta de sangue pode ficar roxo e/ou dolorido. Desmaio ou infecção no local da coleta pode ocorrer raramente. Para diminuir esses riscos, a coleta de sangue será realizada com material descartável por pessoal treinado e experiente.

• **Vacinação**

A vacinação não faz parte dos procedimentos do estudo, você está recebendo a vacina pois tem indicação de ser vacinado conforme as orientações do Ministério da Saúde. Como todo medicamento, a vacina contra gripe pode provocar reações adversas, caso tenha alguma dúvida a este respeito solicite esclarecimentos com o seu médico.

• **Outros riscos**

O uso de alguns remédios pode diminuir a resposta à vacina. Por favor, não use nenhum remédio sem consultar o médico.

Rubrica do pesquisador: _____

Rubrica do Participante: _____

INTERRUPÇÃO NA PARTICIPAÇÃO NO ESTUDO

A participação nesse estudo é voluntária. Se você escolher não participar seus direitos serão preservados e não sofrerá nenhum tipo de punição. Se decidir participar, você poderá se retirar do estudo a qualquer momento, sem nenhum tipo de prejuízo ou recusar qualquer procedimento, nesse caso, por favor, comunique a equipe do estudo.

GARANTIA DE ACESSO

A qualquer momento, se você tiver alguma preocupação ou dúvidas sobre a pesquisa, poderá entrar em contato com o responsável pelo estudo no centro de pesquisa:

Centro de Pesquisa Clínica: Centro de Referência de Imunobiológicos Especiais (CRIE) – Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo

Endereço:

Av. Dr. Enéas de Carvalho Aguiar, 155 Prédio dos Ambulatórios bloco 8
 São Paulo – SP / Brasil 05403-000

Médico Responsável: Dra. Marta Heloisa Lopes

Telefones (horário comercial): 11 2661-6392

Centro de Pesquisa Clínica: Centro de Pesquisas Clínicas do Instituto da Criança do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo

Endereço:

Av. Enéas Carvalho de Aguiar, 647, P1
 São Paulo – SP / Brasil 05403 000

Médico Responsável:

Dra. Lúcia Maria Mattei de Arruda Campos

Telefones (horário comercial): 11 2661-8833

Centro de Pesquisa Clínica: Hospital Universitário da Universidade de São Paulo HU-USP

Endereço:

Av. Prof. Lineu Prestes, 2.565 - Cidade Universitária
 São Paulo – SP / Brasil 05508-000

Médico Responsável:

Dra. Valéria Cassettari

Telefones (horário comercial): 11 3091-9200

Se você tiver alguma dúvida ou consideração sobre a ética da pesquisa entre em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa:

CAPPEsq – Comissão de Ética de Análise para Projetos de Pesquisa - HCFMUSP

Prédio da Administração — Diretoria Clínica Rua Ovídio Pires de Campos 225, 5º andar Cerqueira César.
 CEP: 05403-010 São Paulo – SP – Telefone: (11)2661-6442 ramal 16, 17 ou 18 – Fax: (11)2661-6442 ramal 26 – e-mail: marcia.carvalho@hc.fm.usp.br

Rubrica do pesquisador: _____

Rubrica do Participante: _____

BENEFÍCIOS PARA O PARTICIPANTE

Os participantes não terão nenhum benefício direto por fazer parte deste estudo. Cada participante terá acesso a avaliações médicas e ao laudo do teste de laboratório sem custo. É provável que os participantes criem anticorpos contra os três vírus da gripe e fiquem protegidos contra a doença durante um período que pode variar de seis (6) meses a um (1) ano.

RELAÇÃO DE PROCEDIMENTOS ALTERNATIVOS

Não existem procedimentos alternativos para avaliar se você ficou protegido contra a influenza após ser vacinado. Você pode optar por não participar do estudo.

DIREITO DE CONFIDENCIALIDADE

Todas as informações deste estudo são confidenciais. Seu nome ou qualquer dado que possa identificá-lo não será publicado na hora de divulgar os resultados. A equipe do centro de pesquisa, os monitores e auditores do Instituto Butantan (produtor da vacina), o Comitê de Ética em Pesquisa, a ANVISA e autoridades de outros países poderão ter acesso aos seus registros. Esse acesso será utilizado para realizar, acompanhar a pesquisa e analisar os dados obtidos. As normas brasileiras que protegem você serão respeitadas.

DESPESAS OU COMPENSAÇÕES

Fazer parte do estudo não terá nenhum custo para os participantes. A cada visita, o participante receberá uma ajuda de custo para transporte público ou pagamento do estacionamento. Os participantes não receberão pagamento por fazer parte deste estudo.

ARMAZENAMENTO DE AMOSTRAS BIOLÓGICAS

As amostras de sangue coletadas serão processadas para fazer o teste laboratorial para saber se você ficou protegido contra a gripe sendo que nenhuma amostra será guardada para a realização de outros testes durante este estudo ou em estudos no futuro.

Rubrica do pesquisador: _____

Rubrica do Participante: _____

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Acredito ter sido suficientemente informado (a) a respeito das informações que li ou que foram lidas para mim sobre o estudo “Estudo de Coorte Prospectivo para Avaliar a Segurança e Imunogenicidade da Vacina Influenza Sazonal (Fragmentada e Inativada) do Instituto Butantan em Adultos Saudáveis e Idosos – FLU-01-IB”. Eu discuti com os pesquisadores responsáveis e está claro para mim quais são os propósitos do estudo, os procedimentos a serem realizados, quais são seus desconfortos, riscos e a garantia de confidencialidade dos meus dados. Entendo que sempre que eu tiver dúvidas elas serão esclarecidas e que minha participação é isenta de despesas.

Concordo voluntariamente em fazer parte deste estudo e poderei retirar o meu consentimento a qualquer momento, antes ou durante o mesmo, sem penalidades ou prejuízo ou perda de qualquer benefício que eu possa ter adquirido, ou no meu atendimento neste Serviço.

Nome do participante: _____
 (como escrito no documento de identidade)

Assinatura do participante: _____ Data ____/____/____

Testemunha (para casos de participantes analfabetos, semi-analfabetos ou portadores de deficiência auditiva ou visual):

Nome da testemunha: _____
 (como escrito no documento de identidade)

Assinatura da testemunha: _____ Data ____/____/____

Declaro que obtive de forma apropriada e voluntária o Consentimento Livre e Esclarecido deste voluntário para a participação neste estudo e forneci cópia ao participante deste Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

Nome do profissional que obteve consentimento: _____

Assinatura: _____ Data ____/____/____

Rubrica do pesquisador: _____

Rubrica do Participante: _____

10.3 Anexo C – TCLE Estudo de 2014

Termo de Consentimento Livre e Esclarecido
 FLU-02-IB
 Versão 1.0 de 12 de Dez de 2013
 Página 1 de 6

CRIE
 Hospital das Clínicas da FMUSP

CRIE do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da
 Universidade de São Paulo HCFMUSP

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

DADOS DO PARTICIPANTE

Nome:

Documento de Identidade: Sexo: M [] F []

Data de Nascimento:/...../.....

Endereço: N° Apto

Bairro: CEP:

Cidade: Estado: País:

Telefones: /

E-mail (opcional):.....

DADOS SOBRE A PESQUISA

Título: Estudo de Coorte Prospectivo para Avaliar a Segurança e Imunogenicidade da Vacina Influenza Trivalente (Fragmentada e Inativada) do Instituto Butantan em Adultos Saudáveis e Idosos

Versão: 1.0 de 12 de Dezembro de 2013

Patrocinador: Instituto Butantan

Avaliação do risco da pesquisa: Risco Baixo

Locais de Pesquisa	Investigador Principal	Telefone
Centro de Referência de Imunobiológicos Especiais (CRIE) – Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo	Dra. Ana Marli Christovam Sartori	11 2661-6392

Este termo de consentimento livre e esclarecido pode conter palavras que você não compreenda. Por favor, peça ao médico ou a outra pessoa da equipe do estudo para explicar o que significa qualquer palavra ou informação que você não entenda. Antes de assinar, você pode levar para casa uma cópia deste documento para pensar a respeito ou conversar com sua família ou amigos antes de tomar sua decisão.

Rubrica do pesquisador: _____

Rubrica do Participante: _____

OBJETIVO DO ESTUDO

A gripe é uma doença causada por vírus conhecidos pelo nome de influenza, ela é facilmente transmissível de pessoa para pessoa e pode acometer pessoas de qualquer idade. Segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS), todo ano ocorrem de 3 a 5 milhões de casos graves da doença e de 250.000 a 500.000 mortes. Existem três vírus diferentes de influenza que causam de gripe em humanos e por isso a vacina protege contra estes três vírus. Como o vírus da gripe tem grande capacidade de se modificar e a proteção da vacina dura entre 6 e 12 meses, cada ano é necessário que as pessoas se vacinem.

O Ministério da Saúde promove campanhas anuais de vacinação contra a gripe, e você está sendo convidado a participar de um estudo que deseja avaliar a resposta de uma das vacinas utilizadas na campanha, a vacina produzida pelo Instituto Butantan. É importante ressaltar que você será vacinado(a) mesmo se decidir não participar do estudo, a vacinação não faz parte dos procedimentos do estudo.

QUEM É CONVIDADO A PARTICIPAR?

Homens e mulheres maiores de 18 anos que recebem a vacina de influenza conforme a indicação do Ministério da Saúde neste ano de 2013. Se concordar, você deve assinar este Termo de Consentimento Informado, mas é importante que você só faça isso depois de ler todo o documento e tirar todas as dúvidas com a equipe do estudo.

COMO SERÁ O ESTUDO?

Este estudo tem duração de 21 dias, e começa no dia que você assinar este documento e receber a vacina. Você terá que vir ao centro de pesquisa duas (2) vezes: no dia que tomar a vacina e 21 dias depois. Abaixo está escrito tudo que acontecerá nestes 2 dias:

➤ Dia da Vacinação

- Você passará por uma consulta médica para saber se há alguma condição que impeça a sua participação nesse estudo;
- Será coletada uma amostra de sangue (5 ml) para um teste de laboratório que serve para avaliar se você ficou protegido contra cada um dos três principais vírus que causam a gripe;
- Você será vacinado e ficará em observação por 30 minutos;
- Antes de ser liberado você receberá um termômetro e o seu Cartão do Participante, pedimos que você meça sua temperatura nos três dias após a vacinação e anote no cartão.

Rubrica do pesquisador: _____

Rubrica do Participante: _____

Nos 3 dias depois de receber a vacina você receberá um telefonema de um dos membros da equipe para saber como você está sentindo e se teve febre. Durante este telefonema você deverá ter o seu “Cartão do Participante” com você e dizer qual foi sua temperatura naquele dia. Todos os contatos serão feitos somente através de números telefônicos, email ou endereço autorizado por você.

➤ **2ª Visita (21 dias após a vacinação)**

- Você passará por uma consulta médica para sabermos se aconteceu algo relacionado à sua saúde após a vacinação;
- Será feita a coleta de sangue (5 ml), para que o teste para o teste de laboratório que avalia se você ficou protegido ou não contra cada um dos três principais vírus que causam a gripe.

Entrega do resultado laboratorial

Assim que o resultado do teste de laboratório que avalia se você ficou protegido ou não contra cada um dos três principais vírus que causam a gripe ficar pronto entraremos em contato com você para combinar a maneira mais conveniente para você receber esse resultado.

DESCONFORTOS E RISCOS ESPERADOS

• **Punção venosa (coleta de sangue)**

O local da coleta de sangue pode ficar roxo e/ou dolorido. Desmaio ou infecção no local da coleta pode ocorrer raramente. Para diminuir esses riscos, a coleta de sangue será realizada com material descartável por pessoal treinado e experiente.

• **Vacinação**

A vacinação não faz parte dos procedimentos do estudo, você está recebendo a vacina pois tem indicação de ser vacinado conforme as orientações do Ministério da Saúde. Como todo medicamento, a vacina contra gripe pode provocar reações adversas, caso tenha alguma dúvida a este respeito solicite esclarecimentos com o seu médico.

• **Outros riscos**

O uso de alguns remédios pode diminuir a resposta à vacina. Por favor, não use nenhum remédio sem consultar o médico.

Rubrica do pesquisador: _____

Rubrica do Participante: _____

INTERRUPÇÃO NA PARTICIPAÇÃO NO ESTUDO

A participação nesse estudo é voluntária. Se você escolher não participar seus direitos serão preservados e não sofrerá nenhum tipo de punição. Se decidir participar, você poderá se retirar do estudo a qualquer momento, sem nenhum tipo de prejuízo ou recusar qualquer procedimento, nesse caso, por favor, comunique a equipe do estudo.

GARANTIA DE ACESSO

A qualquer momento, se você tiver alguma preocupação ou dúvidas sobre a pesquisa, poderá entrar em contato com o responsável pelo estudo no centro de pesquisa:

Centro de Pesquisa Clínica: Centro de Referência de Imunobiológicos Especiais (CRIE) – Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo
Endereço:
 Av. Dr. Enéas de Carvalho Aguiar, 155 Prédio dos Ambulatórios bloco 8
 São Paulo – SP / Brasil 05403-000
Médico Responsável: Dra. Ana Marli Christovam Sartori
Telefones (horário comercial): 11 2661-6392

Se você tiver alguma dúvida ou consideração sobre a ética da pesquisa entre em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa:

CAPPESq – Comissão de Ética de Análise para Projetos de Pesquisa - HCFMUSP
 Prédio da Administração — Diretoria Clínica Rua Ovídio Pires de Campos 225, 5º andar Cerqueira César.
 CEP: 05403-010 São Paulo – SP – Telefone: (11)2661-6442 ramal 16, 17 ou 18 – Fax: (11)2661-6442 ramal 26 – e-mail: marcia.carvalho@hc.fm.usp.br

BENEFÍCIOS PARA O PARTICIPANTE

Os participantes não terão nenhum benefício direto por fazer parte deste estudo. Cada participante terá acesso a avaliações médicas e ao laudo do teste de laboratório sem custo. É provável que os participantes criem anticorpos contra os três vírus da gripe e fiquem protegidos contra a doença durante um período que pode variar de seis (6) meses a um (1) ano.

RELAÇÃO DE PROCEDIMENTOS ALTERNATIVOS

Não existem procedimentos alternativos para avaliar se você ficou protegido contra a influenza após ser vacinado. Você pode optar por não participar do estudo.

Rubrica do pesquisador: _____

Rubrica do Participante: _____

DIREITO DE CONFIDENCIALIDADE

Todas as informações deste estudo são confidenciais. Seu nome ou qualquer dado que possa identificá-lo não será publicado na hora de divulgar os resultados. A equipe do centro de pesquisa, os monitores e auditores do Instituto Butantan (produtor da vacina), o Comitê de Ética em Pesquisa, a ANVISA e autoridades de outros países poderão ter acesso aos seus registros. Esse acesso será utilizado para realizar, acompanhar a pesquisa e analisar os dados obtidos. As normas brasileiras que protegem você serão respeitadas.

DESPESAS OU COMPENSAÇÕES

Fazer parte do estudo não terá nenhum custo para os participantes. A cada visita, o participante receberá uma ajuda de custo para transporte público ou pagamento do estacionamento. Os participantes não receberão pagamento por fazer parte deste estudo.

ARMAZENAMENTO DE AMOSTRAS BIOLÓGICAS

As amostras de sangue coletadas serão processadas para fazer o teste laboratorial para saber se você ficou protegido contra a gripe sendo que nenhuma amostra será guardada para a realização de outros testes durante este estudo ou em estudos no futuro.

Rubrica do pesquisador: _____

Rubrica do Participante: _____

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Acredito ter sido suficientemente informado (a) a respeito das informações que li ou que foram lidas para mim sobre o estudo “Estudo de Coorte Prospectivo para Avaliar a Segurança e Imunogenicidade da Vacina Influenza Trivalente (Fragmentada e Inativada) do Instituto Butantan em Adultos Saudáveis e Idosos – FLU-02-IB”. Eu discuti com os pesquisadores responsáveis e está claro para mim quais são os propósitos do estudo, os procedimentos a serem realizados, quais são seus desconfortos, riscos e a garantia de confidencialidade dos meus dados. Entendo que sempre que eu tiver dúvidas elas serão esclarecidas e que minha participação é isenta de despesas.

Concordo voluntariamente em fazer parte deste estudo e poderei retirar o meu consentimento a qualquer momento, antes ou durante o mesmo, sem penalidades ou prejuízo ou perda de qualquer benefício que eu possa ter adquirido, ou no meu atendimento neste Serviço.

Nome do participante: _____
 (como escrito no documento de identidade)

Assinatura do participante: _____ Data ____ / ____ / ____

Testemunha (para casos de participantes analfabetos, semi-analfabetos ou portadores de deficiência auditiva ou visual):

Nome da testemunha: _____
 (como escrito no documento de identidade)

Assinatura da testemunha: _____ Data ____ / ____ / ____

Declaro que obtive de forma apropriada e voluntária o Consentimento Livre e Esclarecido deste voluntário para a participação neste estudo e forneci cópia ao participante deste Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

Nome do profissional que obteve consentimento: _____

Assinatura: _____ Data ____ / ____ / ____

Rubrica do pesquisador: _____

Rubrica do Participante: _____

10.4 Anexo D – TCLE Estudo de 2015

Termo de Consentimento Livre e Esclarecido
FLU-04-1B
Versão 1.1 de 23 de Fev de 2015
Página 1 de 6

CRIE
Hospital das Clínicas da FMUSP

CRIE do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da
Universidade de São Paulo HCFMUSP

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

DADOS DO PARTICIPANTE

Nome:

Documento de Identidade: Sexo: M [] F []

Data de Nascimento:/...../.....

Endereço: N° Apto

Bairro: CEP:

Cidade: Estado: País:

Telefones: /

E-mail (opcional):.....

DADOS SOBRE A PESQUISA

Título: Estudo de Coorte Prospectivo para Avaliar a Segurança e Imunogenicidade da Vacina Influenza Trivalente (Fragmentada e Inativada) do Instituto Butantan em Adultos Saudáveis e Idosos

Versão: 1.1 de 23 de Fevereiro de 2015

Patrocinador: Instituto Butantan

Avaliação do risco da pesquisa: Risco Baixo

Locais de Pesquisa	Investigador Principal	Telefone
Centro de Referência de Imunobiológicos Especiais (CRIE) – Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo	Dra. Marta Heloisa Lopes	11 2661-6392

Este termo de consentimento livre e esclarecido pode conter palavras que você não compreenda. Por favor, peça ao médico ou a outra pessoa da equipe do estudo para explicar o que significa qualquer palavra ou informação que você não entenda. Antes de assinar, você pode levar para casa uma cópia deste documento para pensar a respeito ou conversar com sua família ou amigos antes de tomar sua decisão.

Rubrica do pesquisador: _____

Rubrica do Participante: _____

OBJETIVO DO ESTUDO

A gripe é uma doença causada por vírus conhecidos pelo nome de influenza, ela é facilmente transmissível de pessoa para pessoa e pode acometer pessoas de qualquer idade. Segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS), todo ano ocorrem de 3 a 5 milhões de casos graves da doença e de 250.000 a 500.000 mortes. Existem três vírus diferentes de influenza que causam de gripe em humanos e por isso a vacina protege contra estes três vírus. Como o vírus da gripe tem grande capacidade de se modificar e a proteção da vacina dura entre 6 e 12 meses, cada ano é necessário que as pessoas se vacinem.

O Ministério da Saúde promove campanhas anuais de vacinação contra a gripe, e você está sendo convidado a participar de um estudo que deseja avaliar a resposta de uma das vacinas utilizadas na campanha, a vacina produzida pelo Instituto Butantan. É importante ressaltar que você será vacinado(a) mesmo se decidir não participar do estudo, a vacinação não faz parte dos procedimentos do estudo.

QUEM É CONVIDADO A PARTICIPAR?

Homens e mulheres maiores de 18 anos que recebem a vacina de influenza conforme a indicação do Ministério da Saúde neste ano de 2015. Se concordar, você deve assinar este Termo de Consentimento Informado, mas é importante que você só faça isso depois de ler todo o documento e tirar todas as dúvidas com a equipe do estudo.

COMO SERÁ O ESTUDO?

Este estudo tem duração de 21 dias, e começa no dia que você assinar este documento e receber a vacina. Você terá que vir ao centro de pesquisa duas (2) vezes: no dia que tomar a vacina e 21 dias depois. Abaixo está escrito tudo que acontecerá nestes 2 dias:

➤ Dia da Vacinação

- Você passará por uma consulta médica para saber se há alguma condição que impeça a sua participação nesse estudo;
- Será coletada uma amostra de sangue (5 ml) para um teste de laboratório que serve para avaliar se você ficou protegido contra cada um dos três principais vírus que causam a gripe;
- Você será vacinado e ficará em observação por 30 minutos;
- Antes de ser liberado você receberá um termômetro e o seu Cartão do Participante, pedimos que você meça sua temperatura nos três dias após a vacinação e anote no cartão.

Rubrica do pesquisador: _____

Rubrica do Participante: _____

Nos 3 dias depois de receber a vacina você receberá um telefonema de um dos membros da equipe para saber como você está sentindo e se teve febre. Durante este telefonema você deverá ter o seu “Cartão do Participante” com você e dizer qual foi sua temperatura naquele dia. Todos os contatos serão feitos somente através de números telefônicos, email ou endereço autorizado por você.

➤ **2ª Visita (21 dias após a vacinação)**

- Você passará por uma consulta médica para sabermos se aconteceu algo relacionado à sua saúde após a vacinação;
- Será feita a coleta de sangue (5 ml), para que o teste para o teste de laboratório que avalia se você ficou protegido ou não contra cada um dos três principais vírus que causam a gripe.

Entrega do resultado laboratorial

Assim que o resultado do teste de laboratório que avalia se você ficou protegido ou não contra cada um dos três principais vírus que causam a gripe ficar pronto entraremos em contato com você para combinar a maneira mais conveniente para você receber esse resultado.

DESCONFORTOS E RISCOS ESPERADOS

• **Punção venosa (coleta de sangue)**

O local da coleta de sangue pode ficar roxo e/ou dolorido. Desmaio ou infecção no local da coleta pode ocorrer raramente. Para diminuir esses riscos, a coleta de sangue será realizada com material descartável por pessoal treinado e experiente.

• **Vacinação**

A vacina de influenza produzida pelo Instituto Butantan que receberão os participantes do estudo faz parte dos lotes que são distribuídos pelo Programa Nacional de Imunização do Ministério da Saúde na campanha anual de vacinação contra influenza. Assim como todas as vacinas, a vacina influenza trivalente (fragmentada e inativada) do Instituto Butantan pode causar reações adversas, mas seu perfil de segurança é bem conhecido e nem todas as pessoas apresentam alguma dessas reações adversas após a sua administração. Conforme a bula da vacina:

Reações comuns (ocorrem entre 1% e 10% das pessoas que receberam a vacina)

- Dor de cabeça, suor aumentado, dores musculares ou nas juntas, febre, mal-estar, tremor, fraqueza;
- Dor, vermelhidão, coceira e/ou inchaço no local da injeção;

Rubrica do pesquisador: _____

Rubrica do Participante: _____

Estas reações tendem a desaparecer em aproximadamente um ou dois dias sem a necessidade de tratamento.

Reações incomuns, ou muito raras, observadas pelo monitoramento após o uso na população:

- Reações na pele incluindo urticária e manchas no corpo (reação incomum, com frequência de 0,1% e 1%);
- Alterações neurológicas (reação muito rara com frequência de menos de 0,01%);
- Queda de plaquetas (célula do sangue) e aumento de gânglios no corpo passageiros;
- Reações alérgicas graves (reação rara com frequência de 0,01% e 0,1%),

Todos os voluntários terão acesso a atendimento nos centros de pesquisa em caso de se apresentarem reações que precisem de cuidados médicos.

• **Outros riscos**

O uso de alguns remédios pode diminuir a resposta à vacina. Por favor, não use nenhum remédio sem consultar o médico.

INTERRUPÇÃO NA PARTICIPAÇÃO NO ESTUDO

A participação nesse estudo é voluntária. Se você escolher não participar seus direitos serão preservados e não sofrerá nenhum tipo de punição. Se decidir participar, você poderá se retirar do estudo a qualquer momento, sem nenhum tipo de prejuízo ou recusar qualquer procedimento, nesse caso, por favor, comunique a equipe do estudo.

GARANTIA DE ACESSO

A qualquer momento, se você tiver alguma preocupação ou dúvidas sobre a pesquisa, poderá entrar em contato com o responsável pelo estudo no centro de pesquisa:

Centro de Pesquisa Clínica: Centro de Referência de Imunobiológicos Especiais (CRIE) – Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo
Endereço:
 Av. Dr. Enéas de Carvalho Aguiar, 155 Prédio dos Ambulatórios bloco 8
 São Paulo – SP / Brasil 05403-000
Médico Responsável: Dra. Marta Heloisa Lopes
Telefones (horário comercial): 11 2661-6392

Se você tiver alguma dúvida ou consideração sobre a ética da pesquisa entre em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa:

Rubrica do pesquisador: _____

Rubrica do Participante: _____

CAPESq – Comissão de Ética de Análise para Projetos de Pesquisa - HCFMUSP
 Prédio da Administração — Diretoria Clínica Rua Ovídio Pires de Campos 225, 5º andar Cerqueira César.
 CEP: 05403-010 São Paulo – SP – Telefone: (11)2661-6442 ramal 16, 17 ou 18 – Fax: (11)2661-6442 ramal
 26 – e-mail: marcia.carvalho@hc.fm.usp.br

BENEFÍCIOS PARA O PARTICIPANTE

Os participantes não terão nenhum benefício direto por fazer parte deste estudo. Cada participante terá acesso a avaliações médicas e ao laudo do teste de laboratório sem custo. É provável que os participantes criem anticorpos contra os três vírus da gripe e fiquem protegidos contra a doença durante um período que pode variar de seis (6) meses a um (1) ano.

RELAÇÃO DE PROCEDIMENTOS ALTERNATIVOS

Você pode optar por não participar do estudo.

DIREITO DE CONFIDENCIALIDADE

Todas as informações deste estudo são confidenciais. Seu nome ou qualquer dado que possa identificá-lo não será publicado na hora de divulgar os resultados. A equipe do centro de pesquisa, os monitores e auditores do Instituto Butantan (produtor da vacina), o Comitê de Ética em Pesquisa, a ANVISA e autoridades de outros países poderão ter acesso aos seus registros. Esse acesso será utilizado para realizar, acompanhar a pesquisa e analisar os dados obtidos. As normas brasileiras que protegem você serão respeitadas.

DESPESAS OU COMPENSAÇÕES

Fazer parte do estudo não terá nenhum custo para os participantes. A cada visita, o participante receberá uma ajuda de custo para transporte público ou pagamento do estacionamento. Os participantes não receberão pagamento por fazer parte deste estudo.

ARMAZENAMENTO DE AMOSTRAS BIOLÓGICAS

As amostras de sangue coletadas serão processadas para fazer o teste laboratorial para saber se você ficou protegido contra a gripe sendo que nenhuma amostra será guardada para a realização de outros testes durante este estudo ou em estudos no futuro.

Rubrica do pesquisador: _____

Rubrica do Participante: _____

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Acredito ter sido suficientemente informado (a) a respeito das informações que li ou que foram lidas para mim sobre o estudo “Estudo de Coorte Prospectivo para Avaliar a Segurança e Imunogenicidade da Vacina Influenza Trivalente (Fragmentada e Inativada) do Instituto Butantan em Adultos Saudáveis e Idosos – FLU-04-IB”. Eu discuti com os pesquisadores responsáveis e está claro para mim quais são os propósitos do estudo, os procedimentos a serem realizados, quais são seus desconfortos, riscos e a garantia de confidencialidade dos meus dados. Entendo que sempre que eu tiver dúvidas elas serão esclarecidas e que minha participação é isenta de despesas.

Concordo voluntariamente em fazer parte deste estudo e poderei retirar o meu consentimento a qualquer momento, antes ou durante o mesmo, sem penalidades ou prejuízo ou perda de qualquer benefício que eu possa ter adquirido, ou no meu atendimento neste Serviço.

Nome do participante: _____
 (como escrito no documento de identidade)

Assinatura do participante: _____ Data ____/____/____

Testemunha (para casos de participantes analfabetos, semi-analfabetos ou portadores de deficiência auditiva ou visual):

Nome da testemunha: _____
 (como escrito no documento de identidade)

Assinatura da testemunha: _____ Data ____/____/____

Declaro que obtive de forma apropriada e voluntária o Consentimento Livre e Esclarecido deste voluntário para a participação neste estudo e forneci cópia ao participante deste Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

Nome do profissional que obteve consentimento: _____

Assinatura: _____ Data ____/____/____

Rubrica do pesquisador: _____ Rubrica do Participante: _____

11 REFERÊNCIAS

1. World Health Organization. Influenza Seasonal Factsheet n211. Geneva: WHO; 2018 [cited 2018 Apr 6]. Available from: <http://www.who.int/media/centre/factsheets/fs211/en/>.
2. Treanor JJ. Influenza viruses, including avian influenza and swine influenza. In: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R, eds. Principles and practice of infectious diseases. 7th ed. Philadelphia: Churchill Livingstone; 2010.
3. Constantino C; Vitale F. Influenza vaccination in high-risk groups: a revision of existing guidelines and rationale for an evidence-based preventive strategy. *J Prev Med Hyg.* 2016;57(1):E13-8.
4. Grohskopf LA, Sokolow LZ1, Broder KR, Walter EB, Bresee JS, Fry AM, et al. Prevention and control of seasonal influenza with vaccines: recommendations of the Advisory Committee on Immunization Practices - United States, 2017-18 Influenza Season. *MMWR Recomm Rep.* 2017; 66(2):1-20.
5. Cox NJ, Fukuda K. Influenza. *Infectious Disease Clinics of North America.* 1998; 12:27-38.
6. Bridges CB, Katz JM, Levandowski RA, Cox NJ. Inactivated influenza vaccines. In: Plotkin SA, Orenstein WA, Offit PA, eds. *Vaccines.* 5th ed. Philadelphia, PA: Saunders Elsevier; 2008.
7. Cox NJ, Subbarao K. Influenza. *The Lancet.* 1999;354:1277-82.
8. Hyunsuh K, Robert WG, Richard W. Influenza Virus: Dealing with a Drifting and Shifting Pathogen. *Viral Immunology.* 2018;31(2).
9. Suzuki Y. Sialobiology of Influenza Molecular Mechanism of Host Range Variation of Influenza Viruses. *Biol Pharm Bull.* 2005;28(3);399-408.
10. Chen R, Holmes EC. The Evolutionary Dynamics of Human Influenza B Virus. *J Mol Evol.* 2008;66(6):655-63.

11. World Health Organization. Global Influenza Surveillance and Response System (GISRS). Geneva: WHO [internet]. 2018 [cited in 2018 Apr 7]. Available from: http://www.who.int/influenza/gisrs_laboratory/en/.
12. World Health Organization. Global Epidemiological Surveillance Standards for Influenza. Geneva: WHO [online]. 2013 [cited in 2018 Apr 7]. Available from: http://www.who.int/influenza/resources/documents/WHO_Epidemiological_Influenza_Surveillance_Standards_2014.pdf.
13. Hannoun C. Role of international networks for the surveillance of influenza. *Eur J Epidemiol*. 1994; 10: 459-61.
14. World Health Organization. Collaborating centre for Reference and Research on Influenza at the Victorian Infectious Diseases Reference Laboratory. Melbourne: WHO-VIDRL [online]. [cited in 2018 Apr 7]. Available from: http://www.influenzacentre.org/centre_gisn.htm.
15. Brasil. Ministério da Saúde. Programa Nacional Imunizações. Informe Técnico – 19a Campanha Nacional de Vacinação Contra a Influenza. Brasília: MS-PNI [online]. 2017 [cited in 2018 Apr 7]. Available in: http://pni.datasus.gov.br/sipni/03%2003%202017%20Informe_Cp_Influenza%20_%20final.pdf.
16. Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Informe Epidemiológico. Influenza: monitoramento até a semana epidemiológica 41 de 2017. Brasília: SVS [online]. 2017 [cited in 2018 Apr 7]. Available in: <http://pni.datasus.gov.br/portalarquivos.saude.gov.br/images/pdf/2017/novembro/07/Informe-Epidemiol--gico-Influenza-2017-SE-41.pdf>.

17. Brasil. Ministério da saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância das Doenças Transmissíveis. Guia para a Rede Laboratorial de Vigilância de Influenza no Brasil. Brasília: MS-SVS [online]. 2016 [cited in 2018 Apr 7]. Disponível em: http://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/guia_laboratorial_influenza_vigilancia_influenza_brasil.pdf.
18. Hannoun C. La grippe et ses virus. Paris, France: Presses Universitaires de France; 1995. 60-61.
19. World Health Organization. Influenza: Vaccines. Geneva: WHO [internet]. 2018 [cited in 2018 Apr 7]. Available from: <http://www.who.int/influenza/vaccines/about/en/>.
20. Smith W, Andrewes CH, Laidlaw PP. A Virus Obtained from Influenza Patients. *The Lancet*. 1933;222(5732);66-68.
21. Fiore AE, Uyeki TM, Broder K, Finelli L, Euler GL, Singleton JA, et al. Prevention and control of influenza with vaccines: recommendations of the Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP). *MMWR Recomm*. 2010;59:1-62.
22. Brasil. Ministério da Saúde. Programa Nacional Imunizações. Informe Técnico – Campanha Nacional de Vacinação Contra a Influenza. Brasília: MS-PNI [online]. 2014 [cited in 2018 Apr 7]. Available in: http://www.sbim.org.br/wp-content/uploads/2014/04/Informe_Campanha_Influenza_-_25_03_2014.pdf.
23. Brasil. Secretaria do Estado da Saúde de São Paulo. Centro de Vigilância Epidemiológica Prof. Alexandre Vranjac. 2001 Campanha Nacional de vacinação para o idoso. São Paulo: SES-SVS [online]. 2001 [cited in 2018 Apr 7]. Available in: ftp://ftp.cve.saude.sp.gov.br/doc_tec/informeidoso.pdf.

24. Brasil. Ministério da Saúde. Programa Nacional Imunizações. Informe Técnico – Campanha Nacional de Vacinação Contra a Influenza. Brasília: MS-PNI [online]. 2016 [cited in 2018 Apr 7]. Available in: http://portalsaude.saude.gov.br/images/pdf/2016/marco/11/informe-tecnico-campanha_vacinacao_influenza-2016.pdf.
25. Camargo EP, Sant'Anna AO. Institutos de pesquisa em saúde. Ciênc. saúde coletiva. 2004;9(2): 295-302.
26. Gadelha CAG. A produção e o desenvolvimento de vacinas no Brasil. Revista Debate. 1996; mar-jun:111-131.
27. Miyaki C, Meros M, Precioso AR, Raw I. Influenza vaccine production for Brazil: a classic example of successful North–South bilateral technology transfer. Vaccine. 2011;29(1):A12-A15.
28. Brasil. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Resolução RDC nº 17, de 16 de abril de 2010. Dispõe sobre as boas práticas de fabricação de medicamentos. Diário Oficial da União, Brasília (DF). 2010:16 abr. Disponível em: http://portal.anvisa.gov.br/documents/33880/2568070/res0017_16_04_2010.pdf/b9a8a293-f04c-45d1-ad4c-19e3e8bee9fa.
29. European Medicines Agency. Integrated addendum to ICH E6Rr1: guideline for good clinical practice E6(R2). United Kingdom: EMA; 2016. [cited 2018 Apr 6]. Available from: http://www.ich.org/fileadmin/Public_Web_Site/ICH_Products/Guidelines/Efficacy/E6/E6_R2__Step_4_2016_1109.pdf.
30. European Medicines Agency. Note for guidance on harmonization of requirements for influenza vaccines. United Kingdom: EMA; 1997. [cited 2018 Apr 6]. Available from: <http://academy.gmp-compliance.org/guidemgr/files/021496 EN.PDF>.

31. European Medicines Agency. Guideline on Influenza Vaccines Non-clinical and Clinical Module. United Kingdom: EMA; 2016 [cited 2018 Apr 6]. Available from: http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_guideline/2016/07/WC500211324.pdf.

32. European Medicines Agency (EMA). Guideline on good pharmacovigilance practices (GVP). Module VI – Management and reporting of adverse reactions to medicinal products (Rev 1). EMA; 2014 [cited 2018 Apr 6]. Available from: http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Scientific_guideline/2014/09/WC500172402.pdf.

33. Latreille-Barbier M, Rouzier R, Astruc B, Lavis N, Donazzolo Y. Immunogenicity and safety of the Southern Hemisphere 2015 formulation of Vaxigrip®. *Hum Vaccin Immunother*. 2017;13(11):2674-2677.

34. Anh DD, Thiem VD, Anh NTH, Huong VM, Nga NT, Thang TC et al. Randomized safety and immunogenicity trial of a seasonal trivalent inactivated split virion influenza vaccine (IVACFLU-S) in healthy young vietnamese adults. *Vaccine*. 2016;34(45):5457–5462.

35. Kang K, Han S, Hong T, Jeon S, Paek J, Kang JH, et al. Immunogenicity and safety of trivalent split influenza vaccine in healthy korean adults with low pre-existing antibody levels: an open phase i trial. *Yonsei Med J*. 2016;57(6):1354-1360.

36. Mo Z, Nong Y, Liu S, Shao M, Liao X, Go K, et al. Immunogenicity and safety of a trivalent inactivated influenza vaccine produced in Shenzhen, China. *Human Vaccines & Immunotherapeutics*. 2017;13(6):1272-1278.

37. Jackson LA, Gaglani MJ, Keyserling HL, Balser J, Bouveret N, Fries L, et al. Safety, efficacy, and immunogenicity of an inactivated influenza vaccine in healthy adults: a randomized, placebo-controlled trial over two influenza seasons. *BMC Infect Dis*. 2010;10:71.

38. Gao D, Yang H, Deng B, Yin G, Song W, Zhang H, et al. Safety and immunogenicity of 3 seasonal trivalent influenza vaccines in the Chinese military. *Human Vaccines & Immunotherapeutics*. 2016;12(10):2634-2639.
39. Shen Y, Hu Y, Meng F, Du W, Li W, Song Y, et al. Safety, Immunogenicity and cross-reactivity of a Northern hemisphere 2013–2014 seasonal trivalent inactivated split influenza virus vaccine, Anflu®. *Human Vaccines & Immunotherapeutics*. 2016;12(5):1229-1234.
40. Song JY, Cheong HJ, Woo HJ, Wie SH, Lee JS, Chung MH, et al. Immunogenicity and Safety of Trivalent Inactivated Influenza Vaccine: A Randomized, Double-Blind, Multi-Center, Phase 3 Clinical Trial in a Vaccine-Limited Country. *Journal of Korean Medical Science*. 2011;26(2):191-195.
41. World Health Organization. Uppsala Monitoring Centre. The use of the WHO-UMC system for standardised case causality assessment. Geneva: WHO; 2014 [cited 2018 Apr 6]. Available from: <https://www.who-umc.org/media/2768/standardised-case-causality-assessment.pdf>.
42. United States of America. Department of Health and Human Services Food and Drug Administration Center for Biologics Evaluation and Research. Guidance for Industry Toxicity Grading Scale for Healthy Adult and Adolescent Volunteers Enrolled in Preventive Vaccine Clinical Trials. USA: FDA; 2017 [cited 2018 Apr 6]. Available from: <https://www.fda.gov/downloads/BiologicsBloodVaccines/ucm091977>.
43. Ward BJ, Pillet S, Charland N, Trepanier S, Couillard J, Landry N. The establishment of surrogates and correlates of protection: Useful tools for the licensure of effective influenza vaccines? *Hum Vaccin Immunother*, 2018;14(3):647-56.
44. Salk JE. A simplified procedure for titrating hemagglutinating capacity of influenza virus and the corresponding antibody. *J. Immunol*, 1944;49:87-98.
45. Hirst GK. The quantitative determination of influenza virus and antibodies by means of red cell agglutination. *J Exp Med*. 1942;75(1): 9-64.

46. Defang GN, Martin NJ, Burgess TH, Millar EV, Pecenka LA, Danko JR, et al. Comparative analysis of hemagglutination inhibition titers generated using temporally matched serum and plasma samples. *PLoS ONE*. 2012; 7(12):e48229.
47. Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância das Doenças Transmissíveis. Guia para a Rede Laboratorial de Vigilância de Influenza no Brasil. Brasília: MS [online] 2016; Ministério da Saúde, 2016. [cited in 2018 Apr 7]. Available in: http://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/guia_laboratorial_influenza_vigilancia_influenza_brasil.pdf.
48. World Health Organization. Recommended composition of influenza virus vaccines for use in the 2013 southern hemisphere influenza season. Geneva: WHO; 2014 [cited 2018 Apr 7]. Available from: http://www.who.int/influenza/vaccines/virus/recommendations/201209_recommendation.pdf?ua=1.
49. World Health Organization. Recommended composition of influenza virus vaccines for use in the 2014 southern hemisphere influenza season. Geneva: WHO; 2014 [cited 2018 Apr 7]. Available from: http://www.who.int/influenza/vaccines/virus/recommendations/201309_recommendation.pdf?ua=1.
50. World Health Organization. Recommended composition of influenza virus vaccines for use in the 2015 southern hemisphere influenza season. Geneva: WHO; 2014 [cited 2018 Apr 7]. Available from: http://www.who.int/influenza/vaccines/virus/recommendations/201409_recommendation.pdf?ua=1.
51. Haugh M, Gresset-Bourgeois V, Macabeo B, Woods A, Samson SI. A trivalent, inactivated influenza vaccine (Vaxigrip®): summary of almost 50 years of experience and more than 1.8 billion doses distributed in over 120 countries. *Expert Rev Vaccines*. 2017;16(6):545-64.

52. Glanz JM, Newcomer SR, Hambidge SJ, Daley MF, Narwaney KJ, Xu S, et al. Safety of trivalente inactivated influenza vaccine in children aged 24 to 59 months in the vaccine safety datalink. *Arch Pediatr Adolesc Med.* 2011;165:749-55.