

Jacqueline das Graças Ferreira de Oliveira

**Estudo da imunogenicidade de esquemas alternativos de
vacinação contra influenza em receptores de transplante de
células tronco hematopoiéticas**

Tese apresentada à Faculdade de Medicina
da Universidade de São Paulo para
obtenção do título de Doutor em Ciências

Programa de Doenças Infecciosas e
Parasitárias
Orientadora: Dra. Clarisse Martins Machado

São Paulo
2011

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

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

©reprodução autorizada pelo autor

Oliveira, Jacqueline das Graças Ferreira de
Estudo da imunogenicidade de esquemas alternativos de vacinação
contra influenza em receptores de transplante de células-tronco
hematopoéticas / Jacqueline das Graças Ferreira de Oliveira. -- São
Paulo, 2011.
Tese(doutorado)--Faculdade de Medicina da Universidade de São
Paulo.
Programa de Doenças Infecciosas e Parasitárias.
Orientadora: Clarisse Martins Machado.

Descritores: 1.Influenza 2.Vacinas contra influenza 3.Imunização
4.Transplante de células tronco 5.Transplante de medula óssea

USP/FM/DBD-291/11

DEDICATÓRIA

Aos meus pais,

Américo de Oliveira
Maria das Graças Ferreira de Oliveira

pelo amor, dedicação,
confiança e estímulo

Aos pacientes transplantados e seus familiares

AGRADECIMENTOS

À Dra. Clarisse Martins Machado pela confiança, envolvimento e dedicação ao projeto, pelas orientações sempre tão oportunas em inúmeros momentos desse trabalho e tolerância com as minhas limitações.

Ao Dr. Cláudio César Panutti por ter me acolhido em seu laboratório, me apresentado a minha orientadora e pela confiança em nosso trabalho.

Dra. Lucy Villas pela disponibilidade para realizar os todos os exames sorológicos, dedicação ao projeto.

A Ana Carolina Manana pela realização dos exames de biologia molecular no IMT-USP

Ao Professor Aluisio Segurado pelo estímulo e confiança na banca para iniciar o doutorado.

Aos componentes da minha banca de qualificação – Dr.Expedito Luna, Dra. Marta Heloísa e Dra. Paolla Capellano pelas preciosas orientações que contribuíram muito para as correções deste trabalho.

As enfermeiras Lucia Testa, Talita Martins e Ana Carla, que participaram e trabalharam exaustivamente na triagem e acompanhamento dos casos em Jaú.

As biomédicas do laboratório de Citoquímica do HAC - Lílian e Marina pela realização dos exames de biologia molecular e disponibilidade de fornecer protocolos e discutir dúvidas.

A equipe de Hematologia do HAC, que me abriu as portas do seu serviço e me permitiu dar continuidade ao trabalho. Secretárias Roseli e Vânia

A equipe da CCIH do HAC que disponibilizou as vacinas da pesquisa em Jaú.

A Equipe da administração do TMO em Jaú que me recebeu tão carinhosamente nas minhas várias visitas ao serviço.

As enfermeiras Débora, Cida, Mônica do HC – UFMG, andar 9 leste pela colaboração com a pesquisa.

A enfermeira Márcia Eller do ambulatório de pós TMO do HC-UFMG que ajudou exaustivamente no acompanhamento dos pacientes da pesquisa.

Aos Hematologistas da Equipe de Transplante de Medula do HC-UFMG pela convivência tão produtiva e estimulante.

A Dra. Silvana Eloi do laboratório de imunofenotipagem da UFMG que me ofereceu retaguarda tão fundamental para meu banco de amostras.

A Maria Luiza e Letícia do laboratório de Imunofenotipagem pela manipulação de todas as sorologias da pesquisa

As secretarias do ambulatório de TMO do HC/UFMG – Rosangela e Ana Lucia pela sensibilidade e enorme boa vontade no agendamento dos pacientes da pesquisa.

A Enfermeira Salete, gerente do CRIE de BH na ocasião pela receptividade e colaboração com a pesquisa.

Ao Américo, Maria das Graças, Jane, Ju, Jan e a Ana Laurinha meu amor e gratidão

Aos pacientes, meu eterno agradecimento pelos bons ensinamentos, e pela enorme generosidade em participar deste trabalho apesar do sofrimento e fragilidade.

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 apresentação de dissertações, teses e monografias*. Elaborado por Anneliese Carneiro da Cunha, Maria Julia de A. L. Freddi, Maria F. Crestana, Marinalva de Souza Aragão, Suely Campos Cardoso, Valéria Vilhena. 3a ed. São Paulo: 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, símbolos e siglas

Lista de tabelas

Lista de gráficos

Lista de figuras

Resumo

Summary

1. INTRODUÇÃO	2
2. OBJETIVOS.	6
3. REVISÃO DA LITERATURA	8
3.1. O vírus influenza	8
3.2 Epidemiologia da infecção por influenza em TCTH	10
3.3 Manifestações clínicas principais da doença por influenza	14
3.4 Vacinação contra influenza em receptores de TCTH.....	17
4. MÉTODOS.....	24
4.1 Desenho do estudo	24
4.2 Participantes	24
4.3 Vacina de influenza	29
4.4 Protocolo de avaliação e seguimento.....	44
4.4.1. Sorológico.....	44
4.4. 2. Clínico	32
4.5 Métodos diagnósticos	36.
4.5.1 Hemaglutinação indireta	36

4.5. 2	Reação em cadeia da polimerase	41
4.6	Ética	42
4.7	Análise estatística	42
5	.RESULTADOS	45
5.1	Fluxo dos participantes	45
5.2	Características dos pacientes e doadores	48
5.3	Resposta sorológica à vacinação de influenza no pré TCTH	48
5.3.1	Resposta dos doadores	49
5.3.2	Resposta dos receptores	54.
5.4	Evolução dos títulos de anticorpos neutralizantes pós TCTH	59
5.5	Resposta à vacinação de influenza no D+180	62
5.6	Casos confirmados de doença por influenza	68
6	.DISCUSSÃO	70
7	.CONCLUSÕES	81
8	.ANEXOS	84
	Anexo A - Aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa da UFMG	84
	Anexo B - Aprovação da CAPPesq – USP	85
	Anexo C - Aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa da Fundação HAC	86
	Anexo D - Ficha de triagem	88
	Anexo E - Termo de consentimento do doador – HC/UFMG	89
	Anexo F - Termo de consentimento do doador - HAC	91
	Anexo G - Termo de consentimento do receptor - HC/UFMG	93
	Anexo H - Termo de consentimento do receptor - HAC	95.

Anexo I - Questionário de coleta de dados	97
Anexo J – Ficha de vigilância de sintomas respiratórios	101
Anexo K – Ficha de seguimento laboratorial	102
9.REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	104

LISTA DE ABREVIATURAS, SÍMBOLOS E SIGLAS

DECH – Doença do enxerto contra o hospedeiro

EBMT – European Group for Blood and Marrow Transplantation

HÁ – hemaglutinina

HAC – Hospital Amaral Carvalho

HC-UFMG – Hospital das Clínicas de Universidade Federal de Minas Gerais

HLA – antígeno da histocompatibilidade maior

IMT-USP – Instituto de Medicina Tropical da Universidade de São Paulo

IVAI - Infecção de vias aéreas inferiores

IVAS – infecção das vias aéreas superiores

MDACC – M.D. Anderson Cancer Center

NA – neuraminidase

NK – célula natural killer

OMS – Organização Mundial da Saúde

PR – Paraná

SP – São Paulo

TBI – irradiação corporal total

TCT – tomografia computadorizada de tórax

TCTH – transplante de células tronco hematopoiéticas

UFMG – Universidade Federal de Minas Gerais

UFPr - Universidade Federal do Paraná

USA – Estados Unidos da América

USP – Universidade de São Paulo

VCR – vírus respiratório da comunidade

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Características de 131 pares de receptores - doadores de transplante de célula tronco hematopoiética, 2007- 2010	50
Tabela 2 - Condição sorológica de doadores no pré e no dia transplante de células tronco hematopoiéticas, segundo grupo de randomização – 2007 a 2010	51
Tabela 3 - Comparação da proporção de doadores com títulos protetores de anticorpos antes e no dia do transplante de células tronco hematopoiéticas – 2007a 2010	52
Tabela 4 – Taxas de soroconversão de 123 doadores após vacinação de influenza no pré transplante – 2007a 2010	54
Tabela 5 - Condição sorológica dos receptores no pré e até 30 dias do transplante de células tronco hematopoiéticas, segundo grupo de randomização – 2007 a 2010	54
Tabela 6. Comparação da proporção de receptores e doadores com títulos protetores para influenza no pré TCTH – 2007a 2010.....	55
Tabela 7 - Comparação da proporção de receptores com títulos protetores de anticorpos antes e até 30 dias após transplante de células tronco hematopoiéticas – 2007a 2010	57
Tabela 8. Taxa de soroconversão de 129 receptores após a vacina de infleunza no pré TCTH, conforme grupo de randomização - 2007 a 2010.....	58

Tabela 9 - Média geométrica dos títulos de anticorpos nos receptores de TCTH,conforme randomização - 2007 a 2010	61
Tabela 10 - Taxa de soroconversão de 61 receptores após a vacina de influenza a partir do D+180, conforme grupo de randomização - 2007 a 2010	64

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1 – Média geométrica dos títulos de anticorpos para o influenza A/H1N1 do pré ao D+180 – 2007 a 2010	59.
Gráfico 2 – Média geométrica dos títulos de anticorpos para o influenza A/H3N2 do pré ao D+180 – 2007 a 2010	60
Gráfico 3 – Média geométrica dos títulos de anticorpos para o influenza B do pré ao D+180 – 2007 a 2010	60

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Fluxograma do estudo	26
Quadro1. Composição das vacinas de influenza 2007 – 2009.....	29
Figura 2 – Fluxograma dos participantes	47
Quadro 2. Caracterização dos 11 episódios confirmados de influenza em 131 receptores de TCTH – 2007 a 2010	66
Quadro 3. Caracterização da condição sorológica por ocasião dos 11 episódios confirmados de influenza – 2007 a 2010	67

RESUMO

OLIVEIRA, J.G.F. *Estudo da imunogenicidade de esquemas alternativos de vacinação para influenza em receptores de transplante de células tronco hematopoiéticas*. [tese]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 2011.

INTRODUÇÃO: Influenza é uma doença potencialmente grave após o transplante de células tronco hematopoiéticas (TCTH). A vacinação é a principal estratégia profilática, mas a resposta imune é menor do que em indivíduos saudáveis. Em geral os pacientes não respondem a vacinação nos primeiros seis meses após transplante, o que torna o período de maior vulnerabilidade. **OBJETIVOS:** Neste estudo avaliaram-se diferentes esquemas de vacinação contra influenza em TCTH alogênico relacionado, com imunização do doador e/ou do receptor no pré transplante. Determinou-se a resposta a vacina comparando-se as taxas de soroconversão entre os grupos de intervenção. Foram avaliados também os níveis de anticorpos considerados soroprotetores alcançados. **MÉTODOS:** Realizou-se ensaio clínico randomizado não cego, em população de candidatos ao TCTH e seus doadores do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Minas Gerais/BH-MG e Hospital Amaral Carvalho/Jaú-SP. Quatro grupos de pares receptor-doador receberam diferentes esquemas de imunização de influenza no pré transplante: 1- sem vacinação, 2 - vacinação do doador; 3 - vacinação do receptor e 4 - vacinação de doador e receptor. Todos os pacientes receberam vacina a partir do 6º mês após transplante. Acompanhamento sorológico do par foi realizado no pré e no dia do transplante, e nos dias 30, 60, 100, 180 e após vacina apenas para os receptores. Títulos dos anticorpos sorotipo - específicos foram determinados pela reação de inibição de hemaglutinação. Níveis $\geq 1:40$ foram considerados protetores e $< 1:10$ negativos. Soroconversão foi definida como aumento de quatro vezes ou mais dos títulos ou aumento de $<1:10$ para $\geq 1:40$. **RESULTADOS:** De 08/2007 a 02/2010 131 pares receptor-doador foram incluídos e randomizados: 38 no grupo 1, 44 no grupo 2, 40 no grupo 3 e 9 no grupo 4. Não houve diferença estatística entre os grupos com relação às características clínicas. As taxas de soroproteção basal dos receptores foram de 18%, 32,8% e 63,3% para influenza A/H1N1, A/H3N2 e B, respectivamente. A condição sorológica pré transplante dos doadores foi semelhante. As taxas de soroconversão dos doadores foram de 30,1%, 41,5% e 30,9%, respectivamente para os A/H1N1, A/H3N2 e B. Nos receptores soroconversão até o dia 30 após transplante ocorreu em 16,3% dos pacientes para o A/H1N1, 14,7% para A/H3N2 e 28,7%. As médias geométricas dos títulos de anticorpos neutralizantes foram calculadas para todos os subtipos virais ao longo do tempo. Para o A/H1N1 não houve diferença dos títulos até o D180 para nenhum dos grupos. Para o A/H3N2 houve diferença nos títulos no momento do transplante ($p=0,019$), com maiores títulos nos grupos 2 e 3 em relação ao grupo 1 e no dia 30 ($p=0,018$) com menores títulos para o grupo 4 que os demais. Para o subtipo B, as diferenças entre os grupos ocorreram no dia do transplante ($p=0,020$) e nos dias 30 ($p= 0,018$) e 60 ($p=0,026$) com menores

títulos do grupo 4 em relação aos demais. As taxas de soroconversão após a vacina do dia 180 foram de 19,7% para o A/H1N1, 18% para o A/H3N2 e 8,2% para o B. Não houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos. CONCLUSÃO: A imunogenicidade da vacina de influenza em receptores de TCTH foi baixa. A estratégia de vacinação do doador e do receptor no pré transplante aumentou a média geométrica dos títulos protetores apenas para o subtipo A/H3N2 até o 30º pós transplante, em relação ao grupo sem vacinação.

SUMMARY

OLIVEIRA, J.G.F. *Study of the immunogenicity of alternative schedules of influenza vaccination in hematopoietic stem cell transplant recipients* [thesis]. São Paulo: "Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo"; 2011.

INTRODUCTION: Influenza is a potentially severe illness after hematopoietic stem cell transplantation (HSCT). Vaccination is the main prophylactic strategy, but the immune response is limited in the compromised host. Existing data support the recommendation of influenza vaccination after the 6th month of HSCT. **OBJECTIVES:** The study evaluated different schedules of influenza vaccination in HSCT. Recipient and/or their donors were randomized to receive influenza vaccine before transplant. The primary outcome was the comparison of serotype response between groups at baseline, 30 days and 6 months after transplantation. **METHODS:** A randomized, non-blind trial was conducted in patients undergoing HSCT and respective donors at Hospital das Clínicas, Universidade Federal de Minas Gerais /BH-MG and at Hospital Amaral Carvalho/Jaú-SP. Four groups of donor and recipient pairs received different influenza immunization at least 7 days before HSCT: group 1 – no vaccination, group 2 – donor received a single dose of influenza vaccine; group 3 – recipients received a single dose of influenza vaccine and group 4 – recipients and donor received influenza vaccine. Following transplantation, all study patients were immunized with influenza vaccine at 6 months. Donor serum samples were collected at baseline (pre transplantation) and in the day of transplantation. Recipients' serum samples were taken at baseline, 30, 60, 100, 180 days after transplantation, and at least 2 weeks after 6-month vaccination. The hemagglutination inhibition assay (HIA) was performed to evaluate immune response. HI antibodies titers $\geq 1:40$ were considered protective. Titers $< 1:10$ were considered negative. Antibody response (seroresponse) was defined as the appearance or ≥ 4 -fold rise in HI antibody titers after vaccination. **RESULTS:** From August 2007 to February 2010 131 donor and recipient pairs were included in the study: 38 pairs in group 1, 44 in the group 2, 40 in 3 group and 9 in group 4. There were no statistically difference between the 4 groups regarding to the clinical characteristics. At baseline 18% of recipients had protective antibody levels to A/H1N1, 32.8% to A/H3N2 and 63.3% to B. Donor serological condition was similar to recipients. Seroresponse occurred in 30,1% of donors to A/H1N1, 41,5% to A/H3N2 and 30,9% to B. Seroresponse until day 30 after transplant were detected in only 16,3% of the patients for the A/H1N1, 14.7% for A/H3N2 and 28.7% for B. Comparisons of geometric mean antibody concentrations was performed at baseline and day of transplantation, and also at 30, 60, 100, 180 days after HSCT e after 6 months influenza vaccine. For the A/H1N1 there was no statistically difference between groups until 180 days after HSCT. For the A/H3N2 a significant increase in geometric mean titers in the day of transplantation ($p=0,019$) was observed in groups 2 and 3 in relation to group 1 and lower geometric mean titers ($p=0,018$) at day 30 for patients in group 4. For subtype B, the differences between groups occurred in the day of the transplantation ($p=0,020$) and at 30 ($p= 0,018$) and 60 ($p=0,026$) day. The geometric mean titers were lower in group 4 in relation to the others. Seroresponse after 6-month vaccination occurred in 19,7% to A/H1N1, 18% to

A/H3N2 and 8.2% to B. There was no significant difference between the groups.
CONCLUSION: Immunogenicity to influenza vaccine was poor in HSCT recipients. Donor or recipient vaccination strategy prior to transplantation increased the geometric mean titers only for subtype A/H3N2 at day 30 after transplant. No impact was observed in seroresponse rates after 6-month vaccination.

INTRODUÇÃO

1. INTRODUÇÃO

Infecções representam a principal causa de morbimortalidade em receptores de transplante de células tronco hematopoiéticas (TCTH) alogênico^{1, 2, 3}.

Virtualmente todos os componentes do sistema imune - barreira cutâneo-mucosa, neutrófilos, células natural killer (NK), linfócitos B e linfócitos T – são afetados após o TCTH e se reconstituem de forma lenta e progressiva.

O risco de doença por vírus respiratórios da comunidade (VRC) é elevado em todas as fases do TCTH¹. Mucosite secundária aos esquemas de condicionamento, baixa secreção da imunoglobulina A (IgA) na mucosa do trato respiratório superior, redução da produção de imunoglobulina (IgG) e disfunção das células T citotóxicas são algumas condições predisponentes^{4, 5}.

Nas últimas duas décadas, com os avanços na detecção molecular, os VRC têm sido reconhecidos de maneira crescente como causa de infecção em pacientes submetidos ao TCTH^{2, 6, 7, 8, 9, 10, 11}. Sua incidência varia de 3,5% a 29%¹⁰ e a mortalidade relacionada é de 2% a 18%^{11, 12, 13}.

Receptores de TCTH geralmente apresentam altas cargas de VRC nas secreções respiratórias e excreção viral prolongada. Há também maior risco de progressão para doença das vias aéreas inferiores e pneumonia.^{4, 14, 10, 13}

Pelo potencial de causar doença grave em receptores de TCTH e pela disponibilidade de imunização, a influenza foi nosso objeto de estudo., em particular sua prevenção.

A vacinação contra o vírus da influenza sazonal é recomendada para todos os candidatos ao TCTH e anualmente, por toda a vida, para os receptores de TCTH^{1,3}. Protocolos internacionais do CDC e do Grupo Europeu para Transplante de Sangue e Medula Óssea – EBMT^{1,3} recomendam revacinação em média quatro a seis meses depois do TCTH.

A imunogenicidade da vacina em receptores de transplante, entretanto, é menos estudada. Pacientes submetidos ao TCTH, com menor número de células B e células plasmáticas e menor capacidade de produção de anticorpos, podem ser menos capazes de montar resposta imune humoral¹.

A despeito dessas respostas sorológicas subótimas ou ausentes, a eficácia clínica da vacina foi confirmada por MACHADO et al.¹⁵.

Na prática a imunização é negligenciada e os programas de transplante têm baixa aderência às orientações de reimunização. A recomendação original dos seis meses acaba se estendendo e o período de susceptibilidade a influenza nos receptores de TCTH é prolongado.

Nesse contexto, alternativas à imunização tradicional devem ser pensadas e introduzidas.

A vacinação do doador seria uma estratégia interessante, uma vez que células B ativadas e secretantes de Ac podem ser transferidas aos receptores de TCTH. Além disso, células B de memória e linfócitos T helper

do doador também são provavelmente transferidos, preparando o receptor para responder a vacinas administradas no após transplante^{16,17}.

Outra possibilidade seria imunizar os candidatos antes do TCTH¹⁸. Hipoteticamente, a vacinação do candidato a TCTH, imediatamente no pré-transplante poderia induzir resposta humoral e elevar os títulos de anticorpos a níveis protetores. Esta proteção poderia ser parcialmente conservada até a uma reconstituição imune mais robusta com a vacinação a partir do 6º mês.

Nosso estudo pretende avaliar essas duas estratégias de intervenção no pré transplante em doadores e receptores.

OBJETIVOS

2. OBJETIVOS

2.1 Geral

Avaliar diferentes estratégias de vacinação contra influenza em TCTH alogênico relacionado.

2.2. Específicos

2.2.1. Determinar a resposta imune humoral dos receptores de TCTH a diferentes esquemas de imunização, comparando níveis de anticorpos soroprotetores alcançados e taxas de soroconversão.

REVISÃO DA LITERATURA

3 REVISÃO DA LITERATURA

3. 1. O vírus influenza

O influenza é um RNA vírus de fita simples, que pertence à família dos Orthomyxoviridae¹⁸.

É classificado em três subtipos distintos – A, B e C, baseado em diferenças antigênicas. O influenza A tem ampla distribuição em diversas espécies - humanos, suínos, eqüinos, aves, mamíferos marinhos - e é o responsável por grandes pandemias. Os subtipos B e C são geralmente restritos a espécie humana¹⁹. O tipo C é muito incomum, mesmo na população imunocompetente. Não há relatos de influenza C em receptores de TCTH⁷.

A padronização da nomenclatura viral consiste na citação do tipo de vírus, seguido do local do seu isolamento inicial, cepa e ano do isolamento (por exemplo, A/HK/156/97). Influenza animal é identificada com as iniciais do animal afetado, antes da citação do local (por exemplo, A/Sw/HK/176/97), identificando o vírus suíno.

Todos os tipos, subtipos e cepas de influenza têm morfologia semelhante. A partícula viral tem cerca de 80 a 120 μ de diâmetro, e é esférica ou ligeiramente alongada. Há um envelope externo, parcialmente derivado da membrana celular do hospedeiro, que envolve uma matriz protéica, onde se encontra um genoma segmentado.

Na superfície do envelope viral, formando projeções ou espículas, se localizam as glicoproteínas HA e NA. Elas têm atividade enzimática essencial no ciclo reprodutivo celular.

- a hemaglutinina (HA) é produzida no segmento S4 do genoma segmentar e é responsável pelo ataque e fusão a membrana da célula do hospedeiro; participa da entrada do vírus na célula.

- a neuraminidase (NA) é produzida no segmento S5 e cliva o ácido siálico da superfície da célula do hospedeiro, permitindo a saída dos vírus recém formados da célula infectada.

O influenza A possui 15 tipos de HA antigenicamente distintos (H1-15) e pelo menos 9 tipos de NA (N1-N9). A maioria das doenças em humanos, entretanto, é causada apenas por alguns subtipos de HA (H1, H2, H3) e de NA (N1, N2)¹⁹.

A matriz protéica contém a proteína estrutural M1, que promove a estabilidade do vírus. Dentro do envelope os 8 segmentos de RNA de fita simples estão associados com uma nucleoproteína viral (NP) e com 3 polimerases – PB1, PB2 e PA.

Duas outras proteínas não estruturais (NS1 e NS2) são encontradas nas células infectadas e em pequena quantidade dentro dos virions.

O vírus influenza apresenta alta taxa de mutação²⁰. Essa particularidade prejudica a competência do sistema imune contra novas variantes, o que gera necessidade de novas vacinas a cada ano. A variabilidade antigênica envolve principalmente as glicoproteínas do envelope e é referida como “drift” e “shift” antigênicos^{8,21}.

“Drift” refere-se a alterações menores nas proteínas HA e NA. Geram, por exemplo, substituições em sítios de ligação de anticorpos. Apesar de imunidade contra a cepa selvagem, o indivíduo pode se re-infectado pela variante (KUMAR et al., 2010). Ocorrem frequentemente (a cada ano ou alguns anos) e estão associados com surtos mais localizados.

“Shift” implica em rearranjo de genes, com grandes alterações antigênicas nas glicoproteínas virais. Um subtipo viral completamente novo é gerado, e uma vez disseminado, pode ocasionar epidemias e pandemias como ocorreu com a influenza A/Califórnia/7/2009 (H1N1) em 2009. Geralmente o “shift” ocorre quando dois vírus influenza infectam simultaneamente o mesmo hospedeiro.

O vírus influenza A em particular tem essa capacidade de sofrer alterações antigênicas. O influenza B tem menor propensão as variabilidades e apenas “drifts” na HA têm sido descritos.

3.2 Epidemiologia da infecção por influenza em TCTH

A infecção por influenza em receptores de TCTH tem sazonalidade semelhante àquela observada na população em geral^{2,7,22}

Há maior concentração de casos entre o inverno e início da primavera. No hemisfério sul a estação de influenza é de abril a setembro, embora no Brasil o vírus circule o ano inteiro.

Dentro de uma mesma estação de influenza, a maioria dos casos pertence a cepa principal do vírus, embora outras cepas (menores) também

possam causar doença. De um ano para outro ocorre variação da cepa circulante dependendo da variabilidade antigênica do vírus, da composição das vacinas e da cobertura vacinal da população, além do uso de antivirais e resistência¹¹.

A transmissão do vírus influenza ocorre através da transferência de secreções respiratórias de um indivíduo infectado para outro susceptível. Pequenas partículas de aerossóis (< 10 µm), gerados por espirros, tosse e fala, são o principal veículo de transmissão. Grandes gotículas de secreções respiratórias podem contaminar as mãos, seguindo-se auto-inoculação na superfície mucosa dos olhos, boca e nariz. Mais raramente, pode haver transmissão por fômites²². No ambiente hospitalar a transmissão pode ocorrer a partir de paciente doente, mas também de visitantes e profissionais de saúde²³. Muitos casos são adquiridos de pessoas com mínimos sintomas⁴.

Receptores de TCTH são considerados “super-disseminadores” do vírus, devido a alta carga viral encontrada nas secreções respiratórias¹⁹. Além disso, em transplantados a excreção viral pode ser prolongada. Enquanto em adultos saudáveis tem duração média de 4,8 dias, NICHOLS et al²⁴. (2004) entre receptores de TCTH observaram excreção viral média de 7 dias (variação de 2-37 dias), sendo de até 11 dias em pacientes que não receberam tratamento. Excreção de influenza também pode ocorrer na ausência de sintomas respiratórios ou com sintomatologia mínima^{4, 14}, o que pode contribuir para surtos e emergência de variantes resistentes⁹.

A incidência da infecção por influenza é bastante variável entre os diversos serviços de TCTH.

Em um estudo pioneiro em dois centros de referência – Fred Hutchinson Cancer Research Center, em Seattle, Washington (USA) e o Swedish Hospital Medical Center, em Estocolmo, Suécia, LJUNGMAN et al.²⁵ identificaram 19% de infecção por VRC entre 78 receptores de TCTH, em período de 120 dias pós transplante. As coletas de espécimes respiratórios foram protocolares e independentes da presença de sintomas respiratórios. O vírus influenza representou 6,7% do total de VRC. A incidência de infecção por influenza no estudo foi de 1,3%.

WHIMBEY et al.²⁶ em estudo prospectivo na Universidade do Texas M.D. Anderson Cancer Center (MDACC), em Houston, Texas (USA) observaram 30,8% de infecção por VRC. Foram avaliados 217 receptores de TCTH com sintomas respiratórios agudos, no período de 1992 e 1994. Infecção por influenza foi responsável por 17,9% das infecções por CRV. A incidência de influenza nessa população foi de 5,2%.

LJUNGMAN^{12, 28} em outro estudo prospectivo multicêntrico com participação de 37 instituições associados ao Grupo Europeu para Transplante de Medula Óssea (EBMT), e que alocou 1.973 receptores de TCTH, detectou 4,7% de infecção por VRC. Influenza foi causa de 43,3% delas. A incidência de influenza no período estudado, 30 meses entre 1997 e 1999, foi de 2,1%.

Em outro estudo apenas com pacientes ambulatoriais, ROGHMANN et al.²⁷ acompanharam 62 receptores de TCTH por período de 120 dias pós

transplante. Infecção por VRC foi observada em 29% dos casos e o vírus influenza foi responsável por 22% delas. Nesse estudo a incidência de influenza foi calculada em 6,45%.

NICHOLS et al.²⁴ do grupo de Seattle, analisaram especificamente a ocorrência de influenza nos primeiros 120 dias pós transplante. Em um período de 12 anos – 1989 a 2002, dos 4.797 receptores de TCTH acompanhados prospectivamente apenas 1,3% tiveram infecção por influenza.

Em nosso meio, RABONI et al.¹³ em um estudo retrospectivo no Hospital de Clinicas da UFPR estudou amostras de 722 receptores de TCTH sintomáticos respiratórios, no período de 1993 a 1999. Infecção por VRC foi documentada em 8% dos pacientes. Infecção por influenza A e B foi confirmada em 37% dos VRC.

MACHADO et al.²⁹ observaram 38% de infecção por vírus respiratórios entre receptores de TCTH do Hospital das Clinicas da USP (SP) no período de 2001 e 2002. Influenza A e B representaram 60,3% de todas as infecções respiratórias .

È provável que parte dessas diferenças na frequência de infecções por VRC e influenza em particular, seja conseqüência das peculiaridades do centro transplantador. Serviços com predomínio de transplantes em crianças reportam maiores incidências de VRC. Da mesma forma, diferenças nos protocolos de imunossupressão e na disponibilidade de métodos de diagnostico viral também colaboraram¹⁹. Além disso, fatores epidemiológicos como o tipo e a virulência dos vírus circulantes naquela dada estação de

influenza e o nível de imunidade específica dos receptores (infecções anteriores, estado sorológico, imunização antes da imunossupressão) explicam as variações da incidência ao longo do tempo e entre as diferentes comunidades^{2,7,9}.

3.3 Manifestações clínicas principais da doença por influenza em TCTH

Em pacientes imunocompetentes a infecção por influenza é tipicamente um processo agudo e auto-limitado. Inicialmente predominam os sintomas sistêmicos - febre, calafrios, mialgia e cefaléia, que inclusive distinguem a infecção por influenza de outros VRC. Na seqüência, aparecem os sinais e sintomas respiratórios como obstrução nasal, coriza, tosse, faringite, que se tornam mais proeminentes à medida que a doença progride¹⁸.

A maioria dos receptores de TCTH com infecção por influenza apresenta sintomatologia de infecção das vias áreas superiores. Várias séries relatam presença de IVAS em 75% a 94% dos pacientes^{13, 30,24}. Pode haver sobreposição dos sintomas entre os vários vírus respiratórios, de forma que é difícil a distinção apenas clínica.

Pacientes submetidos ao transplante também podem apresentar quadros mais atípicos, com febre isolada e sintomas respiratórios mínimos, e às vezes até cursos assintomáticos,^{4,9,10,30}. Calafrios e mialgias, comuns em imunocompetentes, são raros em receptores de TCTH^{7,30,31,10}.

Receptores de TCTH são mais susceptíveis à pneumonia e mortalidade por influenza^{8, 21}. A incidência de infecção das vias aéreas inferiores e pneumonia depende do centro transplantador, mas varia de 6% a 75% dos casos^{4,12, 24,26,30}. O principal fator de risco para pneumonia é a linfopenia menor que 100 células no momento do diagnóstico da infecção por influenza^{12,24}. Estudos de autópsia documentam que o vírus influenza pode causar em traqueíte, bronquite, pneumonite hemorrágica, membranas hialinas dentro dos alvéolos e dos ductos alveolares⁴. Além disso, pode levar a alterações do clareamento mucociliar, ao aumento de aderência das bactérias às células epiteliais infectadas e a disfunções na quimiotaxia e fagocitose de neutrófilos, linfócitos e monócitos, aumentando assim o risco de infecção bacteriana e fúngica secundárias¹⁸. Pacientes que se recuperam da pneumonia por influenza podem persistir com sinais de lesão pulmonar, como tosse prolongada, sibilos e dispnéia (HICKS et al,2003). A melhora da função pulmonar ocorre lentamente, com recuperação do epitélio ciliar bronquiolar em média de 4 a 8 semanas.

A radiografia de tórax nos casos de pneumonia por influenza habitualmente mostra infiltrado intersticial difuso e doença alveolar. O achado mais comum à tomografia computadorizada do tórax (TCT) é a atenuação em vidro fosco, com distribuição bilateral e heterogênea. Nódulos centrolobulares de 3 a 10 mm, incluindo o padrão de árvore em brotamento, também são descritos. Consolidações ocorrem em cerca de 30% das infecções por influenza em receptores de TCTH. Nas TCT de alta resolução tem sido observado com frequência o padrão “crazy-paving”, que consiste no

espessamento dos septos interlobulares e intralobulares em áreas de opacificação em vidro fosco. Entretanto, essa alteração é inespecífica e também observada em outras pneumonites virais³².

Outras complicações, embora mais raras, incluem envolvimento do sistema nervoso central (SNC) com encefalite, mielite transversa, meningite asséptica, síndrome de Guillain – Barré, além de miosite, miocardite e pericardite e já foram descritas em TCTH^{4,11}.

Efeitos indiretos da infecção por influenza também têm sido descritos. Embora não observadas ainda em TCTH, já foram relatados em receptores de transplante de pulmão, rim e coração, levando a disfunção do enxerto e/ou rejeição. Tais efeitos seriam mediados pela ativação imune induzida pela infecção viral, com aumento de citocinas pró-inflamatórias –IL6, IL8, TNF- β ²³.

A mortalidade relacionada a influenza em TCTH, geralmente por pneumonia, é da ordem de 15%¹². NICHOLS et al²⁴ em sua série de 4.797 receptores de TCTH observaram 10% de mortalidade nos 62 casos confirmados de influenza, incluindo 1 (3%) de 36 pacientes com IVAS e 5 (28%) naqueles que evoluíram com infecção de vias aéreas inferiores /pneumonia.

3.4 Vacinação contra o vírus influenza em transplante de células tronco hematopoiéticas

Vacinação contra o vírus da influenza sazonal é recomendada para todos os candidatos ao TCTH e anualmente, por toda a vida, para os receptores de TCTH^{1, 3}. A vacina está especialmente indicada para aqueles indivíduos com DECH crônico ou enquanto durar a imunossupressão¹⁵.

Dois tipos de vacinas contra influenza estão disponíveis: a inativada e a de vírus vivo, para administração intranasal¹⁸. As vacinas inativadas podem ser produzidas com o vírus completo, com subunidades ou fragmentos virais (“split”). Não há dados em TCTH de que um tipo de vacina inativada seja mais eficaz em induzir resposta imune. A formulação disponível é uma preparação trivalente, que contém 15 µg de cada uma das duas cepas de vírus influenza A (H1N1 e H3N2) e 15 µg da cepa de influenza B. A segurança e a eficácia da vacina de vírus vivo não foi avaliada em receptores de TCTH e, portanto, não é recomendada nessa população.

A vacina inativada é segura e geralmente bem tolerada pelos adultos imunocompetentes. Dolorimento no local da injeção é evento mais reportado (60% a 80%) e febre baixa com discretos sintomas sistêmicos pode ocorrer em 10% a 20% dos pacientes²⁴. Cerca de 8% a 11% das crianças vacinados podem cursar com febre, mialgia, artralgia e mal estar¹⁸. Em receptores de TCTH os efeitos adversos reportados têm sido discretos e semelhantes àqueles observados em controles saudáveis¹⁸. Estudos não têm relacionado

a vacina de influenza a risco aumentado de DECH, embora sejam com limitados pelo pequeno tamanho das amostras^{12, 33}.

Devido alta taxa de mutação do vírus e conseqüente variabilidade das cepas ano a ano, a OMS monitora os isolados de influenza pelo mundo e recomenda os componentes das vacinas sazonais para a temporada de influenza nos hemisférios.

A eficiência da vacina sazonal depende primariamente da similaridade genética entre a cepa da vacina e vírus em circulação. Quando vírus vacinal e circulante são semelhantes, a expectativa de prevenção de influenza em pessoas saudáveis e com menos de 65 anos, é de 50% a 90%¹⁵.

A capacidade de induzir anticorpos específicos ou imunogenicidade da vacina, ao contrário, depende da idade do individuo, da competência do seu sistema imune e do estado imune prévio com relação ao vírus influenza¹⁵. Em indivíduos saudáveis e previamente expostos, a vacina aumenta os níveis de anticorpos IgG séricos, IgA em mucosas e ativa linfócitos T citotóxicos específicos de memória. Títulos de anticorpos (Ac) neutralizantes de 1:40 ou maiores são supostamente protetores contra a infecção em pacientes imunocompetentes.

A imunogenicidade da vacina em receptores de transplante entretanto, é menos estudada. Pacientes submetidos ao TCTH, com menor número de células B e células plasmáticas e menor capacidade de produção de anticorpos, podem ser menos capazes de montar resposta imune humoral. Os anticorpos podem ter baixa afinidade, de forma que títulos maiores podem ser necessários em pacientes imunodeficientes.

ENGELHARD et al.³⁴ avaliaram a resposta a duas doses da vacina de influenza em 48 pacientes submetidos ao TCTH (35 alogênicos) com depleção de células T. O tempo entre a administração da primeira dose da vacina e o transplante foi de 2-82 (mediana de 14,5) meses. Houve associação estatisticamente significativa ($P \leq 0,001$) entre o intervalo de tempo entre o transplante e momento da vacinação e níveis de anticorpos protetores ($\geq 1:40$). A administração precoce, antes de seis meses pós transplante, foi totalmente ineficaz. A vacinação tardia, mais de 2 anos pós transplante, levou a resposta imune em 64 a 71% dos pacientes. A segunda dose de vacina teve efeito apenas marginal nesse estudo.

Em outro estudo, PAUKSEN et al.³⁵ testaram o possível benefício do uso de fator de estimulação de colônias de granulócitos e macrófagos (GM-CSF) na imunogenicidade da vacina. Cento e dezessete receptores de TCTH (83 alogênicos) foram randomizados para receber GM-CSF concomitantemente com a vacina inativada. De maneira geral, a resposta foi ruim (25% a 34%). Definindo-se resposta imune como aumento de 4 vezes o título de anticorpos neutralizantes, a taxa de resposta nos pacientes vacinados entre 4-12 meses após o transplante foi de 31% para o H1N1, 9% para o H3N2 e 20% para o influenza B. A resposta a vacinação tardia (após o 12º mês pós transplante) foi de 13% para o H1N1, 40% para o H3N2 e 9% para o influenza B. Não houve diferença estatisticamente significativa nas respostas a vacina com uso do GM-CSF.

GANDHI et al.³⁶ em um estudo prospectivo vacinou oito receptores de TCTH alogênico, em média 16 meses pós transplante, e nenhum paciente respondeu com títulos protetores de anticorpos para quaisquer dos três subtipos virais.

Em um outro pequeno estudo, HAINING et al.³⁷ vacinaram quatro crianças entre 4 e 22 meses pós TCTH alogênico e novamente nenhuma apresentou resposta sorológica.

A despeito dessas respostas sorológicas subótimas ou ausentes, a eficácia clínica da vacina foi confirmada por MACHADO et al.¹⁵. Um grupo de 177 pacientes submetidos ao TCTH foi acompanhado por 12 meses após transplante, com vigilância de sintomas respiratórios. De 43 casos com mais de 6 meses de transplante, apenas 19 foram imunizados, e 2 deles adquiriram influenza. Entre os 24 não vacinados, influenza foi diagnosticada em 12 indivíduos. A eficácia da vacina foi estimada em 80%. Cento e trinta e quatro pacientes se encontravam dentro dos primeiros 6 meses pós transplante e ainda não eram portanto elegíveis para a vacinação. Nesse grupo susceptível a taxa de ataque da influenza foi de 18,6%.

Estudos mais recentes, com foco em outros marcadores de resposta imune, têm confirmado tal achado a despeito das baixas taxas de soroconversão. AVESTISYAN et al.³⁸ estudaram a resposta in vitro das células B e T de pacientes saudáveis e submetidos ao TCTH, vacinados contra a influenza entre 3 e 24 meses pós transplante. Apesar da resposta sorológica ruim (29%), a resposta de linfócitos T- CD4+ e de células B

secretoras de anticorpos avaliada por método de ELISPOT, aumentaram significativamente, principalmente após o 6º mês.

Alternativas à vacinação tradicional têm sido investigadas, como a imunização do doador. Embora não existam estudos com vacina de influenza, a literatura sugere que células B ativadas e secretantes de Ac sejam transferidas aos receptores de TCTH. Além disso, células B de memória e linfócitos T helper do doador também são provavelmente transferidos, preparando o receptor para responder a vacinas administradas no pós transplante.

Molrine et al.¹⁶ analisando 78 pacientes submetidos ao TCTH, observaram que receptores, cujos doadores foram imunizados com a vacina conjugada de Haemophilus influenza tipo b (HIB) e de toxóide tetânico tiveram níveis significativamente mais elevados de anticorpos protetores pós transplante que os pacientes sem vacinação do doador.

Em ensaio clínico randomizado com 65 pares de receptor-doador, o mesmo grupo de Molrine et al.¹⁷ demonstrou que a imunização do doador com a vacina pneumocócica conjugada heptavalente (PCV7), seguida da imunização do receptor aos 3, 6 e 12 meses após transplante, aumentou a resposta sorológica a vacina no primeiro ano do TCTH. A imunização do doador não só aumentou a média geométrica dos títulos (MGT) de anticorpos protetores, como a capacidade do receptor responder a doses da vacina no período pós transplante precoce (3 e 6 meses).

Corroborando os dados anteriores LAUSEN et al.³⁹ demonstrou que após imunização do doador, células B de memória transferidas para o receptor e persistiram por até nove meses pós TCTH.

A alternativa de vacinação do receptor, apesar de racional, não tem sido menos avaliada. Hipoteticamente, a vacinação do candidato a TCTH imediatamente no pré-transplante poderia induzir alguma resposta humoral e elevar os títulos de anticorpos a níveis protetores, Esta proteção poderia ser parcialmente conservada até a uma reconstituição imune mais robusta com a vacinação a partir do 6º mês pós transplante.

Não há publicações na literatura avaliando esta hipótese. Tentativas de imunizar pacientes hematológicos e em quimioterapia em geral não obtém sucesso^{41,41,42.}

MÉTODOS

4. MÉTODOS

4.1 Desenho do estudo

Realizou-se ensaio clínico randomizado, não cego, em população de doadores e candidatos ao TCTH alogênico do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Minas Gerais (HC/UFMG) em Belo Horizonte/MG e do Hospital Amaral Carvalho (HAC) em Jaú/SP.

O recrutamento dos participantes foi realizado de 06/08/07 a 30/10/09 no HC/UFMG e de 30/05/08 até 11/02/10 no HAC, durante três estações consecutivas de influenza. A captação dos casos ocorreu de forma contínua, exceto no período de fevereiro a abril de cada ano, pela não disponibilidade da vacina de influenza.

O seguimento dos casos foi realizado por período de um ano pós TCTH, encerrando-se no HC/UFMG em 20/07/2010 e no HAC em 02/07/2010.

4.2 Participantes

Foram elegíveis ao estudo os pares que apresentaram os seguintes critérios de inclusão e de exclusão:

- Inclusão:
- Ser candidato ao TCTH alogênico relacionado, independente da idade, e ter doador disponível para entrevista/imunização

- Exclusão:

- (1) previsão de realização do TCTH a menos de uma semana da data do recrutamento;
- (2) par (doador e/ou candidato a receptor) com histórico de alergia a ovo, proteína de galinha, timerosal ou neomicina;
- (3) par ((doador e/ou candidato a receptor)) com antecedente de reação grave a vacina antigripal prévia;
- (4) par ((doador e/ou candidato a receptor)) vacinado contra a gripe há menos de 6 meses do transplante com a cepa do ano vigente,

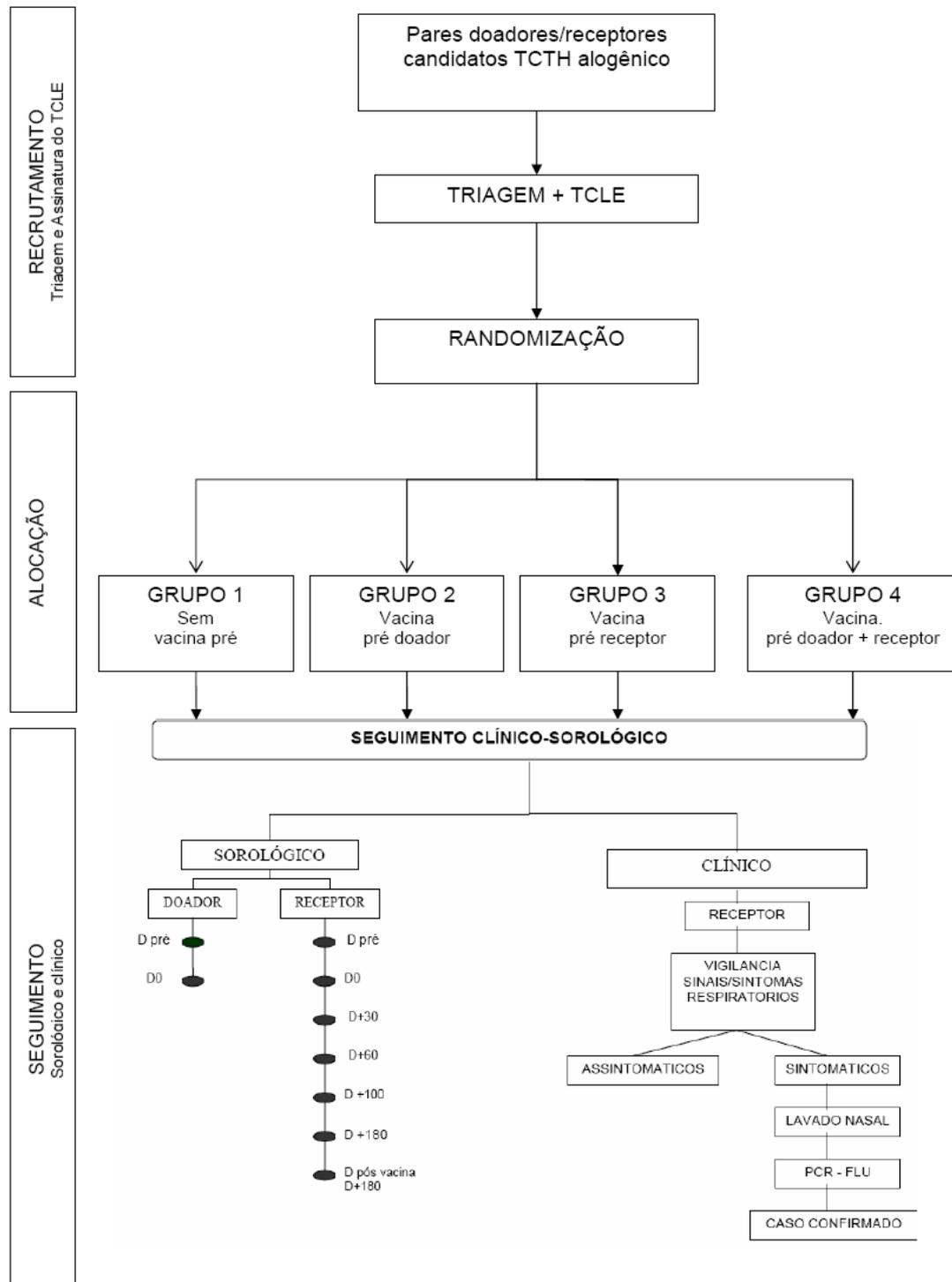
O processo de recrutamento em BH foi realizado pela pós graduanda e em Jaú pelas enfermeiras da equipe do estudo.

Todos os pares submeteram-se a triagem. A entrevista foi realizada nos ambulatórios de pré-transplante e na unidade de internação das duas instituições participantes. Utilizou-se instrumento específico para a avaliação (ficha de triagem – Anexo D).

A inclusão dos casos selecionados foi efetivada a seguir com a assinatura de termos de consentimento livre e esclarecido (TCLE) para paciente ou responsável e seu doador (Anexos E, F, G, H).

A seguir, cada par incluído foi alocado de forma aleatória em um de três grupos para receber ou não vacina contra influenza no pré TCTH (Figura 1).

Figura 1 – Fluxograma do estudo



Randomização

A randomização utilizou o modelo “em blocos” com o intuito de homogeneizar a distribuição dos pacientes entre os grupos. Uma lista de números aleatórios com seu respectivo grupo de randomização foi gerada em BH, pela pós graduanda, através da página da Universidade de Tufts (disponível em <http://www.tufts.edu/~gdallal/randomize.htm>) no início do estudo. Foram confeccionados cartões com as opções dos grupos de alocação, a seguir colocados dentro de envelopes opacos, numerados sequencialmente. Para cada envelope correspondia exatamente o cartão com o grupo de intervenção da lista de randomização. A seguir, os envelopes eram lacrados e em lotes de 20 unidades distribuídos alternadamente entre os dois serviços, durante todo o período de recrutamento. Na medida da inclusão dos casos, os envelopes eram abertos na seqüência. Pacientes, pesquisador e equipe conheciam o grupo de intervenção (estudo não cego).

No grupo 1 não houve imunização nem do doador e nem do receptor no pré transplante. A vacina de influenza foi administrada apenas no receptor a partir do 6º mês após TCTH, seguindo as orientações dos consensos internacionais e a padronização dos CRIE (FIGURA1)

Nos outros grupos foi realizada intervenção no pré transplante com vacinação do doador (grupo 2) e do receptor (grupo 3). Manteve-se a vacinação do receptor a partir do 6º mês após transplante conforme a recomendação dos consensos.

Em 06/2009 houve alteração do protocolo de randomização original. Uma pré análise de 35 pacientes no dia 180 pós transplante, identificou diferença estatisticamente significativa entre os grupos 2 e 3 em comparação com ao 1 (χ^2 , $p=0,006$). As taxas de soroproteção para pelo menos um antígeno viral foram as seguintes: Grupo 1: 0%, Grupo 2 (doador): 38,5%, Grupo 3 (receptor): 61%. Julgou-se inapropriado do ponto de vista ético manter-se o grupo de não intervenção. Consultoria com epidemiologista, corroborou o do grupo 1 e criação de um grupo 4, de vacinação combinada do par doador-receptor no pré transplante. Os Comitês de Ética das instituições envolvidas foram notificados e os TCLE readequados.

Tamanho da amostra

Dados da literatura reportam resposta sorológica da vacina de influenza em cerca de 25% dos pacientes imunizados após o 6º mês do transplante. Levando-se em conta que o doador é um indivíduo são, e que o estado imunológico do receptor é em geral melhor no período pré-transplante em comparação com os primeiros meses pós-TCTH, consideramos como clinicamente significativa uma resposta sorológica $\geq 55\%$ (diferença de pelo menos 30%), nos grupos recebendo esquemas alternativos pré-transplante. Desta forma, foi estimada a inclusão de 47 pacientes em cada braço do protocolo (EPInfo version 3.5.2). Considerando-se cerca de 10% de possíveis perdas, estimamos um número total de 150 pacientes no estudo.

4.3 Vacina anti-influenza

Doadores e receptores randomizados nos grupos 2, 3 e 4 receberam vacina de influenza trivalente, contendo 15 µg de hemaglutinina para cada cepa viral.

A composição das vacinas de influenza variou ao longo do estudo conforme as recomendações da OMS para a temporada de influenza no hemisfério sul (Quadro.1)

Quadro1. Composição das vacinas de influenza 2007 - 2009

Ano	Composição
2007	A/New Caledonia/20/99 - (H1N1) A/Wisconsin/67/2005 – (H3N2) B/Malasya/2506/2004
2008	A/Solomon Islands/3/2006 - (H1N1) A/Brisbane/12/2007 - (H3N2) B/Florida/4/2006
2009	A/Brisbane/59/2007 - (H1N1) A/Brisbane/10/2007 - (H3N2) B/Florida/4/2006

O tempo entre a administração da vacina de influenza e o transplante foi de no mínimo 7 dias e até 30 dias antes, tanto para os doadores, quanto receptores.

A partir do D+180 todos os receptores vivos e livres de recidiva foram encaminhados para (re) imunização conforme recomendação dos CRIEs e dos consensos internacionais. A presença de DECH crônico e/ou uso de imunossupressores não foram consideradas contra-indicações à vacinação.

Receptores que receberam a vacinação de influenza pelo protocolo do estudo no ano da randomização, poderiam receber outra dose com as cepas do ano vigente após o período de pelo menos 6 meses pós TCTH.

Maiores de 9 anos de idade receberam dose única de 0,5 ml intramuscular da vacina, conforme orientação dos CRIEs.

Crianças menores de 9 anos, entretanto, receberam apenas uma dose da vacina no pré transplante. Questões relacionadas a logística de agendamento dos TCTH nos centros e a própria condição clínica do candidato ao transplante, inviabilizavam a 2ª dose da vacina 30 dias depois. Dessa forma, doadores e receptores de três a oito anos receberam dose única de 0,5 ml da vacina e os de 6 meses a 3 anos dose de 0,25 ml. As doses de vacinação das crianças a partir do D+180 seguiram as recomendações habituais dos CRIEs.

As vacinas foram disponibilizadas pelo serviço público de saúde, através do CRIE de Belo Horizonte e da Secretaria Municipal de Saúde em

Jaú. Em 2009 foram compradas 50 doses diretamente do laboratório Pasteur/Merieux.

Informações sobre o lote, a validade e o laboratório fornecedor de todas as vacinas foram também coletadas.

Reações adversas á vacinação não foram avaliadas no estudo.

4.4 Protocolo de avaliação e seguimento

4.4.1. Sorológico

Todos os pares D/R incluídos coletaram uma amostra inicial de 5 ml de sangue total no momento da alocação no estudo (D pré).

Novamente no dia do transplante (D0) ambos realizaram nova coleta de sangue e a participação do doador foi encerrada.

A partir de então apenas os receptores realizaram seguimento sorológico até o D+180. Coletas seqüenciais de sangue foram realizadas nos dias +30, +60, +100, +180, sendo aceitos exames coletados entre 7 dias antes até 7 dias depois da data prevista.

Casos de óbito, recidiva da doença de base, abandono do seguimento ou transferência de serviço foram motivos de encerramento da participação dos receptores no estudo.

Os receptores vivos no D+180, sem recidivas da doença de base foram encaminhados para (re) vacinação de influenza a partir do 6º mês pós TCTH com a cepa do ano vigente. Uma nova amostra de sangue foi coletada de 2 a 4 semanas após a vacina.

Todas as amostras de sangue coletadas no HC-UFMG foram centrifugadas e o soro estocado a -20°C no Laboratório Central da Faculdade de Medicina. O envio do material para o laboratório de virologia do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo (IMTSP-USP) aconteceu a posteriori, em lotes, acondicionados em gelo seco, sob responsabilidade da pós-graduanda. As amostras de sangue do HAC/Jaú tiveram fluxo contínuo para SP, com remessas semanais conforme a rotina da instituição.

Para alguns casos selecionados do HAC/Jaú foi disponibilizado um kit para coleta da sorologia em papel de filtro. O procedimento foi necessário para as coletas previstas do D+180 e após a vacina do D+180 dos pacientes que já haviam retornado à cidade de origem, e se encontravam longe do centro transplantador. As amostras foram enviadas diretamente para o IMTSP-USP.

No IMT-USP todo o material permaneceu estocado a -20°C até realização das sorologias. Os exames foram realizados pela colaboradora – Lucy Vilas Boas, conforme técnica descrita no item 3.5.1. Todas as amostras do par D/R foram processadas simultaneamente.

4.4.2. Clínico

Todas as informações clínicas, tais como dados sócio-demográficos, doença de base, detalhes do transplante, ocorrência de DECH agudo ou crônico e imunossupressão foram coletadas (ANEXO G).

A partir do dia do transplante (D0) realizou-se vigilância de sinais e sintomas respiratórios nos receptores do TCTH. Todos os pacientes foram

acompanhados clinicamente por um ano após o transplante. Óbito, recidiva da doença de base, abandono do seguimento ou transferência de serviço foram condições de perda do acompanhamento.

O seguimento clínico dos casos ocorreu durante a internação para o transplante, nas reinternações, e nas visitas ambulatoriais e em hospital-dia.

No HC-UFMG as visitas à unidade de internação foram realizadas diariamente pela pós-graduanda, com busca ativa de pacientes sintomáticos respiratórios. No ambulatório de pós TCTH a avaliação ficou sob responsabilidade de enfermeira colaboradora do estudo e acontecia no mesmo dia das consultas com a equipe do transplante, em média de uma consulta por semana até o D+100.

No HAC todo o seguimento clínico foi realizado pelas enfermeiras do projeto. Durante a internação na unidade de TCTH, a busca de sintomas de respiratórios foi feita ativamente, duas vezes por semana. Após a alta, a vigilância de sintomas respiratórios continuou sendo feita ambulatorialmente, duas vezes por semana, por pelo menos 100 dias. Após o D+100, a avaliação de sintomas respiratórios foi realizada nas datas de consulta agendadas com a equipe do transplante.

Não foi estabelecido um número definido mínimo de consultas de vigilância nos 6 meses de seguimento. No final do estudo foi feita uma média do total de consultas de vigilância por paciente em cada centro. Após a consulta do D+180 e imunização de influenza, o paciente era reavaliado no D+12 meses, quando recebia alta. Óbitos, recidivas da doença de base ou

transferências ocorridas nesse intervalo D+6 e D+12 m, eram notificadas nesse momento.

Pacientes com sintomas respiratórios agudos foram orientados a fazer contato por telefone com a equipe do estudo ou a procurarem diretamente o serviço de urgência dos HC-UFMG e do HAC. Entretanto, é provável que muitos pacientes, já distantes do centro transplantador e/ou com sintomas respiratórios leves não tenham procurado assistência médica ou notificado a equipe.

A vigilância dos sinais e sintomas foi padronizada através de um formulário específico (ficha de vigilância de síndrome respiratória – ANEXO 6). Dados relativos a data de início dos sintomas, apresentação clínica, resultados dos exames de imagem (RX de tórax e tomografia de tórax e/ou seios da face), do tratamento e evolução foram coletados.

Definiu-se síndrome respiratória pós transplante da seguinte forma:

1. IVAS - presença de dois ou mais dos seguintes sintomas/sinais, independente de febre, com exame de imagem do tórax normal: cefaléia, dor facial, obstrução nasal, coriza, gotejamento nasal posterior, otalgia, otorréia, dor de garganta, rouquidão, tosse independente de expectoração, mialgia ou artralgia;
2. IVAI/pneumonia – presença de dois ou mais dos seguintes sintomas e/ou sinais, independente de febre, com alteração do exame de imagem do tórax: tosse seca ou com expectoração, dor torácica, dispnéia ou aumento da frequência respiratória acima de 20 ipm,

alterações da ausculta respiratória (redução do murmúrio vesicular ou presença de crepitações).

Pacientes sintomáticos respiratórios em qualquer momento do seguimento coletaram lavado nasal (LN) para diagnóstico do vírus influenza. Sucintamente, a técnica de coleta consistia da instilação seqüencial em cada narina de um pequeno volume (cerca de 3 ml) de soro fisiológico estéril, utilizando-se seringa ou cateter fino, seguida de assoamento do nariz em um recipiente estéril. Pacientes conscientes e colaborativos realizaram a auto-coleta de LN, com orientação da pós-graduanda ou das enfermeiras do projeto. Crianças pequenas, pacientes com alterações do estado neurológico, e/ou em ventilação mecânica tiveram suas coletas realizadas, através de aspiração da secreção da nasofaringe por cateter conectado em sistema a vácuo, do aspirado traqueal ou do lavado bronco-alveolar. O material foi acondicionado em gelo transportado para o laboratório o mais rápido possível.

O espécime respiratório foi coletado preferencialmente no primeiro dia e no máximo no 3º dia do início dos sintomas respiratórios. Apenas uma amostra por paciente foi considerada por episódio de síndrome respiratória.

No HAC o processamento das amostras respiratórias foi realizado no próprio Laboratório de Citoquímica. Foi realizada técnica rápida de imunofluorescência direta (IFD) ou indireta (IFI) para orientação terapêutica, quando cabível. Uma alíquota da amostra foi estocada a -80°C para posterior extração do RNA e realização de reação em cadeia por polimerase (PCR).

No HC-UFMG todos os espécimes respiratórios foram estocados em estado “bruto” a – 80° C, com envio posterior das amostras ao Laboratório de Virologia do IMTSP-USP.

Doença respiratória comprovadamente relacionada ao vírus influenza foi considerada aquela IVAS ou IVAI/pneumonia com detecção do vírus influenza A ou B pela técnica de PCR no espécime respiratório.

Definiu-se progressão da IVAS o início dos sinais e sintomas definidores de IVAI/pneumonia em paciente com IVAS prévia ou concomitante.

Óbito por IVAI/pneumonia foi considerado aquele que resultou de insuficiência respiratória durante o episódio de IVAI/pneumonia.

4.5 Métodos diagnósticos

4.5.1 – Reação de hemaglutinação

A detecção e a titulação de anticorpos neutralizantes para o vírus da influenza foi realizada através do método de inibição da hemaglutinação (IHA) descrita por HIRST (1941) e modificada por Salk (1944), conforme detalhamento a seguir.

Cultura de células

Os vírus foram cultivados em células MDCK de linhagem estabelecida, originada de rim de cachorro, mantidas e subcultivadas em meio de Eagle (MEM), adicionado de 10% de soro fetal bovino e antibióticos (100 U de

Penicilina G potássica, 100 µg de estreptomicina e 2 µg de Anfotericina B por ml).

Os subcultivos foram feitos num intervalo de 3 a 4 dias, a seguir: o meio de cultivo foi desprezado, a monocamada celular lavada com PBS, para retirada de resíduos de soro fetal bovino, que inibem a ação da tripsina. Adicionaram-se 10 ml de solução de tripsina a 0,2% e EDTA a 0,02% (ATV) e mantiveram-se as garrafas em temperatura ambiente. Quando a camada de células começou a desprender-se, a solução de tripsina foi removida e a garrafa foi mantida a 37°C até o desprendimento total das células.

Uma suspensão de células contendo três vezes o volume inicial de meio nutriente foi preparada e posteriormente foi distribuída em garrafas retangulares com aproximadamente 42 cm² de área útil (20 ml por garrafa) e incubadas a 37°C.

Cultivo do vírus

O meio de crescimento das garrafas foi desprezado e lavou-se a monocamada celular com PBS por duas vezes. Inoculou-se a suspensão de vírus, contendo 0,1% de tripsina e incubou-se a 33°C por sessenta minutos.. Adicionou-se o meio de manutenção Eagle (MEM) suprimido de soro fetal bovino. As garrafas foram mantidas a 33°C por 48/72 horas. Observou-se diariamente ao microscópio, para verificar a presença de efeito citopático.

Foram colhidas alíquotas do sobrenadante e feita titulação por hemaglutinação, para confirmar a presença e potência do vírus. Se o título do vírus fosse ≥ 4 UHA (unidades hemaglutinantes), as garrafas eram congeladas por 24 horas a -70°C. A seguir as garrafas foram congeladas e

descongeladas por três vezes, para arrebentar as células e liberar o vírus. A suspensão de células foi centrifugada a 1200 g durante 10 minutos a 4°C. O sobrenadante foi distribuído em alíquotas de 500 µl e estocado a -70°C, até o uso.

Os antígenos H1, H3 e B utilizados foram os recomendados pela OMS anualmente e foram fornecidos gentilmente pelo CDC, Atlanta.

Hemácias de galinha e peru

Hemácias de galinha e peru foram colhidas por punção venosa no biotério do Instituto de Medicina Tropical e misturadas rapidamente com igual volume de solução de Alsever. A seguir foi feita uma filtração em gaze e conservado a 4°C até o uso.

Para utilização na reação, lavou-se três vezes com PBS, fazendo-se três centrifugações sucessivas a 900g por cinco minutos. Por último fez-se uma centrifugação a 900g por dez minutos e preparou-se uma suspensão contendo 0,5% de hemáceas. Esse procedimento foi realizado sempre no dia de uso.

Segundo recomendação do CDC devem-se usar hemácias de peru para o vírus H3N2 e hemácias de galinha para os vírus H1N1 e Influenza B

Titulação do antígeno

A titulação foi feita em duplicata, usando-se placas de microtitulação com cavidade em "U". Na primeira fileira foi colocado 100µl de antígeno, nas demais fileiras 50µl de PBS. Com uma micropipeta multicanal transferiu-se 50 µl para o segundo orifício e assim procedeu-se a diluição em múltiplos de dois.

Adicionou-se em todos os orifícios 50 µl de hemácias a 0,5%. A placa foi agitada por um minuto e mantida à temperatura ambiente por trinta minutos. O controle das hemácias foi feito usando-se apenas o diluente (PBS) e as hemáceas a 0,5% .

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

Tratamento do soro

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

Em tubos 12x74 mm adicionou-se 50 µl de soro e 150 µl de RDE, portanto foi feito uma diluição inicial do soro a 1/4. Os tubos foram agitados e incubados em banho-maria a 37°C por 18 horas. Decorrido esse tempo os tubos foram transferidos para um banho-maria a 56°C e incubados por 30 minutos, para inativação do RDE. A seguir 300µl de solução fisiológica 0,85% foi adicionado aos tubos. Os soros após esse procedimento, foram

considerados como diluídos a 1/10. Após esse tratamento todos os soros foram testados para comprovar a destruição dos inibidores inespecíficos.

Adicionou-se 25 µl de soro tratado a 25 µl de PBS e 50 µl de hemáceas, incubou-se 30 minutos a temperatura ambiente. A presença do botão de hemáceas confirmava a remoção dos inibidores, caso contrário, seria necessário fazer um tratamento com papa de hemácias e refazer o teste. Os soros foram estocados a -20°C até o momento da execução da reação

Execução da reação de inibição de hemaglutinação

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

O teste foi realizado para cada um dos subtipos virais – H1N1, H3N2 e B. O título foi a recíproca da última diluição do soro que inibiu completamente a hemaglutinação.

Definições:

A interpretação dos títulos de Ac neutralizantes seguiu a normatização OMS. – Títulos $\geq 1:40$ foram considerados protetores;

- Títulos entre 1:10 e 1:20 foram considerados não protetores;
- Títulos $\leq 1:10$ foram considerados negativos

Condição sorológica basal de doadores e receptores foi considerada aquela presente no pré transplante.

Soroconversão foi definida como o aumento de 4 vezes ou mais o título de anticorpos para o mesmo subtipo viral, entre dois exames consecutivos ou a positividade de exame antes negativo para o mesmo subtipo viral.

Soroconversão após vacina pré – TCTH foi avaliada no D0 e D30. e considerada aquela observada até 30 dias após a imunização;

Soroconversão após a vacinação do 6º mês foi comparada com os títulos do D+180.

4.5. 2 Reação de reação em cadeia da polimerase

Os exames de cadeia da polimerase para o influenza A sazonal, influenza A pandêmico e influenza B foram realizados no laboratório de virologia do IMT-USP e no laboratório de citoquímica do HAC.

O material congelado a -80° C procedente de BH e Jaú foi processado no final do estudo.

Os protocolos para realização do realtime PCR para o influenza A e B foram os padronizados pela OMS e disponíveis.

4.6 Ética

O estudo foi aprovado pelos Comitês de Ética em Pesquisa da UFMG, do HAC e do HC-USP de acordo com as normas da Resolução 196/96 do Conselho Nacional de Saúde, que regulamenta as atividades de pesquisa em seres humanos.

A inclusão de cada par D/R foi realizada após esclarecimento sobre os objetivos da pesquisa, procedimentos e riscos seguidos de assinatura do TCLE pelos próprios pacientes e doadores ou seus responsáveis legais.

A investigação dos pacientes foi realizada respeitando-se o sigilo e a confidencialidade das informações.

4.7 Análise estatística

O banco de dados foi construído utilizando-se o programa Excell (Microsoft) a partir das fichas de triagem e seguimento. A digitação dos dados foi realizada pela pós-graduanda e a avaliação da consistência checada pela orientadora.

As análises estatísticas foram realizadas utilizando-se o programa SPSS para Windows, versão 19.0 (SPSS Inc, Chicago, IL).

O desfecho primário do estudo foi a comparação da resposta sorológica sorotipo-específica (soroconversão) dos receptores entre os quatro grupos de vacinação para influenza até 30 dias pós transplante e após o dia 180.

A proporção de pacientes com títulos soroprotetores no pré transplante e nos dias zero (D0), + 30, +60, +100 e + 180 após o TCTH foi comparada

pelo teste do Chi-quadrado. A média geométrica dos títulos (MGT) da concentração de anticorpos foi calculada para cada grupo de intervenção, nos vários tempos de seguimento, para cada antígeno individualmente. Para comparações das MGT os vários foram transformados em logaritmo na base 10 e comparados por análise de variância (ANOVA).

Adotamos o nível de significância de 5% (0,05) para a aplicação de todos os testes estatísticos.

RESULTADOS

5. RESULTADOS

5.1 Fluxo dos participantes

Um total de 212 pares de candidatos ao TCTH e seus doadores foram avaliados quanto à elegibilidade nos dois centros transplantadores - 63 (29,7%) - HC/UFMG e 149 (70,3%) - HAC no período de 06 de agosto de 2007 a 11 de fevereiro de 2010. O fluxograma dos participantes é apresentado na figura 2.

Durante o recrutamento 74 dos 212 pares (34,9%) foram excluídos – 13 (17,6%) - HC/UFMG e 61(82,4) - HAC. Dos 74 pares, 29(39,2%) não preenchiam os critérios de elegibilidade (9 - HC/UFMG, 20 - HAC), 26 (35%) se recusaram a participar (3 - HC/UFMG, 23 - HAC), quatro (5,4%) tiveram seu transplante cancelado (1 - HC/UFMG, 3 - HAC) e finalmente 15 (20,3%) pares do HAC foram excluídos por motivos diversos – quatro receptores tinham doença de base em atividade, dois pacientes apresentavam plaquetopenia severa, impossibilitando injeção intramuscular, um caso de retransplante e oito crianças foram excluídas por equívoco na interpretação dos critérios de elegibilidade.

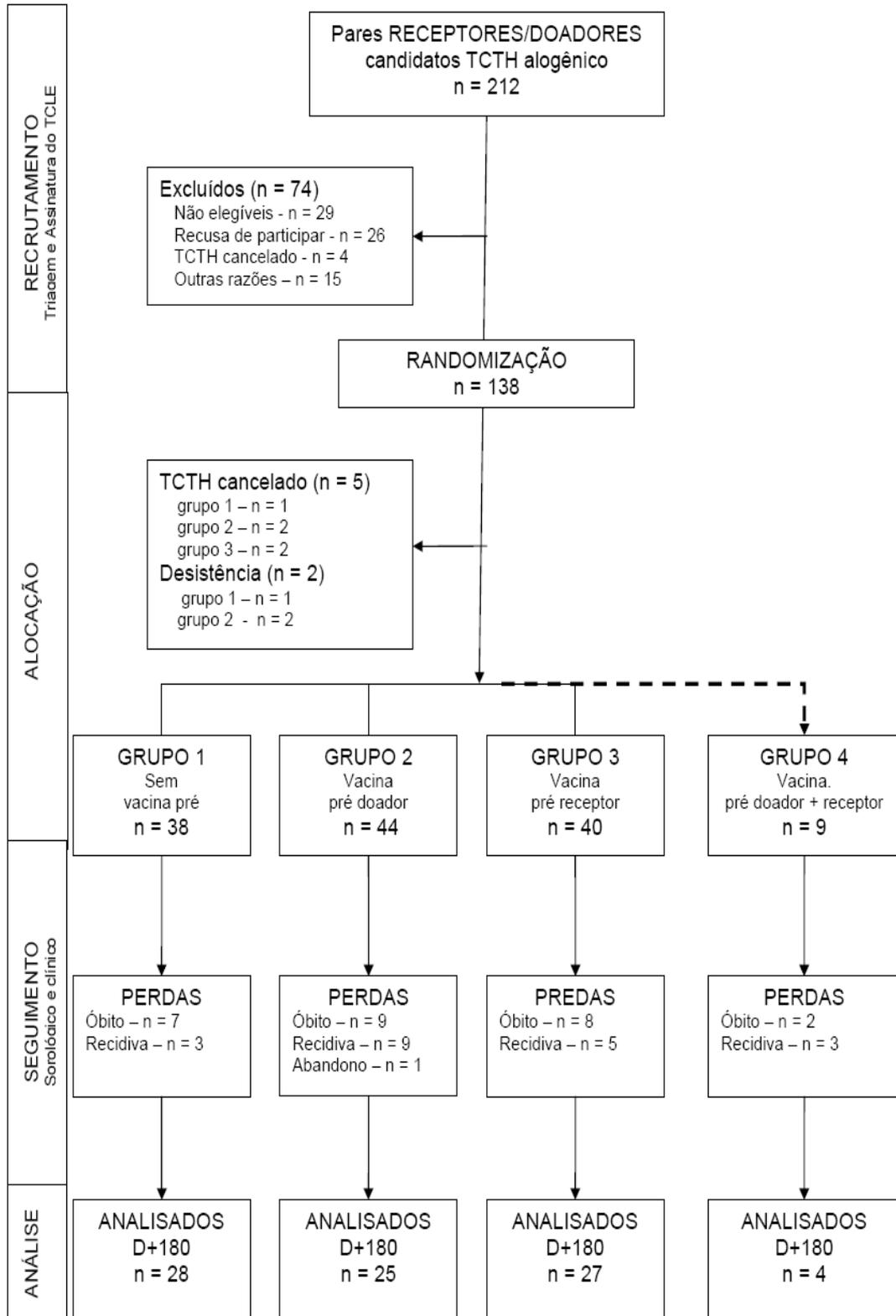
Dos 138 pares randomizados, outros sete foram excluídos após a alocação (5 – HC/UFMG e 2 – HAC). Cinco pacientes tiveram o transplante cancelado (um par do grupo 1, dois do grupo 2 e dois do grupo 3). Dois outros desistiram do transplante (um do grupo 1 e um do grupo 2)

Efetivamente 131 pares de candidatos ao TCTH e seus doadores foram incluídos

A randomização inicialmente alocou os pares em 3 grupos, conforme a imunização pré transplante em grupo 1 – sem vacinação; grupo 2 - vacinação do doador, grupo 3 – vacinação do receptor. Com a mudança do protocolo e o cancelamento do grupo 1, a partir de 06/2009 os pares foram randomizados entre os grupos 2, 3 e 4.

Trinta e oito pares dos 131(29%) foram alocados no grupo 1, 44 (33,6%) no grupo 2, 40 (30,5%) no grupo 3 e 9 (6,9%) no grupo 4. no estudo - 86 (65,6%) do HAC e 45 (34,4%) do HC-UFMG.

Figura 2 – Fluxograma dos participantes



Todos os 53 doadores randomizados nos grupos 2 e 4 foram vacinados entre 6 a 31 dias antes do transplante: grupo 2 (mediana de 11,5 dias) e grupo 4 (mediana de 8 dias). Os 49 receptores randomizados nos grupos 3 e 4 receberam a vacina entre 6 e 50 dias antes do transplante: grupo 3 (mediana de 10,5 dias), grupo 4 (mediana de 9 dias).

No seguimento até 180 dias pós TCTH, 47 (35,9%) dos 131 receptores perderam o acompanhamento: 26 (55,3%) por óbito, 20 (42,6%) por recidiva da doença de base e um (2,1%) paciente por abandono do estudo. Das 47 perdas, 10 (26,3%) eram do grupo 1, 19 (43,2%) do grupo 2, 13 (32,5%) grupo 3 e 5 (55,6%) no grupo 4.

Finalmente 84 dos 131 (64,1%) pacientes originalmente incluídos concluíram o estudo e estavam disponíveis para as análises do D+180 e para a vacinação de influenza pós transplante: 28 (33,3%) do grupo 1, 26 (31%) do grupo 2, 26 (31%) do grupo 3 e 4 (4,8%) do grupo 4.

5.2 Características dos pacientes e doadores

As características demográficas e clínicas da população de doadores-receptores são mostradas na tabela 1.

Os quatro grupos de randomização não diferiram significativamente em relação a idade e sexo do receptor e do doador, compatibilidade HLA,

diagnóstico, fonte da célula tronco, tipo de condicionamento, uso de anticorpos no condicionamento e presença de DECH aguda e crônica.

5.3 Resposta sorológica à vacinação de influenza no pré transplante

5.3.1 Doadores

A condição sorológica pré transplante foi avaliada em 126 doadores. Amostra não foi obtida em cinco (3,8%) casos.

Vinte e dois (17,5%) doadores apresentavam anticorpos em títulos protetores para a cepa A/H1N1, 31 (24,6%) para A/H3N2 e 85(67,5%) para o subtipo B (Tabela 2).

Não houve diferença estatisticamente significativa entre os quatro grupos de randomização para os antígenos A/H1N1 e A/H3N2 (Tabela 2). Com relação ao antígeno B, entretanto, encontrou-se diferença significativa entre os grupos e aplicação do teste exato de Fisher, ajustado pela Correção de Bonferroni, demonstrou que o grupo 4, apresentava menor número de doadores com títulos protetores em relação aos demais

Tabela 1 – Características de 131 pares de receptores - doadores de transplante de célula tronco hematopoiética, 2007- 2010

Características	Grupo 1 (n= 38)	Grupo 2 (n= 44)	Grupo 3 (n = 40)	Grupo 4 (n = 9)
Mediana idade (anos)				
Doadores	28	27,5	26	37
Receptores	28,5	26,5	23	41
Sexo – M/F				
Doadores	23/15	22/22	22/18	5/4
Receptores	22/16	36/8	26/14	7/2
HLA (n=130)				
Idêntico	38	41	38	9
Doença de base				
Leucemias agudas	11 (28,9)	20 (45,5)	22 (55)	6 (66,7)
Leucemias crônicas	7 (18,4)	4 (9,1)	3 (7,5)	1 (11,1)
Linfomas	5 (13,2)	5 (11,4)	3 (7,5)	0
Mielodisplasia	1 (2,6)	4 (9,1)	3 (7,5)	2 (22,2)
Anemia aplásica	13 (34,2)	10 (22,7)	7 (17,5)	0
Outras	1 (2,6)	1 (2,3)	2 (5,0)	0
Fonte da célula tronco				
Medula óssea	21 (55,3)	25 (56,8)	20 (50)	4 (44,4)
CTP	16 (42,1)	19 (43,2)	20 (50)	5 (55,6)
Medula + CTP	1 (2,6)	0	0	0
Condicionamento (n = 127)				
CY+ Bu	15 (31,3)	15 (31,3)	18 (37,5)	0
Bu + Flu	5 (20,8)	10 (41,7)	6 (25)	3(12,5)
Condicionamento com Ac (n=129)	13 (34,2)	11 (25)	10 (25,6)	3 (37,5)
DECH aguda (n=128)	13 (31)	15 (35,7)	13 (31)	1 (2,4)
DECH crônica (n = 108)	10 (31,3)	12 (37,5)	10 (31,3)	0

Nota: Dados representam número de pacientes (%), exceto quando especificado.
 Para todas as comparações o valor de p não foi estatisticamente significante.
 HLA - antígeno da histocompatibilidade maior; Risco da doença – doença não avançada – Doença avançada; CTP - célula tronco periférica; Ac - anticorpos: timoglobulina ou Campath; DECH – doença do enxerto contra hospedeiro
 n – varia devido a dados não disponíveis para algumas variáveis

Tabela 2 - Condição sorológica de doadores no pré e no dia transplante de células tronco hematopoiéticas, segundo grupo de randomização – 2007 a 2010

Subtipo viral	Tempo TCTH	HAI	Grupos de Randomização				TOTAL	P
			<u>1</u>	<u>2</u>	<u>3</u>	<u>4</u>		
A/H1N1	PRE	≥1:40	4(18,2)	10(45,5)	7(31,8)	1(4,5)	22	0,54
		<1:40	32(30,8)	34(32,7)	30(28,8)	8(7,7)	104	
	D0	≥1:40	6(10,5)	36(63,2)	7(12,3)	8(14)	57	<0,001
		<1:40	30(42,30)	8(11,3)	32(45,1)	19(1,4)	71	
A/H3N2	PRE	≥1:40	7(22,6)	12(36,7)	10(32,3)	2(6,5)	31	0,84
		< 1:40	20(30,5)	32(33,7)	27(28,4)	7(7,4)	95	
	D0	≥1:40	9(14,5)	35(56,5)	11(17,7)	7(11,3)	62	<0,001
		<1:40	27(40,9)	9(13,6)	28(42,4)	2(3)	66	
B	PRE	≥1:40	25 (29,4)	30(35,3)	29(34,1)	1(1,2)	85	0,002
		< 1:40	11(26,8)	14(34,1)	8(19,5)	8(19,5)	41	
	D0	≥1:40	26(26,5)	35(35,7)	30(30,6)	7(7,1)	98	0,895
		<1:40	10(33,3)	9(30)	9(30)	2(6,7)	30	

* teste chi quadrado

A vacina de influenza foi administrada entre 6 a 31 dias antes do transplante nos 53 doadores alocados nos grupos 2 e 4 (mediana de 11,5 dias no grupo 2 e de e 8 dias no grupo 4

Cento e vinte e oito doadores foram avaliados com relação aos títulos de anticorpos protetores no dia do transplante (D0). Três (2,3%) doadores não tinham amostras disponíveis.

Cinquenta e sete (44,5%) doadores apresentaram títulos $\geq 1:40$ para o A/H1N1, 62 (48,4%) para o A/H3N2 e 98 (76,6%) para o B. Para os subtipos

A/H1N1 e A/H3N2 houve associação estatisticamente significativa (teste X^2 , $p < 0,001$) entre a frequência de soroproteção no D0 e pertencer ao grupo de vacinação do doador (Tabela 2).

Comparando-se o pré e o dia do transplante houve aumento significativo ($p < 0,001$) da frequência de doadores com títulos protetores para todos os subtipos virais - 27,6%, 25% e 9,7%, para o A/H1N1, A/H3N2 e B respectivamente (Tabela 3).

Tabela 3 - Comparação da proporção de doadores com títulos protetores de anticorpos antes e no dia do transplante de células tronco hematopoiéticas – 2007a 2010

Subtipo viral	Pré transplante	D0	Taxa de aumento (%)	p
A/H1N1	22(17,9%)	56(45,5)	27,6	<0,001
A/H3N2	30(24,4)	61(49,6)	25	<0,001
B	82(66,7)	94(76,4)	9,7	<0,001

* teste chi quadrado

Soroconversão foi analisada em 123 doadores. Oito (6,1%) não tinham amostras disponíveis.

Tabela 4 – Taxas de soroconversão de 123 doadores após vacinação de influenza no pré transplante – 2007a 2010

Subtipo viral	SC	Grupos de randomização				TOTAL	P
		n(%)					
		1	2	3	4		
H1	SC	1(2,7)	28(75,7)	1(2,7)	7(18,9)	37	<0,001
	Ø	33(38,4)	16(18,6)	35(40,7)	2(2,3)	86	
H3	SC	7(33)	33(64,7)	4(7,8)	7(13,7)	51	<0,001
	Ø	27(37,5)	11(15,3)	32(44,4)	2(2,8)	72	
B	SC	6(15,8)	24(63,2)	3(7,9)	5(13,2)	38	<0,001
	Ø	28(32,9)	20(23,5)	33(38,8)	4(4,7)	85	

SC – soroconversão; Ø – ausência de soroconversão

* Chi quadrado

A taxa de soroconversão foi de 30,1% (37/123) para o influenza A/H1N1, de 41,5%(51/123) para o A/H3N2 e de 30,9%(38/123) para o B, sendo observada diferença significativa para todos os subtipos virais, entre os quatro grupos de vacinação. Aplicação do teste exato de Fisher, ajustado pela correção de Bonferroni, no entanto, comparando os grupos par a par, somente conseguiu definir que os grupos 1 e 3 eram estatisticamente diferentes do 2 e 4. Não houve diferença estatística nas taxas de soroconversão entre os grupos de imunização do doador e imunização do doador e receptor.

5.3.2. Resposta dos receptores

Sorologia pré transplante foi avaliada em 128 receptores. Três (2,3%) pacientes não tinham exames coletados.

Vinte e três (18%) receptores apresentavam títulos protetores de anticorpos contra o subtipo A/H1N1, 42 (32,8%) contra o A/H3N2 e 81(63,3%) contra o B. Os subtipos A/H2N2 e B se mostrou diferente dos demais ($p=0,033$) com a menor frequência de soroproteção (Tabela 5).

Tabela 5 - Condição sorológica dos receptores no pré e até 30 dias do transplante de células tronco hematopoiéticas, segundo grupo de randomização – 2007 a 2010

Subtipo viral	Tempo TCTH	HAI	Grupos de Randomização				TOTAL	P	
			<u>1</u>	<u>2</u>	<u>3</u>	<u>4</u>			
A/H1N1	PRE	$\geq 1:40$	8(34,8)	6(26,1)	8(34,8)	1(4,3)	23	0,742	
		$< 1:40$	30(28,6)	37(35,2)	30(28,8)	8(7,6)	105		
	D_0 ou 30	$\geq 1:40$	8(21,6)	12(32,4)	13(35,1)	4(10,8)	37		0,473
		$< 1:40$	30(31,9)	32(34)	27(28,7)	5(5,3)	94		
A/H3N2	PRE	$\geq 1:40$	9(21,4)	19(45,2)	12(28,6)	2(4,8)	42	0,217	
		$< 1:40$	29(33,7)	24(27,9)	26(30,2)	4(8,1)	66		
	D_0 ou 30	$\geq 1:40$	11(18,6)	26(44,1)	20(33,9)	2(3,4)	59		0,021
		$< 1:40$	28(35)	23(28,8)	21(26,3)	8(10)	80		
B	PRE	$\geq 1:40$	28(34,6)	31(38,3)	18(22,2)	4(4,9)	47	0,033	
		$< 1:40$	10(21,3)	12(25,5)	20(42,6)	5(10,6)	81		
	D_0 ou 30	$\geq 1:40$	31(30,7)	37(36,6)	30(29,7)	3(3)	101		0,009
		$< 1:40$	7(23,3)	7(23,3)	10(33,3)	6(20)	30		

* teste chi quadrado

A proporção de receptores com títulos protetores no pré transplante foi comparada a dos doadores. A condição sorológica de ambos foi semelhante. (Tabela 6). Não houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos, exceto para o subtipo B, onde a proporção de doadores com títulos protetores foi significativamente maior no grupo 3 ($p=0,022$).

Tabela 6. Comparação da proporção de receptores e doadores com títulos protetores para influenza no pré TCTH – 2007a 2010

Subtipo	Doadores	Receptores pré		TOTAL	p
		$\geq 1:40$	$< 1:40$		
viral	Pré				
A/H1N1	$\geq 1:40$	7	14	21(16,9)	0,856
	$< 1:40$	16	87	103(83,1)	
A/H3N2	$\geq 1:40$	13	17	30(24,2)	0,104
	$< 1:40$	29	65	94(75,8)	
B	$\geq 1:40$	59	25	84(67,7)	0,659
	$< 1:40$	21	19	40(32,2)	

A vacina de influenza foi administrada a todos os 49 receptores randomizados nos grupos 3 e 4, entre 6 e 50 dias antes do transplante: grupo 3 (mediana de 10,5 dias), grupo 4 (mediana de 9 dias).

Como resposta sorológica dos receptores foi observada no D0 e no D30 pós TCTH consideramos para fins de análise da resposta até o D30.

Cento e trinta e um foram avaliados com relação aos títulos de anticorpos protetores até o D30.

Trinta e sete (28,2%) dos 131 receptores apresentaram títulos protetores contra o influenza A/H1N1, 59(45%) contra o A/H3N2 e 101(77,1%) contra o B (tabela 5). Não houve diferença estatisticamente significativa entre os 4 grupos de randomização para o antígeno H1, mas observou-se diferença para os antígenos H3 e B. O teste exato de Fisher com correção de Bonferroni foi realizado para comparar os grupos par a par. Para o subtipo A/H3N2 observou-se que as taxas de soroproteção dos grupos 1 e 2 foram estatisticamente diferentes e que houve uma tendência ($p=0,065$) de diferença entre os grupo 2 e do 4. Para o influenza B foi observado que o grupo 4 – de vacinação do doador e do receptor – foi estatisticamente diferente dos demais, apresentando menores taxas de soroproteção.

Comparando-se os tempos pré até o D30 pós transplante houve aumento significativo ($P < 0,001$) da frequência de receptores com títulos protetores para todos os subtipos virais: 10,9% para o A/H1N1, 11,7% para o A/H3N2 e 13,3% para o B respectivamente (Tabela 7). Tal diferença foi verificada em todos os grupos de randomização, exceto no grupo 4 para os subtipos virais A/H1N1 e A/H3N2.

Tabela 7 - Comparação da proporção de receptores com títulos protetores de anticorpos antes e até 30 dias após transplante de células tronco hematopoiéticas – 2007a 2010

Subtipo viral	Pré transplante	D_0 ou 30	Taxa de aumento (%)	p
A/H1N1	23(18)	37(28,9)	10,9	<0,001
A/H3N2	42(32,8)	57(44,5)	11,7	<0,001
B	81(63,3)	98(76,6)	13,3	<0,001

* * teste chi quadrado

Soroconversão até o D30 póstransplante foi avaliada em 129 receptores. Em 2(1,5%) pacientes não havia amostra disponível

A taxa de soroconversão para foi de 16,3% (21/129), de 14,7%(19/129) e de 28,7%(37/129) para os subtipos A/H1N1, A/H3N2 E B (Tabela 8). Não houve diferença estatística para os antígenos H1 e B. entre os grupos de randomização. Para o A/H3N2 foi observada diferença entre os 4 grupos ($p=0,036$). Entretanto, a aplicação do teste exato de Fisher, com correção de Bonferroni, comparando os grupos par a par, não conseguiu identificar quais grupos de randomização diferenciam-se entre si, havendo tendência de que as diferenças se encontravam entre o grupo 1 e as demais. Não houve diferença estatisticamente significativa entre o grupo de vacinação 3 e 4.

Tabela 8. Taxa de soroconversão de 129 receptores após a vacina de influenza no pré TCTH, conforme grupo de randomização - 2007 a 2010

Subtipo viral	SC	Grupos de randomização				TOTAL	P
		n(%)					
		1	2	3	4		
H1	SC	3	7	7	4	21 (16,3)	0,064
	∅	35	36	32	5	108 (83,7)	
H3	SC	1	6	10	2	19 (14,7)	0,036
	∅	37	37	29	7	110 (85,3)	
B	SC	12	13	12	0	37 (28,7)	0,271
	∅	26	30	27	9	92 (71,3)	

SC – soroconversão; ∅ – ausência de soroconversão

* Chi quadrado

5.4 Evolução dos títulos de anticorpos neutralizantes pós TCTH

As médias geométricas dos títulos (MGT) de anticorpos dos receptores, para cada subtipo viral, foram avaliadas ao longo do tempo a partir do momento pré transplante até após a vacina do dia 180 (Gráficos 1, 2 e 3 e tabela 9).

Gráfico 1 – Média geométrica dos títulos de anticorpos para o influenza A/H1N1 do pré ao D+180 – 2007 a 2010

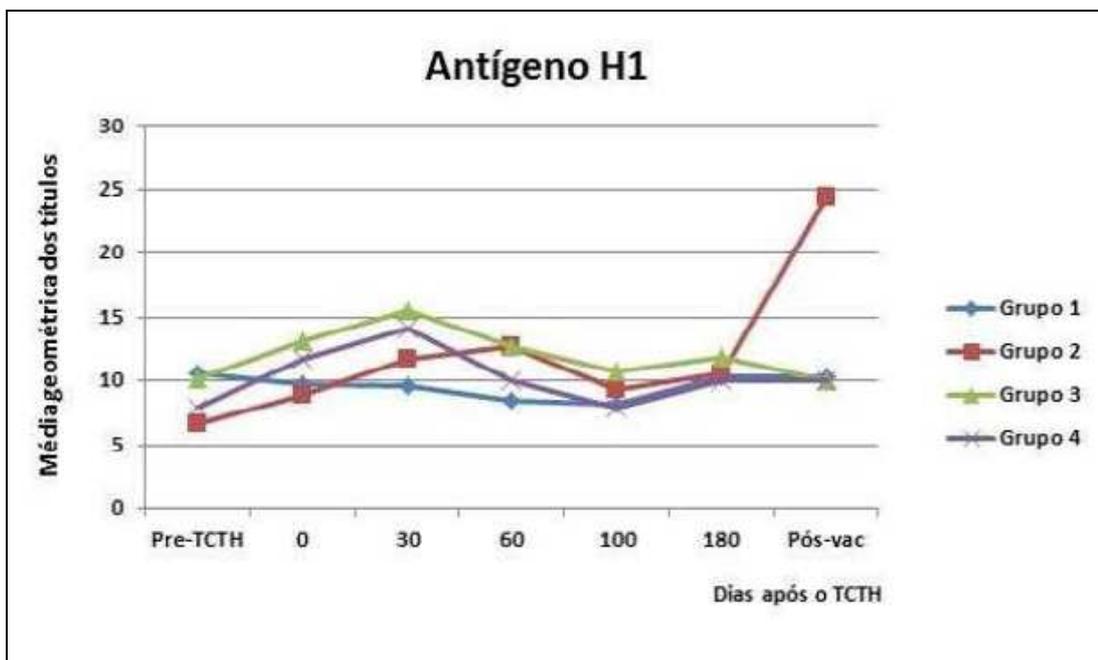


Gráfico 2 – Média geométrica dos títulos de anticorpos para o influenza A/H3N2 do pré ao D+180 – 2007 a 2010

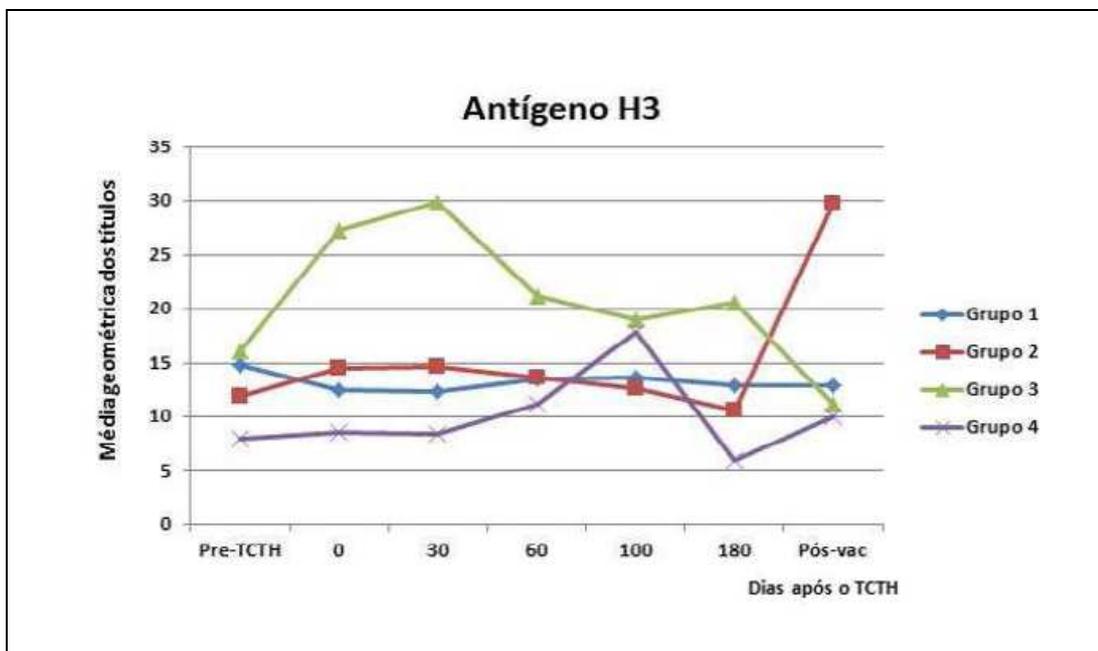


Gráfico 3 – Média geométrica dos títulos de anticorpos para o influenza B do pré ao D+180 – 2007 a 2010

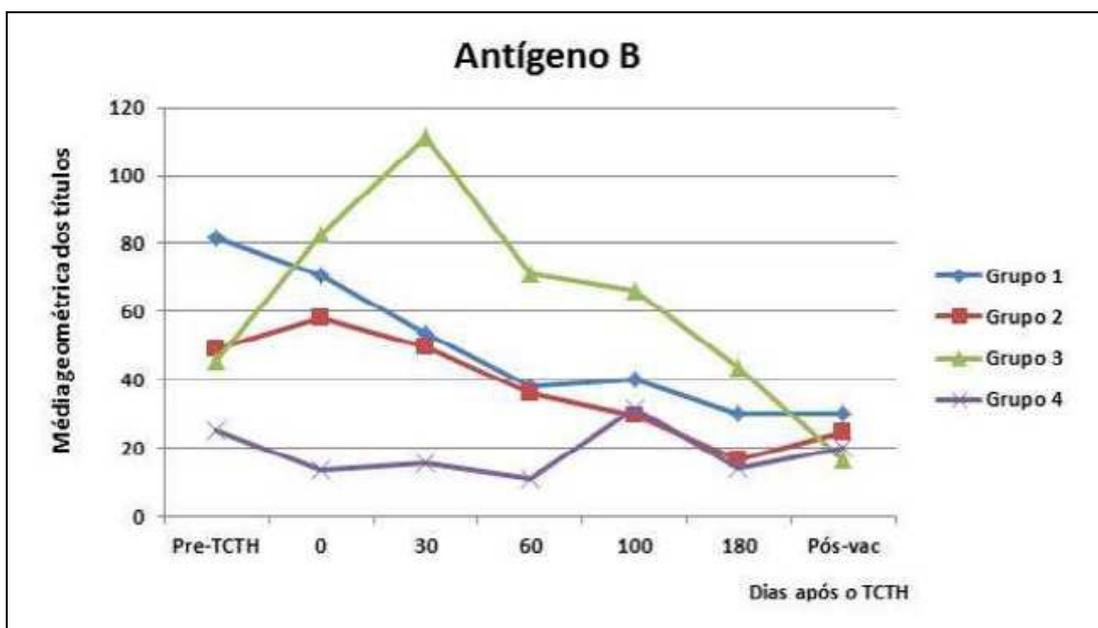


Tabela 9 - Média geométrica dos títulos de anticorpos nos receptores de TCTH, conforme randomização - 2007 a 2010

Subtipo viral	Grupo	Pré	D0	D+30	D+60	D+100	D+180
A/H1N1	1	10,18	10,58	9,80	9,59	8,51	8,14
	2	7,97	10	11,29	11,01	8,59	9,39
	3	10,18	13,2	15,49	12,68	10,74	11,89
	4	9,22	11,67	14,14	11,04	9,06	10
	p	NS	NS	NS	NS	NS	NS
A/H3N2	1	13,15	14,82	12,51	12,34	13,50	13,61
	2	20,33	24,55	22,97	20	16,46	12,87
	3	16,07	27,32	29,88	21,22	19,07	20,59
	4	7,94	8,57	8,41	10	14,86	5,95
	p	NS	0,019	0,018	NS	NS	NS
B	1	69,14	81,51	70,79	53,67	38,19	40
	2	71,46	89,33	78,73	53,39	45,5	24,16
	3	45,5	82,82	111,09	71,04	66,08	43,62
	4	25,2	13,61	15,42	10	24,38	14,14
	p	NS	0,020	0,024	0,026	NS	NS

NS – não significante

Os títulos para cada subtipo viral foram comparadas entre os grupos de randomização ao longo do tempo.

Para análise dos títulos de anticorpos os dados foram convertidos em log 10 e a seguir comparados usando-se a análise de variância (ANOVA). A comparação par a par de cada grupo foi realizada usando um pós teste (least significant difference – LSD).

Para o subtipo A/H1N1 não houve diferença significativa das MGT entre os quatro grupos de randomização, ao longo do tempo de seguimento.

Para o influenza A/H2N3 houve diferença entre os grupos no dia do transplante ($p=0,019$) e no D+30($p=0,018$). A análise pós teste comparando os grupos par a par, identificou que no dia do transplante, o grupo de vacinação do doador e o grupo de vacinação do receptor tiveram maiores títulos de anticorpos protetores que os grupo 1 e o grupo 4. Não houve porém diferença estatística entre as MGT dos grupos 2 e 3.. No D+30, a análise par a par que o grupo de vacinação do receptor teve MGT mais altas que os pacientes dos grupos sem vacina e com vacina de receptor e doador. Não houve diferença nas MGT entre os grupos de 2 e 3.

Para o subtipo B as diferenças nas MGT foram observadas no dia do transplante ($p=0,020$), no D+30 ($p=0,024$) e D+60 ($p= 0,026$). Análise dos grupos par a par identificou em todos esses tempos, que o grupo 4 apresentou menores MGT em relação aos demais.

5.5 Resposta à vacinação de influenza a partir do D+180

Oitenta e quatro receptores estavam vivos e sem recidivas no D+180.

A condição sorológica do D+180 foi avaliada em 77 receptores. Sete casos não tinham amostra disponível para análise.

Onze (14,3%) receptores de TCTH apresentavam títulos protetores de anticorpos contra o subtipo A/H1N1, 24 (31,2%) contra o A/H3N2 e 40 (51,9%) contra o B. Não houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos para nenhum dos subtipos virais (tabela)

Dos 84 pacientes candidatos à vacinação de influenza a partir do D+180, 10 (11,9%) não foram imunizados pela não disponibilidade da vacina sazonal na ocasião da pandemia de A/H1N1, outros 10 (11,9%) não receberam a vacina por motivos não especificados.

Sessenta e quatro pacientes (76,2%) foram vacinados entre 115 e 365 dias após o TCTH com mediana de 218 dias. Três casos não tinham amostras disponíveis para análise.

A soroconversão à vacinação de influenza a partir do D+180 foi avaliada em 61 pacientes. Observaram-se no geral baixas taxas de soroconversão para influenza A/H1N1, A/N3N2 e B, da ordem de 19,7%, 18% e 8,2% respectivamente. Não houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos no padrão da reposta.

Tabela 10 - Taxa de soroconversão de 61 receptores após a vacina de influenza a partir do D+180, conforme grupo de randomização - 2007 a 2010

Subtipo viral	SC	Grupos de randomização				TOTAL	P
		n(%)					
		1	2	3	4		
H1	SC	4	6	1	1	12(19,7)	0,140
	∅	20	12	16	1	49(80,3)	
H3	SC	3	6	1	1	11(18)	0,093
	∅	21	12	16	1	50(82)	
B	SC	1	4	0	0	5(8,2)	0,074
	∅	23	14	17	2	56(91,8)	

SC – soroconversão; ∅ – ausência de soroconversão

* Chi quadrado

5.6 Casos confirmados de doença por influenza

Nove pacientes dos 131 (6,87%) incluídos nos dois centros apresentaram 11 episódios de influenza durante o seguimento. Oito pacientes de Jaú apresentaram 10 episódios de influenza A entre os meses de abril a novembro de 2009 e um paciente de BH apresentou influenza B no mês de abril de 2008.

As cepas de influenza A foram tipadas e houve cinco casos de influenza sazonal e outros cinco casos de A/H1N1 pandêmico. Em um paciente houve associação dos dois agentes.

O quadro 2 detalha as condições clínicas, grupo de randomização e desfecho dos casos.

O quadro 3 especifica os títulos de anticorpos neutralizantes na ocasião do episódio de influenza

Quadro 2. Caracterização dos 11 episódios confirmados de influenza em 131 receptores de TCTH – 2007 a 2010

Caso	Sexo	Sd respirat.	Virus	Grupo	Data dx	Evolução
ACS	M	IVAS	A sazonal	1	13/07/09	Óbito SARA
NVV	F	IVAS	A sazonal	2	11/08/09	mellhora
ASX	M	IVAS/ PNM	A sazonal	1	09/04/09	mellhora
JCS	M	IVAS/ PNM	A sazonal	2	29/06/09	mellhora
SLA	M	IVAS	A pandemico	2	31/07/09	mellhora
JRNP	M	IVAI/ PNM	A pandemico	3	19/08/09	mellhora
GRF	M	IVAI/ PNM	A pandemico	3	08/09/09	Óbito SARA
SSP	F	SEM INFO	A pandemico	2	07/10/09	estável
SSP	F	IVAS PNM	A pandemico	2	22/10/09	mellhora
SSP	F	IVAS PNM	A sazonal	2	06/11/09	mellhora
NLDA	F	IVSA	B	1	11/04/08	mellhora

IVAS – infecção de vias aéreas superiores; IVAI – infecção de vias aéreas inferiores; PNM – pneumonia; Sem info – informação não disponível

Quadro 3. Caracterização da condição sorológica por ocasião dos 11 episódios confirmados de influenza – 2007 a 2010

Caso	Títulos para cada subtipo viral imediatamente ao episódio de influenza		
ACS	H1 = neg	H3 = neg	B = 1:40
NVV	H1 = neg	H3 = 1:40	B = neg
ASX	H1 = neg	H3 = neg	B = 1:80
JCS	H1 = neg	H3 = neg	B = 1:160
SLA	H1 = 1:40	H3 = 160	B = 1:1280
JRNP	H1 = neg	H3 = neg	B = 1:40
GRF	H1 = neg	H3 = neg	B = 1:80
SSP	H1 = neg	H3 = neg	B = neg
SSP	H1 = neg	H3 = neg	B = neg
SSP	H1 = neg	H3 = neg	B = neg
NLDA	H1 = neg	H3 = neg	B = 1:640

De acordo com os critérios estabelecidos para imunocompetentes, os casos de óbito tinham títulos protetores imediatamente antes do episódio da influenza, que não impediram que eles adquirissem a infecção. Estes dados sugerem que outros mecanismos além da imunidade humoral podem estar envolvidos na proteção e ou susceptibilidade do paciente contra a influenza.

DISCUSSÃO

DISCUSSÃO

Influenza é uma infecção potencialmente grave após o TCTH¹⁸. Há alto risco de pneumonia e a mortalidade relacionada é de até 15% nos casos não tratados.

A vacinação é a principal estratégia profilática¹⁸ e consensos internacionais^{1,3} recomendam vacinação rotineira a partir de quatro a seis meses após o transplante.

Sabidamente a imunogenicidade da vacina com vírus inativado é baixa³⁴, principalmente nos primeiros seis meses pós transplante, devido à reconstituição lenta da imunidade celular e humoral¹.

É racional então considerar alternativas à imunização convencional. Intervenções que pudessem aumentar a proteção contra a influenza nesse período inicial mais crítico principalmente.

Este ensaio clínico estudou esquemas de vacinação no pré transplante, com imunização do doador, do receptor ou de ambos, avaliando a resposta humoral induzida.

O desenho randomizado, padrão ouro para avaliação da efetividade de medidas terapêuticas e/ou profiláticas, só havia sido realizado em um estudo de vacina de influenza em TCTH³⁵. O pequeno número das publicações^{34,38,37,42} apresenta séries de pacientes submetidos a intervenções não aleatórias. Nesse estudo a randomização permitiu que os pares de participantes fossem comparáveis em relação a uma série de variáveis que poderiam influenciar as intervenções testadas. Não houve

diferença estatística entre os quatro grupos com relação as características sócio-demográficas, da condição de base e do TCTH. Apesar das diferenças entre os dois centros transplantadores em relação ao diagnóstico dos pacientes, esquemas de condicionamento, uso de anticorpos poli ou monoclonais nos regimes de condicionamento e profilaxia da DECH (dados não mostrados), os grupos foram comparáveis entre si.

Houve grande número de perdas no estudo. Dos 131 pares de pacientes incluídos, 47 (35,9%) perderam o seguimento antes da imunização do D+180. Desses 26 (55,3%) por óbito, 20 (42,6%) por recidiva da doença de base e um (2,1%) paciente por abandono do acompanhamento. Essa situação, no entanto pareceu compatível com contexto clínico do TCTH - pacientes com doenças graves e com alto risco de óbito precoce ainda antes da pega medular. Perdas de maneira geral podem diminuir as diferenças observadas entre os grupos e reduzir o efeito de uma intervenção. Nesse estudo as perdas tiveram distribuição heterogênea entre os grupos - 10 (26,3%) eram do grupo 1, 19 (43,2%) do grupo 2, 13 (32,5%) grupo 3 e 5 (55,6%) no grupo 4.

Uma das estratégias estudadas nesse ensaio foi a vacinação do doador e seu possível efeito na imunidade do receptor. Estudos ainda da década de 80 já confirmavam que células B e T do doador infundidas com o enxerto eram capazes de responder a antígenos. Saxon⁴⁴ em 1986 já havia demonstrado a transferência de linfócitos B recentemente expostos a booster com toxóide diftérico e tetânico, com aumento dos títulos de anticorpos no receptor. Lausen et al.³⁹ corroboraram a transferência das

células B, em receptores imunizados com vacina para *Haemophilus b*. Este estudo confirmou a presença de células B de memória do doador, que persistiram por até 9 meses após o transplante e que inclusive melhoraram a resposta a vacinação mais tardia. Wahren et al.⁴⁵ também corroborou a existência dessa imunidade adotiva para outras infecções virais, não passíveis de imunização.

Mais recentemente, outros autores confirmaram em estudos maiores e randomizados a resposta à imunização do doador em TCTH. Molrine et al.¹⁶ demonstraram que receptores cujos doadores foram imunizados com vacina conjugada para *Haemophilus influenza* no pré transplante, apresentavam mais altas concentrações de anticorpos. A mesma autora em 2006¹⁷, em estudo randomizado também confirmou a eficiência da imunização dos doadores com vacina conjugada para pneumococo (PCV7) sobre os títulos específicos medidos no receptor. Kumar et al.⁴⁶ confirmaram essa resposta para a PCV7 em estudo duplo cego e randomizado.

Faltavam, entretanto, estudos especificamente da vacinação de influenza em doadores de TCTH¹⁸. Apesar das observações promissoras com outras vacinas, a posição dos consensos internacionais¹ é de não recomendar a vacinação do doador.

Nosso estudo avaliou condição sorológica pré transplante dos doadores e a sua resposta a vacina. No pré transplante 22 (17,5%) doadores apresentavam anticorpos em títulos protetores para o A/H1N1, 31 (24,6%) para A/H3N2 e 85(67,5%) para o subtipo B.

Isso poderia sugerir a maior circulação do vírus influenza B no período do estudo ou sua maior imunogenicidade em relação a relação a influenza A H1 e H3, tanto em relação ao vírus selvagem quanto o vacinal.

Comprovou-se que doadores respondem à vacinação de influenza, mesmo a curto prazo. No trabalho a vacina foi administrada aos 53 doadores alocados nos grupos 2 e 4, entre 6 a 31 dias antes do TCTH - mediana de 11,5 dias no grupo 2 e de 8 dias no grupo 4.

Dos 128 doadores avaliados no dia do transplante, 57 (44,5%) apresentaram títulos de anticorpos protetores $\geq 1:40$ para o A/H1N1, 62 (48,4%) para o A/H3N2 e 98 (76,6%) para o B. Isso representou aumento real ($p < 0,001$) da frequência de doadores com soroproteção para todos os subtipos virais - 27,6%, 25% e 9,7%, para o A/H1N1, A/H3N2 e B respectivamente. Houve correlação estatisticamente significativa entre o aumento dos títulos e pertencer ao grupo de vacinação do doador.

É importante frisar que a definição de soroproteção baseada nos títulos de anticorpos neutralizantes $\geq 1:40$ é estabelecida apenas para pacientes imunocompetentes. Sabidamente esses anticorpos antihemaglutinina aparecem cerca de duas semanas após a infecção por influenza e são de subclasses IgM, IgA e IgG¹⁸ e são responsáveis pela proteção das aéreas superiores e inferiores. Para influenza sazonal assume-se que títulos $\geq 1:40$ estão associados com redução aproximada de 50% do risco de desenvolver influenza A⁴³. Níveis de anticorpos protetores em imunodeprimidos talvez tenham que ser revistos, pois raramente atingem altos títulos. Além disso, os antígenos padronizados para as reações de

hemaglutinação podem não ter a mesma performance ano a ano, e com isso a sensibilidade do teste pode variar.

Todos os estudos avaliando resposta a vacina de influenza em receptores TCTH utilizaram o mesmo corte de 1:40 para definir soroproteção. Nesse contexto nossos resultados foram comparáveis à literatura. Em 128 receptores que realizaram sorologia no pré transplante, 23 (18%) apresentavam títulos protetores de anticorpos contra o A/H1N1, 42 (32,8%) contra o A/H3N2 e 81(63,3%) contra o B. Engelhard³⁴ verificou que apenas 1(2%) de 48 receptores de TCTH dos apresentava títulos de anticorpos protetores para o A/H3N2. Pasken et al.³⁵ no estudo randomizado encontrou 12 a 16% de receptores com títulos protetores antes da imunização. Recentemente Gueller et al.⁴³ avaliando a resposta imune da vacina da influenza A/H1N1 pandêmica, verificou que apenas 17,6% dos receptores tinha níveis protetores no pré transplante. Engelhard et al. ⁴⁴em estudo semelhante, também encontrou apenas 17,9% de receptores com títulos soroprotetores.

Chamou a atenção no estudo a similaridade da condição sorológica pré transplante de doadores e receptores. Esperar-se-ia que em candidatos ao TCTH, gravemente doentes e muitas vezes já imunodeprimidos de base, fossem encontradas menores taxas de soroproteção basal. Nossos dados mostraram que não houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos, exceto para o subtipo B, onde a proporção de doadores com títulos protetores foi significativamente maior no grupo 3 ($p=0,022$).

A observação dessa condição de soroproteção dos receptores no pré transplante talvez permitisse inferir a possibilitasse de resposta a vacina. Considerando a potencial gravidade da infecção pela influenza no pós transplante, seria lógico imunizar os candidatos antes do transplante. Vários estudos entretanto, em pacientes com doença hematológicas malignas já antecipava uma resposta ruim da vacinação do receptor. Robertson et al.⁴⁷ estudando um grupo de 52 pacientes com mieloma múltiplo observou que apenas 19% apresentava soroconversão para todos o subtipos virais após vacina de influenza. No estudo de Mazza et al.⁴⁰ em portadores de linfoma maligno, apenas 10% de 29 vacinados apresentaram anticorpos protetores para pelo menos um antígeno após a imunização de infleunza. Lo et al.⁴⁸ conseguiram a priori melhorar as taxas de soroconversão em portadores de linfomas com esquemas de duas doses de vacina. Seus resultados entretanto, não foram reproduzidos por outros autores. Ljungman et al.⁴⁹ em estudo de 70 pacientes com neoplasias hematológicas, randomizados para receber 2 doses de vacina de influenza, as taxas de resposta não melhoram para o A/H1N1, passando de 18% para 22%, para o H3N2 de 26% para 14% e para o B de 25% para 22%. Finalmente, van der Velden et al.⁴² em população de portadores de LLC, também observaram mínimas taxas de soroconversão – de 5% para 15% para a influenza A e de 15% para 30% para a influenza B.

No presente estudo, análise de 129 receptores, mostrou taxas de soroconversão de 16,3% (21/129), de 14,7% (19/129) e de 28,7%(37/129) para os subtipos A/H1N1, A/H3N2 e B, respectivamente. Confirmou-se a

baixa imunogenicidade da vacina em pacientes imunocomprometidos, conforme amplamente discutido.

Entretanto, comparação entre proporção de receptores com títulos protetores antes e após a imunização, confirmou aumento significativo ($p < 0,001$) dos títulos para todos os subtipos virais – A/H1N1 de 18% para 28,9% , A/H3N2 de 32,8% para 44,5% e influenza B de 63,3% para 76,6%. Tal resposta de soroproteção parece bem razoável em receptores de TCTH, já que é essa condição, que aparentemente se relaciona mais ou menos com a risco de adoecimento, complicações e óbito.

Realizamos o cálculo das MGT dos anticorpos a partir do pré transplante, no D0, D+30, D+60, D+100 e no D+ 180 para verificar a variação dos títulos e a diferença entre os grupos de randomização. Imunidade adotiva poderia ser assim documentada e relacionada a um determinado esquema de imunização.

Para o infleunza A/H1N1 não houve impacto das estratégias de imunização do doador e/ou do receptor nos títulos de anticorpos protetores ao longo do tempo.

Para o subtipo A/H1N1 não houve diferença das MGT entre os quatro grupos de randomização, ao longo do tempo de seguimento.

Para o influenza A/H2N3 houve diferença entre os grupos no dia do transplante ($p=0,019$) e no D+30($p=0,018$). A análise pós teste, comparando os grupos par a par, identificou que no dia do transplante, o grupo de vacinação do doador e o grupo de vacinação do receptor tiveram maiores títulos de anticorpos protetores que os grupos 1 e 4. Não houve porém,

diferença estatística entre as MGT dos grupos 2 e 3. No D+30, a análise par a par para esse subtipo viral, mostrou que o grupo 3 - de vacinação do receptor - teve MGT mais altas que os pacientes dos grupos 1 - sem vacina e 4 - com vacina de receptor e doador. Não houve diferença nas MGT entre os grupos de 2 e 3.

Para o subtipo B as diferenças nas MGT foram observadas no dia do transplante ($p=0,020$), no D+30 ($p=0,024$) e D+60 ($p= 0,026$). Análise dos grupos par a par identificou que em todos esses tempos, o grupo 4 apresentou menores MGT em relação aos demais.

Em resumo nossas intervenções alternativas – vacinação pré transplante de doadores e receptores – impactou os títulos de anticorpos protetores apenas para o subtipo viral A/H3N2. A resposta com aumento da MGT foi precoce, observada no D0 e no D+30, como seria mesmo esperado de uma imunidade adotiva. Não conseguimos justificar os baixos títulos de anticorpos observados persistentemente e de forma significativa, no grupo de imunização combinada – doador e receptor. O grupo era muito pequeno e provavelmente a interpretação do desfecho sorológico pode ter sido prejudicada. Não há racional para “competição” de títulos nesse grupo. Na verdade, a hipótese era que os receptores do grupo 4 apresentassem a melhor performance em termos de médias de títulos ou talvez melhores taxas de soroproteção.

As taxas de soroconversão após a vacina a partir do D+180 continuaram ruins. Na verdade foram muito semelhantes às taxas de soroconversão do D precoce - até o D+30. Inclusive para o subtipo B a

soroconversão foi menor (28,7% x 8,2%) que no início do seguimento. Tais respostas, na verdade, não foram inesperadas em relação ao contexto dessa fase. Sabemos que a capacidade do indivíduo responder a vacina de forma robusta depende de competência imune. Em receptores de TCTH isso está relacionada a reconstituição pelo menos parcial da imunidade T e B.

Não realizamos no estudo análises univariadas e multivariadas, que permitissem definir os fatores relacionados a soroproteção e a soroconversão. Provavelmente depois dessas avaliações, possamos ter impressão diferente sobre as nossas intervenções no pré transplante.

O estudo confirmou que a idéia inicial de que a hipótese nula não é verdadeira. Nossa intervenção levou a resposta real, porém para um único subtipo viral o AH3N2 e de curta duração – no máximo 30-60 dias. Do ponto de vista estritamente clínico, parece esse tempo de soroproteção parece razoável para um receptor de TSTH, com alto risco de influenza precoce e suas complicações. Do ponto de vista epidemiológico, haveria impacto positivo? Especialmente se considerarmos a variabilidade genética dos subtipos ano a ano.

Finalmente a análise dos 11 episódios de influenza confirmados. Alguns pacientes adoeceram com níveis protetores de anticorpos e um dos óbitos ocorreu em paciente com título protetor de anticorpo, embora fosse para o sorotipo B. A paciente de BH, com influenza B confirmada e altos títulos de anticorpos contra o subtipo B, provavelmente sugere doença aguda com “booster” induzido pela infecção natural.

Houve limitações ao estudo. A primeira foi relacionada à escolha do desenho com seguimento prospectivo e de longa duração – 6 meses. Além disso o caráter multicêntrico, com o principal centro no interior do estado de SP. Houve necessidade de organização, logística e um grande esforço da equipe para articular datas, coletas, encaminhamento de amostras. Houve a priori sucesso nesse aspecto, considerando a pequena quantidade de perdas de coletas.

A ocorrência da pandemia de influenza A/H1N1 em 2009, também trouxe repercussões ao estudo, na medida em que houve demandas extras nos serviços e falta da vacina de influenza sazonal nos CRIES. Houve perda de 10 casos em Jaú e 2 em B por falta da vacina no D+180, em meses em que ela deveria estar disponível.

Finalmente, acreditamos que o estudo contribuiu para um melhor entendimento da resposta sorológica à vacina de influenza, nessa população específica de pacientes imunodeprimidos. Os efeitos da vacinação em doador e do receptor puderam analisados e comparados objetivamente. É necessária uma melhor análise dos dados antes da generalização dos resultados.

CONCLUSÕES

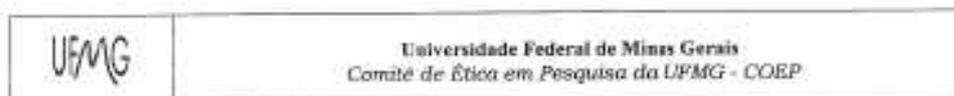
7. CONCLUSÕES

1. Os doadores apresentaram baixas taxas de títulos soroprotetores no pré transplante para os subtipos virais A/H1N1 (17,5%) e A/H3N2 (24,6%); as taxas de soroproteção foram melhores para o antígeno B – 67,5%;
2. Doadores vacinados para influenza no pré transplante responderam com elevação significativa dos títulos de anticorpos no DO, apesar do curto intervalo entre a vacinação e o transplante;
3. As taxas de soroproteção no D0 aumentaram de forma significativa para os subtipos A/H1N1(44,5%) e A/H3N2(48,4%), de forma significativa no grupo de vacinação do doador;
4. Os receptores apresentaram baixas taxas de títulos soroprotetores no pré transplante para os subtipos virais A/H1N1 (18%) e A/H3N2 (32,8%); as taxas de soroproteção foram melhores para o antígeno B – 63,3%;
5. A condição de soroproteção de doadores e receptores no pré transplante foi semelhante, a despeito da condição imunológica de base distinta;
6. Receptores vacinados tiveram no geral baixas taxas de soroconversão 16,3% para o A/H1N1, 14,% para o A/H3N2 e 28,7% para o B, sem definição do grupo que respondeu melhor;
7. As MGT de anticorpos neutralizantes para o subtipo viral – A/H1N1 não variaram ao longo do tempo e não sofreram alterações das intervenções estudadas;

8. As MGT dos títulos dos anticorpos para o subtipo viral A/H3N2 foram maiores nos tempos 0 nos pacientes dos grupos 2 e 3 - de imunização de doador e receptor respectivamente; apenas no tempo D+30 no grupo de imunização do receptor em relação aos grupos sem vacinação e com vacinação combinada de doador e receptor.;
9. A soroconversão dos receptores à imunização tardia de influenza, a partir do D+180, também foi ruim para todos os antígenos e não diferiu entre os 4 grupos de intervenção – 19,7% para o A/H1N1, 18% para o A/H3N2 e 8,2% para o B.
10. Influenza foi confirmada em 8 dos 131 pacientes (6,87%).

ANEXOS

Anexo A

**Parecer nº. ETIC 0230/07**

Interessado(a): Profa. Henrique Neves da Silva Bittencourt
Depto. Clínica Médica
Fac. Medicina -UFMG

DECISÃO

O Comitê de Ética em Pesquisa da UFMG – COEP aprovou, no dia 02 de julho de 2007, após atendidas as solicitações de diligência, o projeto de pesquisa intitulado **“Estudo da Eficácia e da Imunogenicidade de esquemas alternativos de vacinação contra Influenza em pacientes transplantados de Células -Tronco Hematopoiéticas”** bem como o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

O relatório final ou parcial deverá ser encaminhado ao COEP um ano após o início do projeto.


Profa. Dra. Maria Elena de Lima Perez Garcia
Coordenadora do COEP-UFMG

Anexo B



CÓPIA

APROVAÇÃO

A Comissão de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa - CAPPesq da Diretoria Clínica do Hospital das Clínicas e da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, em sessão de 15/04/2009, **APROVOU** o Protocolo de Pesquisa nº **0245/09**, intitulado: **"ESTUDO DA EFICÁCIA E DA IMUNOGENICIDADE DE ESQUEMAS ALTERNATIVOS DE VACINAÇÃO CONTRA INFLUENZA EM RECEPTORES DE TRANSPLANTE DE CÉLULAS TRONCO HEMATOPOIÉTICAS"** apresentado pelo Departamento de **MOLÉSTIAS INFECCIOSAS E PARASITÁRIAS**, inclusive o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

Cabe ao pesquisador elaborar e apresentar à CAPPesq, os relatórios parciais e final sobre a pesquisa (Resolução do Conselho Nacional de Saúde nº 196, de 10/10/1996, inciso IX.2, letra "c").

Pesquisador (a) Responsável: **Dra. Clarisse Martins Machado**

Pesquisador (a) Executante: **Jacqueline Das Graças Ferreira De Oliveira**

CAPPesq, 16 de Abril de 2009

Prof. Dr. Eduardo Massad
Presidente da Comissão de
Ética para Análise de Projetos
de Pesquisa

Prof. Associado Aúlio Augusto Cotrim Segurado
Coordenador do Programa de Pós-graduação em
Doenças Infecciosas e Parasitárias da FMUSP

Comissão de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa do HCFMUSP e da FMUSP Diretoria Clínica do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo Rua Ovídio Pires de Campos, 225, 5º andar - CEP 05403-010 - São Paulo - SP Fone: 011 3069 6442 Fax: 011 3069 6492 e-mail: cappesq@hcnet.usp.br / secretariacappesq2@hcnet.usp.br

RECEBIDO SPG 24/04/09
ASS.

Anexo C

**COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA**
Fundação Hospital Amaral Carvalho

Rua da Palmeiras, 116, Vila Assis – CEP 17.210-120 – Jaú / SP - ☎ (014) 3602-1194 – Ramal - 1552.

Parecer CEPFHAC – 08/08.**Protocolo de Estudo****“Estudo da Eficácia e da Imunogenicidade de Esquemas Alternativos de Vacinação contra Influenza em Receptores de Transplante de Células Tronco Hematopoéticas”****Documentos avaliados:**

✓ Projeto de Pesquisa Completo

Pesquisador Responsável:Clarisse M. Machado, Lucy S. Vilas Boas do Instituto de Medicina Tropical – USP- SP;
Henrique Bittencourt e Jacqueline F. de Oliveira do Hospital das Clínicas da UFMG;
Vergílio Antonio Rensi Colturato, Clarisse M. Machado, Ana Cláudia F. dos Santos, Mair Pedro de Souza, Marcos Mauad, Wellington Azevedo e Talita Chaves Martins – Hospital Amaral Carvalho – Jaú.

O Comitê de Ética em Pesquisa da Fundação Hospital Amaral Carvalho analisou os documentos supracitados na 36ª reunião ordinária realizada no dia 29 de fevereiro de 2008. Segue abaixo as considerações feitas no parecer consubstanciado elaborado pela relatora Dra. Andréa Miranda Pedro:

“O estudo supracitado tem como objetivo estudar prospectivamente um grupo de pacientes submetidos ao Transplante de Células Tronco hematopoéticas (TCTH), randomizados para receber o esquema tradicional de imunização contra o vírus da influenza no 6º mês pós-transplante (grupo controle), ou esquemas alternativos com imunização do doador no pré-transplante (grupo de intervenção 2). Comparar os três esquemas para influenza em relação a imunogenicidade, ou seja, sua capacidade de induzir anticorpos anti-fluenza, com análise da magnitude (títulos) e a duração dessa resposta, e em relação a sua eficácia em reduzir o número de episódios de infecções respiratórias causadas pelo vírus influenza pós TCTH.

Os pacientes e seus doadores serão candidatos a TCTH nos Serviços de TMO: Hospital Amaral Carvalho / Jaú, Universidade Federal de Minas Gerais, Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, independente de sexo e idade.

A metodologia está clara e muito bem descrita.

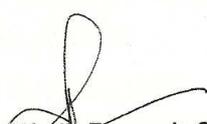
*O Termo de Consentimento Livre e Esclarecido é claro, objetivo e de fácil compreensão.
O estudo foi analisado e aprovado pelo CEP da Universidade Federal de Minas Gerais.
Desta forma, e de acordo com as normas da Resolução 196/96 e suas complementares,
opto pela aprovação do presente estudo pelo CEP."*

Diante do exposto, manifestamo-nos pela aprovação sem restrições dos documentos avaliados.

Informamos que os referidos documentos são rubricados pelo colaborador do CEPFHAC, Ricardo Augusto Sartori, e que nenhum dos pesquisadores envolvidos no estudo participou da votação.

Aproveito para recordar-lhe do compromisso de enviar relatórios semestrais referentes à evolução do estudo.

Jaú, 29 de fevereiro de 2008.



Dra. Cláudia Teresa de Oliveira
Coordenadora do Comitê de Ética em Pesquisa
Fundação Hospital Amaral Carvalho

Anexo D

ESTUDO DA EFICÁCIA E DA IMUNOGENICIDADE DE ESQUEMAS ALTERNATIVOS DE VACINAÇÃO CONTRA INFLUENZA EM PACIENTES TRANSPLANTADOS DE CÉLULAS TRONCO HEMATOPOIÉTICAS

FICHA DE TRIAGEM

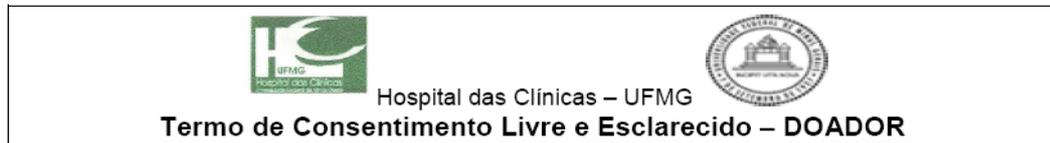
Data da entrevista: ___/___/___

Entrevistador: _____

Centro Transplantador: () 1.HC/UFMG () 2.Fundação Amaral Carvalho/Jaú () OUTROS _____

TRIAGEM DO RECEPTOR	
<p>IDENTIFICAÇÃO</p> <p>1. Nome: _____</p> <p>2. Registro do prontuário: _____</p> <p>3. Sexo: 1- M 2 - F</p> <p>4. Data de nascimento: ___/___/___</p> <p>5. Escolaridade (anos de estudo): ___</p> <p>6. Telefone: _____</p> <p>CRITÉRIOS DE INCLUSÃO:</p> <p>1. Candidato ao TMO alogênico relacionado? 1. Sim 2. Não Doença de base : _____</p> <p>CRITÉRIOS DE EXCLUSÃO:</p> <p>1. História de alergia a ovo ou proteína de galinha/timerosal? 1 - Sim 2 - Não 9 - IGN</p> <p>2. Antecedente de vacina contra gripe sazonal? 1 - Sim 2 - Não 9 - IGN</p> <p>3. Data da última vacina antigripal: ___/___/___</p> <p>4. História de reação grave a vacina? 1 - Sim 2 - Não 8 - NA (nunca vacinou) 9 - IGN Se sim, especificar: _____</p> <p>5. Previsão do TMO há < 7 dias? 1 - Sim 2 - Não 9 - IGN</p> <p>CONCLUSÃO RECEPTOR</p> <p>1. Preenche critérios de elegibilidade</p> <p>2. Excluído</p>	<p> _ _ _ _ _ _ _ _ _ </p> <p> _ </p> <p> _ _ _ _ _ _ _ _ _ </p> <p> _ _ </p> <p> _ </p> <p> _ </p> <p> _ _ _ _ _ _ _ _ _ </p> <p> _ </p> <p> _ </p> <p> _ </p> <p> _ </p>
TRIAGEM DO DOADOR	
<p>Doador ou responsável disponível para triagem?</p> <p>1. Sim 2. Não (ir para conclusão e excluir o par)</p> <p>IDENTIFICAÇÃO:</p> <p>1. Nome: _____</p> <p>2. Sexo: 1- M 2 - F</p> <p>3. Data de nascimento: ___/___/___</p> <p>4. Escolaridade (anos de estudo): ___</p> <p>5. Telefone: _____</p> <p>CRITÉRIOS DE INCLUSÃO:</p> <p>1. Parentesco: 1. Irmão 2. Mãe 3. Pai 4. Outro _____</p> <p>CRITÉRIOS DE EXCLUSÃO:</p> <p>1. História de alergia a ovo ou proteína de galinha/timerosal? 1 - Sim 2 - Não 9 - IGN</p> <p>2. Antecedente de vacina contra gripe? 1 - Sim 2 - Não 9 - IGN</p> <p>3. Data da última vacina antigripal: ___/___/___</p> <p>4. História de reação grave a vacina? 1 - Sim 2 - Não 8 - NA(nunca vacinou) 9 - IGN Se sim, especificar: _____</p> <p>CONCLUSÃO DOADOR</p> <p>1. Preenche critérios de elegibilidade</p> <p>2. Excluído</p>	<p> _ </p> <p> _ _ _ _ _ _ _ _ _ </p> <p> _ _ </p> <p> _ </p> <p> _ _ _ _ _ _ _ _ _ </p> <p> _ </p> <p> _ </p> <p> _ </p>
CONCLUSÃO FINAL DA TRIAGEM	
<p>1. Par D/R elegível e incluído no estudo</p> <p>2. Par D/R elegível, mas não incluído - especificar motivo: _____</p> <p>3. R excluído e/ou D excluído ou não avaliado</p>	<p> _ </p>

Anexo E



Você está sendo convidado a participar de um projeto de pesquisa. A seguir estão informações importantes. Antes que sua participação seja aceita é fundamental que você leia todas as informações.

1. Nome do Estudo

ESTUDO DA EFICÁCIA E DA IMUNOGENICIDADE DE ESQUEMAS ALTERNATIVOS DE VACINAÇÃO CONTRA INFLUENZA EM RECEPTORES DE TRANSPLANTE DE CÉLULAS TRONCO HEMATOPOIÉTICAS

2. Introdução

O vírus influenza, também conhecido como vírus da gripe, é uma causa comum de resfriado. Os sintomas da gripe são dores de cabeça e pelo corpo, nariz entupido, catarro, tosse e febre, que geralmente melhoram em poucos dias, sem precisar de remédios. Em transplantados porém, devido a baixa das defesas do corpo, a infecção pelo vírus da gripe pode ser mais grave, causando complicações como sinusite, pneumonia e até mesmo a morte. A vacina da gripe é a melhor forma de proteção e o Ministério da Saúde do Brasil recomenda que todo paciente transplantado de medula seja vacinado em média de 6 a 12 meses após o transplante, quando o seu sistema de defesas já está recuperado e é capaz de responder a vacina. Nesse meio tempo entretanto, o paciente fica desprotegido e pode adoecer. É possível que outros esquemas diferentes de vacinação possam proteger o receptor do transplante de forma mais efetiva. Uma maneira seria vacinar o doador antes do transplante, de forma que ele pudesse transferir suas defesas através da medula doada. Outra possibilidade seria vacinar o receptor um pouco antes do transplante na expectativa de conseguir níveis de proteção contra a gripe mais cedo.

3. Descrição da Pesquisa**A. Objetivo do Estudo**

O Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG) de BH em colaboração com a Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (USP) e a Fundação Amaral Carvalho (Jaú/SP) estão fazendo este estudo para avaliar o benefício de esquemas diferentes (alternativos) de vacinação contra gripe em receptores de transplante de medula óssea.

B. Descrição do Estudo

Todos os pacientes submetidos ao transplante de medula incluídos no estudo vão receber normalmente a sua vacina de gripe 6 meses após o transplante de medula, como já é recomendado de rotina pelo Ministério da Saúde.

O estudo vai testar outros 2 esquemas diferentes de vacinação antes do transplante e compará-los com o convencional

Para isso, antes do transplante os pacientes serão divididos em 3 grupos diferentes através de um sorteio.

- no GRUPO 1 – nem doador, nem receptor serão vacinados antes do transplante; o paciente transplantado só será vacinado a partir de 6 meses após o transplante;
- no GRUPO 2 – apenas o doador vai ser vacinado antes do transplante e o transplantado vai receber a vacinação de rotina a partir 6 meses após o transplante,
- no GRUPO 3 – apenas o receptor do transplante vai ser vacinado antes do transplante e novamente a partir 6 meses depois.

O sorteio será realizado através de um programa de computador e cada par – doador/receptor receberá um envelope lacrado com o número do seu grupo. O sorteio é necessário para garantir a distribuição dos pacientes ao acaso.

A vacina de gripe será aplicada no CRIE (Centro de Imunobiológicos Especiais) Belo Horizonte, em média de 2 a 4 semanas e no máximo 1 semana antes da data prevista para o transplante.

Serão colhidas 2 amostras de sangue do doador e do receptor antes do transplante (10 ml de sangue cada uma), independente da vacinação: a primeira no dia da entrada na pesquisa e a segunda no dia do transplante. Este sangue será coletado pela equipe do laboratório central do HC, estocado e depois encaminhado para São Paulo para a realização da sorologia (dosagem de anticorpos).

Depois do transplante os doadores saem do estudo, mas todas os pacientes transplantadas serão acompanhadas por 1 ano pela equipe da pesquisa, independente do esquema de vacina antigripal. A princípio o acompanhamento será no próprio hospital diariamente. Após a alta, o acompanhamento será no mesmo dia programado para a consulta de retorno com a equipe da hematologia do TMO, no mesmo ambulatório de pós transplante.

Durante o período de acompanhamento, os transplantados que apresentarem espirros, nariz entupido, catarro no nariz, tosse, escarros farão coleta de lavado nasal para pesquisa do vírus da gripe e outros vírus também causadores de resfriado. A coleta será feita injetando-se pequena quantidade de soro fisiológico em cada narina do paciente e a seguir pedindo que ele assoe espontaneamente o nariz dentro de um pote apropriado. O material será conservado em um freezer e depois encaminhado para São Paulo. Nos pacientes sonolentos ou inconscientes, a coleta será feita através de

um cateter fino passado no nariz. Nas crianças que não consigam realizar o exame espontaneamente o material do nariz será coletado por um aspirador próprio pela enfermeira responsável pela pesquisa.

Todos os pacientes transplantados, independente da vacinação antes do transplante, vão colher novos exames de sangue (05 ml cada amostra) nos dias +30, +60, +100 e aos 6 meses. Após a vacinação de rotina a partir do 6º mês pós transplante, outra amostra

Versão de 05/2008

Modificada em 06/09



Hospital das Clínicas – UFMG

**Termo de Consentimento Livre e Esclarecido – DOADOR**

de sangue também será coletada. Todas as amostras de sangue também serão guardadas e depois enviadas para SP para dosagem dos anticorpos contra a gripe.

O prontuário médico também será revisado para alguns dados. Seu médico assistente poderá fazer outros exames que julgar necessários, independente dessa pesquisa. Uma pequena parte das amostras de sangue e lavado nasal poderão ser guardadas para estudos futuros se houver consentimento.

C. Potenciais Benefícios para o doador

Através da vacinação o doador vai se proteger contra a gripe e suas possíveis complicações. Além disso, se o doador convive na mesma casa do receptor do transplante de medula, a vacinação diminui a chance de transmissão da gripe dentro do domicílio, de maneira independente da doação.

D. Riscos e Efeitos Desagradáveis para o doador

Os riscos deste estudo são mínimos. A coleta de sangue pode causar dor, inchaço e hematoma (mancha rocha) no local. A vacina antigripal que será administrada é a distribuída pelo Ministério da Saúde e disponível nos CRIE (Centros de Referência de Imunobiológicos Especiais). Ela é feita com vírus da gripe inativados ou seja mortos, e que não causam a doença. A vacina é segura e pode ser aplicada em qualquer pessoa, mesmo no transplantado. Entretanto, após a vacina poderão aparecer dor muscular, dor nas juntas, febre baixa, dor no local da injeção, sem maiores complicações e que podem ser aliviados com medicamentos comuns para dor e febre. As únicas contra indicações absolutas a vacina são alergia ao ovo ou proteína de galinha e a algumas substâncias químicas como o timerosal, formaldeído e neomicina. Nesses casos o doador não poderá participar do estudo.

E. Alternativas

Se você escolher não participar deste estudo, não haverá qualquer problema com sua doação e/ou para o seu receptor. A vacina de gripe do receptor será fornecida normalmente após o 6º mês após o transplante.

F. Participação voluntária

A participação no estudo é completamente voluntária. A qualquer momento você poderá decidir por não tomar parte neste estudo e poderá sair. Não haverá nenhum tipo de pena ou multa ou perda dos benefícios aos quais você tem direito. Você continuará a ser tratado da mesma forma, independente da sua decisão.

G. Confidencialidade

Suas informações e seus dados pessoais serão confidenciais, ou seja, não serão revelados em nenhuma hipótese. Esta pesquisa segue todos os cuidados éticos previstos para pesquisa em seres humanos do Conselho Nacional da Saúde. No final do trabalho os resultados serão apresentados na forma de tese de doutorado e poderão ser apresentados em aulas, congressos médicos e publicados em revistas da área de médica.

H. Custo de participação

Você não precisará pagar por nenhum dos exames ou vacinas relacionados à pesquisa. Não haverá nenhum pagamento do doador e do receptor pela sua participação no estudo.

I. Contato pessoal

A responsável por este trabalho no Hospital das Clínicas da UFMG é a Dra. Jacqueline G. Ferreira de Oliveira. Ela poderá ser encontrada para responder suas dúvidas referentes ao estudo na Unidade de Transplantes do HC – 9º andar pelas manhãs ou pelo telefone 3248-9489 ou celular 9195-4260.

J. Consentimento

Eu concordo em participar deste estudo de pesquisa voluntariamente. Após ter lido este termo de consentimento ou ter ouvido explicações sobre ele tive oportunidade de discutir e esclarecer as minhas dúvidas. Todas as questões foram respondidas adequadamente. Recebi uma cópia deste documento para guardar comigo. Eu concordo que as amostras do meu sangue sejam armazenadas para futuros estudos de pesquisa () SIM () NÃO

Doador ou responsável legal

_____/_____/_____
Data

Equipe da Pesquisa

_____/_____/_____
Data

Assinatura da testemunha

_____/_____/_____
Data

Anexo F



Fundação Hospital Amaral Carvalho – Jaú/SP

Termo de Consentimento Livre e Esclarecido – DOADOR

Você está sendo convidado a participar de um projeto de pesquisa. A seguir estão informações importantes. Antes que sua participação seja aceita é fundamental que você leia todas as informações.

1. Nome do Estudo**ESTUDO DA EFICÁCIA E DA IMUNOGENICIDADE DE ESQUEMAS ALTERNATIVOS DE VACINAÇÃO CONTRA INFLUENZA EM RECEPTORES DE TRANSPLANTE DE CÉLULAS TRONCO HEMATOPOIÉTICAS****2. Introdução**

O vírus influenza, também chamado de vírus da gripe, é uma causa comum de resfriado. Os sintomas da gripe são dor de cabeça e dores pelo corpo, nariz entupido, catarro, tosse, e febre. Geralmente a gripe melhora sozinha em poucos dias, sem precisar de remédios, mas nas pessoas transplantadas de medula, entretanto, devido a baixa das defesas do corpo, a infecção pelo vírus da gripe pode ser mais grave, causando complicações como sinusite, pneumonia e até mesmo a morte. A vacina da gripe é a melhor forma de proteção e por isso o Ministério da Saúde do Brasil recomenda que todo paciente transplantado de medula seja vacinado. Normalmente a vacina é aplicada somente depois de 6 a 12 meses do transplante, quando o sistema de defesas da pessoa já está recuperando e é capaz de responder a vacina. Nesse meio tempo entretanto, o paciente fica desprotegido e pode adoecer. É possível que outros esquemas diferentes de vacinação possam proteger o receptor do transplante de forma mais efetiva. Uma maneira seria vacinar o doador antes do transplante, de forma que ele pudesse transferir suas defesas através da medula doada. Outra possibilidade seria vacinar o receptor um pouco antes do transplante na expectativa de conseguir níveis de proteção contra a gripe mais cedo.

3. Descrição da Pesquisa**A. Objetivo do Estudo**

A Fundação Amaral Carvalho (Jaú/SP) em colaboração com o Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG) de BH e com a Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (USP) estão fazendo este estudo para avaliar o benefício de esquemas diferentes (alternativos) de vacinação contra gripe em receptores de transplante de medula óssea.

B. Descrição do Estudo

Todos os pacientes submetidos ao transplante de medula incluídos no estudo vão receber normalmente a sua vacina de gripe a partir de 6 meses após o transplante de medula, como já é recomendado de rotina pelo Ministério da Saúde. O estudo vai testar outros 2 esquemas diferentes de vacinação antes do transplante e compará-los com o convencional.

Para isso, antes do transplante os pacientes serão divididos em 3 grupos diferentes através de um sorteio.

- no GRUPO 1 – nem doador, nem receptor serão vacinados antes do transplante; o paciente transplantado só será vacinado a partir de 6 meses após o transplante;
- no GRUPO 2 – apenas o doador vai ser vacinado antes do transplante e o transplantado vai receber a vacinação de rotina a partir de 6 meses após o transplante,
- no GRUPO 3 – apenas o receptor do transplante vai ser vacinado antes do transplante e novamente a partir de 6 meses depois.

O sorteio será realizado através de um programa de computador e cada par – doador/receptor receberá um envelope lacrado com o número do seu grupo. O sorteio é necessário para garantir a distribuição dos pacientes ao acaso.

A vacina de gripe será aplicada no próprio HAC em média de 2 a 4 semanas e no máximo 1 semana antes da data prevista para o transplante.

Serão colhidas 2 amostras de sangue do doador e do receptor antes do transplante (5 ml de sangue cada uma), independente da vacinação: a primeira no dia da entrada na pesquisa e depois no dia do transplante. Este sangue será estocado e depois encaminhado para São Paulo para a realização da sorologia (dosagem de anticorpos) contra a gripe.

Depois do transplante os doadores saem do estudo, mas todas as pessoas transplantadas serão acompanhadas por 1 ano pela equipe da pesquisa, independente do tipo de esquema de vacina antigripal que tomaram. A princípio o acompanhamento será no próprio hospital diariamente. Após a alta, o acompanhamento será no mesmo dia programado para a consulta de retorno com a equipe da hematologia do TMO, no mesmo ambulatório de pós transplante.

Nesse período de acompanhamento se aparecerem sintomas gripais tipo espirros, nariz entupido, catarro ou tosse, será feita uma coleta de lavado do nariz para pesquisa do vírus da gripe e outros vírus também causadores de resfriado. O procedimento será feito injetando-se uma pequena quantidade de soro fisiológico em cada narina do paciente e a seguir pedindo que ele assoe o nariz espontaneamente dentro de um pote apropriado. O material coletado será conservado em um freezer e depois encaminhado para São Paulo. Nos pacientes sonolentos ou inconscientes, incapazes de colher o lavado espontaneamente, a coleta será feita através de um cateter fino passado no nariz. Nas crianças que não



Fundação Hospital Amaral Carvalho – Jati/SP

Termo de Consentimento Livre e Esclarecido – DOADOR

consigam realizar o exame espontaneamente o material do nariz será coletado por um aspirador próprio pela enfermeira responsável pela pesquisa.

Todos os pacientes transplantados, independente da vacinação antes do transplante, vão colher novos exames de sangue (5 ml cada amostra) nos dias +30, +60, +100 e aos 6 meses. Após a vacinação de rotina a partir do 6º mês pós transplante, outra amostra de sangue também será coletada. Todas as amostras de sangue também serão guardadas e depois enviadas para SP para dosagem dos anticorpos contra a gripe.

O prontuário médico também será revisto para alguns dados. Seu médico assistente poderá fazer outros exames que julgar necessários, independente dessa pesquisa.

C. Potenciais Benefícios para o Doador

Este estudo vai permitir que você se proteja contra a gripe e suas complicações. Além disso, se você for uma pessoa que convive na mesma casa do paciente transplantado a vacinação diminui a chance de transmissão de gripe, de maneira independente da doação e está sempre indicada. Se forem observados bons resultados da vacinação do doador antes do transplante, poderemos beneficiar outros pacientes candidatos ao transplante de medula óssea no futuro.

D. Riscos e Efeitos Desagradáveis

Os riscos deste estudo são mínimos para o doador. A vacina antigripal que será administrada é a distribuída pelo Ministério da Saúde e disponível nos CRIE (Centros de Referência de Imunobiológicos Especiais). Ela feita com vírus da gripe inativados ou seja mortos, e que não causam a doença. A vacina é segura e pode ser feita em qualquer pessoa, mesmo no transplantado. Entretanto, após a injeção da vacina alguns efeitos leves podem aparecer como dor muscular, dor nas juntas, febre baixa, dor no local da injeção da vacina, sem maiores complicações e que podem ser aliviados com medicamentos comuns para dor e febre. As únicas contra indicações são alergia a ovo ou proteína de galinha, bem como alergia ao timerosal, formaldeído e neomicina, conservantes usados na vacina; nesses casos a vacina não será dada ao paciente. A coleta de sangue pode causar dor, inchaço e hematoma (mancha rocha) no local.

E. Alternativas

Se você escolher não participar deste estudo, isto não acarretará qualquer problema para a sua doação. A vacina de gripe do receptor será fornecida normalmente após o 6º mês após o transplante.

F. Participação voluntária

Se você escolher fazer parte deste estudo você pode decidir abandoná-lo a qualquer momento, sem que isto acarrete perdas ou danos dos benefícios do receptor do transplante de medula.

G. Confidencialidade

Suas informações e seus dados pessoais serão confidenciais, ou seja, não serão revelados em nenhuma hipótese. Esta pesquisa segue todos os cuidados éticos previstos para pesquisa em seres humanos do Conselho Nacional da Saúde. No final do trabalho os resultados serão apresentados na forma de tese de pós graduação (doutorado) e poderão ser apresentados em aulas, congressos médicos e publicados em revistas da área de saúde.

H. Custo de participação

Você não precisará pagar por nenhum dos exames ou vacinas relacionados à pesquisa. Não haverá nenhum pagamento pela sua participação no estudo.

I. Contato pessoal

A responsável por este trabalho na Fundação Amaral Carvalho é a enfermeira **LUCIA TESTA**. Ela poderá ser encontrada para responder suas dúvidas referentes ao estudo no Ambulatório de Transplante de Medula pelas manhãs ou pelo telefone 14 – 3602-1381.

J. Consentimento

Eu concordo em participar deste estudo de pesquisa voluntariamente. Após ter lido este termo de consentimento ou ter ouvido explicações sobre ele tive oportunidade de discutir e esclarecer as minhas dúvidas com o enfermeiro responsável. Todas as questões foram respondidas adequadamente. Recebi uma cópia deste documento para guardar comigo. Eu concordo que as amostras do meu sangue e do lavado nasal sejam armazenadas para futuros estudos de pesquisa () SIM () NÃO

Doador ou responsável

_____/_____/_____
Data

Equipe da Pesquisa

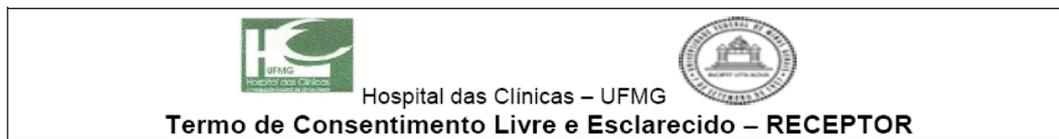
_____/_____/_____
Data

Assinatura da testemunha

_____/_____/_____
Data

Versão de 03/2008

Anexo G



Você está sendo convidado a participar de um projeto de pesquisa. A seguir estão informações importantes. Antes que sua participação seja aceita é fundamental que você leia todas as informações

1. Nome do Estudo

ESTUDO DA EFICÁCIA E DA IMUNOGENICIDADE DE ESQUEMAS ALTERNATIVOS DE VACINAÇÃO CONTRA INFLUENZA EM RECEPTORES DE TRANSPLANTE DE CÉLULAS TRONCO HEMATOPOIÉTICAS

2. Introdução

O vírus da gripe, também chamado de vírus influenza, é uma causa comum de resfriado. Os sintomas da gripe podem ser dores de cabeça e pelo corpo, nariz entupido, catarro, tosse, e às vezes febre. Geralmente a gripe melhora em poucos dias, sem precisar de remédios. Nas pessoas transplantadas de medula, entretanto, devido a baixa da imunidade, ou seja, das defesas contra infecções, a gripe pode ser mais grave, causando complicações como pneumonia e até mesmo a morte. A vacina da gripe é a melhor forma de proteção e por isso o Ministério da Saúde do Brasil recomenda que todo paciente transplantado de medula deva ser vacinado. Normalmente a vacina é aplicada somente depois de 6 a 12 meses do transplante, quando o sistema de defesas da pessoa já está recuperando e é capaz de responder. Nesse meio tempo entretanto, o paciente fica desprotegido e pode adoecer. É possível que outros esquemas diferentes de vacinação possam proteger o transplantado de forma mais efetiva. Uma maneira seria vacinar o doador antes do transplante, de forma que ele pudesse transferir suas defesas através da medula ou células tronco. Outra possibilidade seria vacinar o receptor antes do transplante, para que ele pudesse desenvolver algum grau de proteção contra a gripe mais cedo.

3. Descrição da Pesquisa

A. Objetivo do Estudo

O Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG) de BH em colaboração com a Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (USP) e a Fundação Amaral Carvalho (Jaú/SP) estão fazendo este estudo para avaliar o benefício de esquemas diferentes (alternativos) de vacinação contra gripe em receptores de transplante de medula óssea.

B. Descrição do Estudo

Todos os pacientes incluídos no estudo vão receber normalmente a sua vacina de gripe 6 meses após o transplante de medula, como já é recomendado pelo Ministério da Saúde. O estudo vai testar outros 2 esquemas diferentes de vacinação e compara-los com o original.

Para isso, antes do transplante os pacientes serão divididos em 3 grupos diferentes através de um sorteio.

- no GRUPO 1 – nem doador, nem receptor serão vacinados antes do transplante; o paciente transplantado só será vacinado a partir de 6 meses após o transplante;
- no GRUPO 2 – apenas o doador vai ser vacinado antes do transplante e o transplantado vai receber a vacinação de rotina a partir de 6 meses após o transplante,
- no GRUPO 3 – apenas o receptor do transplante vai ser vacinado antes do transplante e novamente a partir de 6 meses depois.

O sorteio será realizado através de um programa de computador e cada par – doador/receptor receberá um envelope lacrado com o número do seu grupo. O sorteio é necessário para garantir a distribuição dos pacientes ao acaso.

A vacina de gripe será aplicada no CRIE (Centro de Imunobiológicos Especiais) Belo Horizonte, em média de 2 a 4 semanas e no máximo 1 semana antes da data prevista para o transplante.

Serão colhidas 2 amostras de sangue do doador e do receptor antes do transplante (5 ml de sangue cada uma), independente da vacinação: a primeira no dia da entrada na pesquisa e depois no dia do transplante. Este sangue será coletado pela equipe do laboratório central do HC, estocado e depois encaminhado para São Paulo para a realização da sorologia (dosagem de anticorpos)

Depois do transplante os doadores saem do estudo, mas todas as pessoas transplantadas serão acompanhadas por 1 ano pela equipe da pesquisa, independente do esquema de vacina antigripal. A princípio o acompanhamento será no próprio hospital diariamente. Após a alta, o acompanhamento será no mesmo dia programado para a consulta de retorno com a equipe da hematologia do TMO, no mesmo ambulatório de pós transplante

Durante o período de acompanhamento, se os transplantados aparecerem sintomas tipo espirros, nariz entupido, catarro no nariz, tosse, escarros será feita coleta de lavado nasal para pesquisa do vírus da gripe e outros vírus causadores de resfriado. A coleta será feita injetando-se pequena quantidade de soro fisiológico em cada narina do paciente e a seguir pedindo que ele assoe o nariz espontaneamente dentro de um pote apropriado. O material será conservado em um freezer e depois encaminhado para São Paulo. Nos pacientes sonolentos ou inconscientes, a coleta será feita através de um cateter fino passado no nariz. Nas crianças que não consigam realizar o exame espontaneamente o material do nariz será coletado por um aspirador próprio pela enfermeira responsável.

Todos os pacientes transplantados, independente da vacinação antes do transplante, vão colher novos exames de sangue (5 ml cada amostra) nos dias +30, +60, +100 e aos 6 meses. Após a vacinação de rotina a partir do 6º mês pós transplante, outra amostra de sangue também será coletada. Todas as amostras de sangue também serão guardadas e depois enviadas para SP para dosagem dos anticorpos contra a gripe.

	
Hospital das Clínicas – UFMG	
Termo de Consentimento Livre e Esclarecido – RECEPTOR	

O prontuário médico também será revisto para alguns dados. Seu médico assistente poderá fazer outros exames que julgar necessários, independente dessa pesquisa. Uma pequena parte das amostras de sangue e lavado nasal poderão ser guardadas para estudos futuros se houver consentimento

C. Potenciais Benefícios para o receptor

A vacina antigripal aplicada antes do transplante poderá melhorar os níveis de anticorpos (defesas do organismo) mais cedo e diminuir a chance do receptor adoecer com a gripe e suas complicações nos primeiros 6 meses após o transplante.

D. Riscos e Efeitos Desagradáveis para o receptor

Os riscos deste estudo são mínimos. A coleta de sangue pode causar dor, inchaço e hematoma (mancha rocha) no local. A coleta do lavado nasal pode causar pouco desconforto no nariz. No caso de pacientes com as plaquetas muito baixas pode haver discreto sangramento. A vacina antigripal que será administrada é a distribuída pelo Ministério da Saúde e disponível nos CRIE. Ela é feita com vírus da gripe inativados ou seja mortos, e que não causam a doença. A vacina é segura e pode ser aplicada em qualquer pessoa, mesmo no transplantado. Entretanto, após a vacina alguns efeitos leves podem aparecer como dor muscular e nas juntas, febre baixa, dor no local da injeção da vacina, sem maiores complicações e que podem ser aliviados com medicamentos comuns para dor e febre. As únicas contra indicações absolutas a vacina são alergia ao ovo ou proteína de galinha e a algumas substâncias químicas como o timerosal, formaldeído e neomicina. Nesses casos o doador não poderá participar do estudo.

E. Alternativas

Se você escolher não participar deste estudo, não acarretará problemas com o seu transplante. O diagnóstico seguirá pela rotina disponível no HC. A vacina de gripe será administrada normalmente após o 6º mês após o transplante.

F. Participação voluntária

A participação no estudo é completamente voluntária. A qualquer momento você poderá decidir por sair. Não haverá nenhum tipo de pena ou multa ou perda dos benefícios aos quais você tem direito. Você continuará a ser tratado da mesma forma, independente da sua decisão.

G. Confidencialidade

Suas informações e seus dados pessoais serão confidenciais, ou seja, não serão revelados em nenhuma hipótese. Esta pesquisa segue todos os cuidados éticos previstos para pesquisa em seres humanos do Conselho Nacional da Saúde. No final do trabalho os resultados serão apresentados na forma de tese de doutorado e poderão ser apresentados em aulas, congressos médicos e publicados em revistas da área de saúde.

H. Custo de participação

Você não precisará pagar por nenhum dos exames ou vacinas relacionados à pesquisa. Não haverá nenhum pagamento pela sua participação no estudo.

I. Contato pessoal

A responsável por este trabalho no Hospital das Clínicas da UFMG é a Dra. Jacqueline G. Ferreira de Oliveira. Ela poderá ser encontrada para responder suas dúvidas referentes ao estudo na Unidade de Transplantes do HC – 9º andar pelas manhãs ou pelo telefone 3248-9489 ou celular 9195-4260.

J. Consentimento

Eu concordo em participar deste estudo de pesquisa voluntariamente. Após ter lido este termo de compromisso ou ter ouvido através de meu representante legal, tive oportunidade de discutir e esclarecer as minhas dúvidas com o enfermeiro responsável. Todas as questões foram respondidas adequadamente. Recebi uma cópia deste documento para guardar comigo. Eu concordo que as amostras do meu sangue e do lavado nasal sejam armazenadas para futuros estudos de pesquisa () SIM () NÃO

	____/____/____
Paciente ou responsável legal	Data
Equipe da Pesquisa	____/____/____
Assinatura da testemunha	Data

Anexo H



Fundação Hospital Amaral Carvalho – Jaú/SP

Termo de Consentimento Livre e Esclarecido – RECEPTOR

Você está sendo convidado a participar de um projeto de pesquisa. A seguir estão informações importantes. Antes que sua participação seja aceita é fundamental que você leia todas as informações

1. Nome do Estudo

ESTUDO DA EFICÁCIA E DA IMUNOGENICIDADE DE ESQUEMAS ALTERNATIVOS DE IMUNIZAÇÃO CONTRA INFLUENZA EM RECEPTORES DE TRANSPLANTE DE CÉLULAS TRONCO HEMATOPOIÉTICAS

2. Introdução

O vírus da gripe, também chamado de vírus influenza, é uma causa comum de resfriado. Os sintomas da gripe são dor de cabeça e dores pelo corpo, nariz entupido, catarro, tosse, e febre. Geralmente a gripe melhora sozinha em poucos dias, sem precisar de remédios, mas nas pessoas transplantadas de medula devido a baixa das defesas do corpo, a infecção pelo vírus da gripe pode ser mais grave, causando complicações como sinusite, pneumonia e até mesmo a morte. A vacina da gripe é a melhor forma de proteção e por isso o Ministério da Saúde do Brasil recomenda que todo paciente transplantado de medula seja vacinado. Normalmente a vacina é aplicada somente depois de 6 a 12 meses do transplante, quando o sistema de defesas da pessoa já está recuperando e é capaz de responder a vacina. Nesse meio tempo entretanto, o paciente fica desprotegido e pode adoecer. É possível que outros esquemas diferentes de vacinação possam proteger o receptor do transplante de forma mais efetiva. Uma maneira seria vacinar o doador antes do transplante, de forma que ele pudesse transferir suas defesas através da medula doada. Outra possibilidade seria vacinar o receptor um pouco antes do transplante na expectativa de se conseguir níveis de proteção contra a gripe mais cedo.

3. Descrição da Pesquisa

A. Objetivo do Estudo

A Fundação Amaral Carvalho (Jaú/SP) em colaboração com o Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG) de BH e com a Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (USP) estão fazendo este estudo para avaliar o o benefício de esquemas diferentes (alternativos) de vacinação contra gripe em receptores de transplante de medula óssea.

B. Descrição do Estudo

Todos os pacientes incluídos no estudo vão receber normalmente a sua vacina de gripe 6 meses após o transplante de medula, como já é recomendado pelo Ministério da Saúde. O estudo vai testar outros 2 esquemas diferentes de vacinação antes do transplante e compará-los com o convencional

Para isso, antes do transplante os pacientes serão divididos em 3 grupos diferentes através de um sorteio.

- no GRUPO 1 – nem doador, nem receptor serão vacinados antes do transplante; o paciente transplantado só será vacinado a partir de 6 meses após o transplante;
- no GRUPO 2 – apenas o doador vai ser vacinado antes do transplante e o transplantado vai receber a vacinação de rotina a partir de 6 meses após o transplante,
- no GRUPO 3 – apenas o receptor do transplante vai ser vacinado antes do transplante e novamente a partir de 6 meses depois.

O sorteio será realizado através de um programa de computador e cada par – doador/receptor receberá um envelope lacrado com o número do seu grupo. O sorteio é necessário para garantir a distribuição dos pacientes ao acaso.

A vacina de gripe será aplicada no posto de saúde em média de 2 a 4 semanas e no máximo 1 semana antes da data prevista para o transplante.

Serão colhidas 2 amostras de sangue do doador e do receptor antes do transplante (5 ml de sangue cada uma), independente da vacinação: a primeira no dia da entrada na pesquisa e depois no dia do transplante. Este sangue será estocado e depois encaminhado para São Paulo para a realização da sorologia (dosagem de anticorpos)

Depois do transplante os doadores saem do estudo, mas todas as pessoas transplantadas serão acompanhadas por 1 ano pela equipe da pesquisa, independente do tipo de esquema de vacina antigripal que tomaram. A princípio o acompanhamento será no próprio hospital diariamente. Após a alta, o acompanhamento será no mesmo dia programado para a consulta de retorno com a equipe da hematologia do TMO, no mesmo ambulatório de pós transplante

Nesse período de acompanhamento se aparecerem sintomas gripais tipo espirros, nariz entupido, catarro, ou tosse será feita uma coleta de lavado nasal para pesquisa do vírus da gripe e outros vírus também causadores de resfriado. O procedimento será feito injetando-se uma pequena quantidade de soro fisiológico em cada narina do paciente e a seguir pedindo que ele assoe o nariz espontaneamente dentro de um pote apropriado. O material coletado será conservado em um freezer e depois encaminhado para São Paulo. Nos pacientes sonolentos ou inconscientes, incapazes de colher o lavado espontaneamente, e nas crianças que não consigam realizar o exame o material do nariz será coletado por um aspirador próprio pela enfermeira responsável.

Todos os pacientes transplantados, independente da vacinação antes do transplante, vão colher novos exames de sangue (5 ml cada amostra) nos dias +30, +60, +100 e aos 6 meses pós transplante. Após a vacinação de rotina a partir do 6º mês pós transplante, outra

Versão de 06/09



Fundação Hospital Amaral Carvalho – Jaú/SP

Termo de Consentimento Livre e Esclarecido – RECEPTOR

amostra de sangue também será coletada. Todas as amostras de sangue também serão guardadas e depois enviadas para SP para dosagem dos anticorpos contra a gripe.

O seu prontuário médico também será revisto para alguns dados. Seu médico assistente poderá fazer outros exames que julgar necessários, independente dessa pesquisa.

C. Potenciais Benefícios para o Receptor

A vacina antigripal aplicada antes do transplante poderá melhorar os níveis de anticorpos protetores (as defesas do organismo) contra a influenza mais cedo e diminuir a chance do receptor adoecer com a gripe e suas complicações nos primeiros 6 meses após o transplante. Se forem observados bons resultados da vacinação antigripal antes do transplante, o benefício maior será no futuro, para outros transplantados, com mudanças das recomendações para a vacinação.

D. Riscos e Efeitos Desagradáveis

Os riscos deste estudo são mínimos para o receptor. A vacina antigripal que será administrada é a distribuída pelo Ministério da Saúde e disponível nos CRIE (Centros de Referência de Imunobiológicos Especiais). Ela feita com vírus da gripe inativados ou seja mortos, e que não causam a doença. A vacina é segura e pode ser feita em qualquer pessoa, mesmo no transplantado. Entretanto, após a injeção da vacina alguns efeitos leves podem aparecer como dor muscular, dor nas juntas, febre baixa, dor no local da injeção da vacina, sem maiores complicações e que podem ser aliviados com medicamentos comuns para dor e febre. As únicas contra indicações são alergia a ovo ou proteína de galinha, bem como alergia ao timerosal, formaldeído e neomicina, conservantes usados na vacina; nesses casos a vacina não será dada ao paciente. A coleta de sangue pode causar dor, inchaço e hematoma (mancha rocha) no local. Coleta do lavado nasal pode causar algum desconforto no nariz, quando o soro fisiológico é injetado dentro da narina. No caso de pacientes com as plaquetas muito baixas pode haver discreto sangramento. A coleta de sangue pode causar dor, inchaço e hematoma (mancha rocha) no local.

E. Alternativas

Se você escolher não participar deste estudo, isto não acarretará qualquer problema para o seu tratamento. Não haverá perda dos benefícios aos quais você tem direito estando internado. Seu diagnóstico seguirá pela rotina habitual do hospital e a vacina de gripe será administrada normalmente após o 6º mês após o transplante.

F. Participação voluntária

Se você escolher fazer parte deste estudo você pode decidir abandoná-lo a qualquer momento, sem que isto acarrete perdas ou danos dos benefícios a que você tem direito.

G. Confidencialidade

Suas informações e seus dados pessoais serão confidenciais, ou seja, não serão revelados em nenhuma hipótese. Esta pesquisa segue todos os cuidados éticos previstos para pesquisa em seres humanos do Conselho Nacional da Saúde. No final do trabalho os resultados serão apresentados na forma de tese de pós graduação (doutorado) e poderão ser apresentados em aulas, congressos médicos e publicados em revistas da área de saúde.

H. Custo de participação

Você não precisará pagar por nenhum dos exames ou vacinas relacionados à pesquisa. Não haverá nenhum pagamento pela sua participação no estudo.

I. Contato pessoal

A responsável por este trabalho na Fundação Amaral Carvalho é a enfermeira LUCIA TESTA. Ela poderá ser encontrada para responder suas dúvidas referentes ao estudo no Ambulatório de Transplante de Medula pelas manhãs ou pelo telefone 14 – 3602-1381.

J. Consentimento

Eu, concordo em participar deste estudo de pesquisa voluntariamente. Após ter lido este termo de compromisso ou ter ouvido através de meu representante legal, tive oportunidade de discutir e esclarecer as minhas dúvidas com o enfermeiro responsável. Todas as questões foram respondidas adequadamente. Recebi uma cópia deste documento para guardar comigo. Eu concordo que as amostras do meu sangue e do lavado nasal sejam armazenadas para futuros estudos de pesquisa. () SIM () NÃO

Paciente ou responsável legal

Equipe da Pesquisa

Assinatura da testemunha

____/____/____
Data

____/____/____
Data

____/____/____
Data

Anexo I

No de ordem _ _ _ _ _
FORMULÁRIO DE COLETA DE DADOS
“ESTUDO DA EFICÁCIA E DA IMUNOGENICIDADE DE ESQUEMAS ALTERNATIVOS DE VACINAÇÃO CONTRA INFLUENZA EM RECEPTORES DE TRANSPLANTE DE CELULAS TRONCOHEMATOPOIÉTICAS ”
PESQUISADOR RESPONSÁVEL: Jacqueline G. F. Oliveira
ORIENTADOR: Dra. Cláudia M. Machado
INSTITUIÇÕES: Hospital das Clínicas – UFMG Instituto de Medicina Tropical – USP Hospital Amarel Carvalho – Jaiú / SP
Centro transplantador: () HC/UFMG () Jaiú/SP
Instruções: <ol style="list-style-type: none"> 1. Preencha este formulário a lápis 2. Assinale a melhor alternativa com o sinal (X) e a seguir transcreva o número da opção na caixa de codificação 3. Não deixe nenhuma questão em branco 4. Quando a informação não estiver disponível, registre ignorado 5. Se mais de uma resposta, some o número dos códigos e escreva o resultado da soma na caixa 6. Lembre-se que a informação que você registra é absolutamente confidencial
Versão 08/2007

1. Nº de ordem: _____
2. Nº do prontuário: _____
3. Data de cadastro no estudo: _____
4. Centro transplantador:
 1) Hospital das Clínicas /UFMG
 2) Fundação Amarel Carvalho - Juiz/Sp
 3) Outros: _____

RECEPTOR

5. Data de nascimento: _____
6. Sexo: 1) M 2) F _____
7. Escolaridade (anos completos de estudo): _____
8. Naturalidade: _____ (IBGE) _____
9. Procedência: _____ (IBGE) _____
10. Grupo ABO: 1) A 2) B 3) AB 4) O _____
11. Rh: 1) negativo 2) positivo _____
12. Diagnóstico:
 1) LLA 8) Linfoma não Hodgkin
 2) LMA 9) Doença de Hodgkin
 3) LA secundária 10) Tumor sólido
 4) LMC 11) Hemoglobinopatias
 5) LLC 12) Anemia aplásica
 6) S. Mielodisplásica 13) Outros: _____
 7) Mieloma _____
13. Data do diagnóstico: _____
14. Estado da doença de base:
 1) _____ 8) NA 9) IGN _____

DOADOR

15. HLA match:
 1) irmão genotíp. HLA idêntico
 2) gêmeo monozigótico
 3) relacionado, fenotipicamente idêntico
 4) não relacionado, idêntico
 5) relacionado, não idêntico
 6) não relacionado, não idêntico

16. Data de nascimento: _____
17. Sexo: 1) M 2) F _____

TRANSPLANTE

19. Data do transplante: _____
19. Fonte das células brnco:
 1) medula 2) CTP 3) cordão _____
20. No de transplantes prévios:
 1) auto _____ 2) alo _____
21. Esquema de condicionamento:
 1) mieloblativo 2) não-mieloblativo _____
22. Quimioterapia:
 1) ciclofosfamida 2) melfalan 4) ara c
 8) thiotepa 16) bussulfan 32) fludarabina
 64) VP16
 128. outros: _____
23. TBI: 1) sim 2) não _____
24. TLI: 1) sim 2) não _____
25. Condicionamento com anticorpos
 1) não _____
 2) ALG/ATG (mg/kg/dia) _____ (nome)
 3) Ac monoclonais _____ (mg/kg)
26. Início do condicionamento: _____
27. Término do condicionamento: _____
- Células infundidas por Kg de peso do receptor:
 28. nº de Cel. nucleadas (10^6 /Kg): _____
 29. Nº total de CD34 (10^6 /Kg): _____

RECONSTITUIÇÃO HEMATOLÓGICA

30. Performance do enxerto:
 1) pega 2) não pega 9) IGN _____
31. Data de neutrófilo > 500: _____
32. Data de neutrófilo > 1000: _____
33. Data de linfócitos > 500: _____
34. Data de plaquetas > 50.000: _____
35. Se falha de pega, em que data? _____
36. Tratamento da falha de pega: _____

- 1) nenhum 2) autólogo 3) alogênico
 8) NA 9) IGN _____

37. Quimioterapia no 3 mês:
 1) não realizado 2) completo (100% D) 3) misto
 5) reconstituição autólogo (100% R) 8) NA 9) IGN _____

GVHD

38. Profilaxia in vivo:
 1) nenhuma 2) CsA 4) corticóide
 6) metotrexate
 16) ATG/ALG _____ (mg/kg/d)
 32) Ac monoclonais _____ (mg/kg/d)
 64) Outros: _____
- Se 16 ou 32, _____
39. Data de início profilaxia: _____
40. Data de término: _____
41. Se uso de corticóide, qual a dose?
 1. < 2 mg/Kg/dia 8. NA 9. IGN _____
 2. > 2 mg/Kg/dia _____
42. Ocorrência de GVHD agudo:
 1. sim 2. não 8. NA 9. IGN _____
43. Data de início do GVHD: _____
44. Grau máximo (Gluksberg):
 1) Ausente
 2) I
 3) II
 4) III
 5) IV
 8) NA _____

45. Grau na pele (0, 1, 2, 3, 4) _____
46. Grau no fígado (0, 1, 2, 3, 4) _____
47. Grau gastrointestinal (0, 1, 2, 3, 4) _____
48. Tratamento:
 1) NA (se não teve GVHDa)
 2) corticóide
 4) ALT/ATG
 8) Ac monoclonais: _____
 16) Outros: _____

FORMULÁRIO DE COLETA DE DADOS - ESTUDO DA VACINA DE INFLUENZA EM TMO

Nº ordem: _____

IMUNIZAÇÃO PARA INFLUENZA	
49. Doador randomizado para vacina PRÉ TMO? 1) sim 2) não	_____
50. Doador vacinado no PRÉ TMO? 1) sim 2) não 9) IGN	_____
51. Data:	____/____/____
52. Lote:	____/____/____
53. Validade da vacina:	____/____/____
54. Receptor randomizado para vacina PRÉ TMO? 1) sim 2) não	_____
55. Receptor vacinado no PRÉ TMO? 1) sim 2) não 9) IGN	_____
56. Data:	____/____/____
57. Lote:	____/____/____
58. Validade da vacina:	____/____/____

59. Receptor vacinado \geq 60 dias PÓS TMO: 1) sim 2) não 8) NA 9) IGN	_____
60. Data:	____/____/____
61. Lote:	____/____/____
62. Validade da vacina:	____/____/____
SOROLOGIAS DE INFLUENZA	
Pré TMO - doador	_____
63. Data	____/____/____
64. Título:	____/____/____
Pré TMO - receptor	_____
65. Data:	____/____/____
66. Título:	____/____/____
D0 - DOADOR	_____
67. Data:	____/____/____
68. Título:	____/____/____
D0 - RECEPTOR	_____
69. Data:	____/____/____
70. Título:	____/____/____

D+30	_____
71. Data:	____/____/____
72. Título:	____/____/____
D +60	_____
73. Data:	____/____/____
74. Título:	____/____/____
D+100	_____
75. Data:	____/____/____
76. Título:	____/____/____
D +6 m	_____
77. Data:	____/____/____
78. Título:	____/____/____
D+12m	_____
79. Data:	____/____/____
80. Título:	____/____/____
Pós vacina > 6 m de TMO	_____
81. Data:	____/____/____
82. Título:	____/____/____

INFECÇÕES			
Ocorrência:	Nº episódios	Data 1º episódio	Data ultimo episódio
Sepsis/neutropenia febril Outra Inf. Bacteriana	157 162	____/____/____ ____/____/____	____/____/____ ____/____/____
Antigenemia - CMV (isolada) Doença - CMV Outra infecção viral	172 177 182	____/____/____ ____/____/____ ____/____/____	____/____/____ ____/____/____ ____/____/____
Candidemia/Candidíase invasiva Aspergiose invasiva Outra infecção fungica	187 192 197	____/____/____ ____/____/____ ____/____/____	____/____/____ ____/____/____ ____/____/____
Infecções parasitárias Outras Outras	202 207	____/____/____ ____/____/____	____/____/____ ____/____/____
			Desfecho 1) progressão 2) resolução 9) IGN
			160 165
			170 175 180
			185 190 195
			205 209

FORMULÁRIO DE COLETA DE DADOS - ESTUDO DA VACINA DE INFLUENZA EM TMO

No ordem: | | | | |

OUTRAS COMPLICAÇÕES NÃO INFECCIOSAS

1. sim _____
 2. não _____
 9. IGN _____

Data do diagnóstico

Desfecho:
 1) progressão _____
 2) resolução _____
 8) NA _____
 9) IGN _____

PNM intersticial _____
 SARA _____
 VOD _____
 Ciste hemorrágica _____
 Outra _____
 Outra _____

217 _____
 220 _____
 223 _____
 226 _____
 229 _____
 232 _____
 235 _____

GVHD CRÔNICO

236. Ocorrência de GVHD crônico:
 1. nenhum _____
 2. limitado _____
 3. extenso _____
 8) NA (óbito ou recidiva < D+100) _____
 9. IGN _____

237. Se limitado:
 1. pele _____
 2. fígado _____
 3. pele e fígado _____
 8. NA _____
 9. IGN _____

238. Se extenso:
 1) localizado pele _____
 2) pele generalizado _____
 4) disfunção hepática _____
 8) mucosa oral _____
 16) olho _____

32) outros 64) NA

239. Data do diagnóstico: | | | | |

240. Desfecho:
 1) resolução _____
 2) melhora _____
 3) estabilização _____
 4) progressão _____
 5) indefinido _____
 8) NA _____

EVOLUÇÃO

241. 1ª recidiva após transplante:
 1) sim _____
 2) não _____
 8) NA _____
 9) IGN _____

242. Data da primeira recidiva: | | | | |

243. Data início do trato da recidiva: | | | | |

244. Tipo de tratamento da recidiva:
 1) nenhum _____
 2) quimioterapia _____
 4) 2º transplante _____
 8) transfusão de linfócitos (DLI) _____
 16) IL2 _____
 32) IFN _____
 64) fração de CD34 negativa _____
 128) NA _____

Se 4) ou 64), especificar: | | | | |

245. No de células CD3+ (10⁷/kg) | | | | |

246. Último retorno: | | | | |

16. NA

247. Estado da doença no último retorno:
 1. curada _____
 2. recidivada _____
 8. NA _____
 9. IGN _____

248. Status de sobrevivida:
 1. vivo _____
 2. óbito _____
 8. NA _____
 9. IGN _____

249. Se óbito, qual a data? | | | | |

250. Causa do óbito:
 1) recidiva ou progressão da doença de base _____
 2) causa relacionada ao transplante _____
 4) neoplasia secundária _____
 8) desconhecida _____
 16) NA _____
 32) outras _____

251. Se causa relacionada ao transplante: | | | | |

1. GVHD agudo _____
 2. pneumonite intersticial _____
 3. doença vaso-oclusiva _____
 4. hemorragia _____
 5. infecção bacteriana _____
 6. infecção fungica _____
 7. infecção viral _____
 8. infecção parasitária _____
 9. infecção sem etiologia definida _____
 10. toxicidade cardíaca _____
 11. SARA _____
 12. câncer secundário _____
 13. desconhecida _____
 14. sem informação _____
 15. NA _____

DOENÇA RESPIRATORIA PÓS-TRANSPLANTE - CODIFICAÇÃO

- Tipo de síndrome respiratória: 1. IVAS 2) IVAS/1 3) IVAL/PMW
- Exame de imagem: 1) não realizado 2) RX 3) tomografia
- Padrão de imagem: 1. NA (não realizado) 2) consolidação 4) nódulo inespecífico 8) nódulo com sinal do halo 16) vidro fosco 32) derrame pleural 64) sinusite 128) outro _____
- Etiologia provável do quadro respiratório: 1) não especificada 2) bacteriana 4) fungo filamentosos 8) viral 16) p. carinii 32) outras _____
- Diagnóstico: 1) Confirmado 2) Possível 4) Provável 8) NA
- Se diagnóstico confirmado, método de confirmação: 1) NA 2) cultura 4) biópsia 8) antigenemia 16) biologia molecular 32) outro _____
- Resultado de vírus respiratório: 1) NA (não realizado LN) 2) negativo 4) influenza A 8) influenza B 16) outros _____
- Tratamento: 1) nenhum 2) antibiótico 4) antifúngico 8) antiviral 32) outros _____
- Desfecho: 1) Progressão 2) Resolução 9) IGN

Anexo K

ESTUDO DA IMUNOGENICIDADE DE ESQUEMAS ALTERNATIVOS DE VACINAÇÃO CONTRA INFLUENZA EM PACIENTES TRANSPLANTADOS DE CÉLULAS TRONCO HEMATOPOIÉTICAS

FICHA DE SEGUIMENTO AMBULATORIAL PÓS TMO

Centro Transplantador: () 1.HC/UFMG () 2.Fundação Amaral Carvalho/Jaú

PACIENTE: _____ RG: _____ DATA TRANSPLANTE: ____/____/____ CONSULTA: ____/____/____

1. Receptor teve ou está com algum sinal ou sintoma respiratório desde a ultima consulta? sim não não sabe
Se não, ir para o item 10 - Exame físico

2. Se sim, qual (quais)?

- cefaléia ou dor facial
- obstrução nasal
- coriza
- espirros
- tosse (seca ou produtiva)
- expectoração
- dor no peito
- chiado no peito
- dor de garganta
- febre
- outro _____ (especificar)

3. Qual a data de início dos sinais ou sintomas respiratórios? ____/____/____

4. Precizou de procurar atendimento médico antes dessa consulta? sim não não sabe não se aplica

5. Se sim, qual o diagnóstico:

- gripe ou IVAS
- sinusite
- pneumonia
- outro _____
- não sabe
- na aplica = não procurou medico

6. Foi receitada alguma medicação? sim não não sabe não se aplica

7. Se sim, qual medicamento: _____

8. Fez uso da medicação prescrita? sim não não sabe não se aplica

9. Qual a evolução do quadro? melhora piora estabilidade não sabe não se aplica

10. Exame físico: Fr = _____ AR= _____

11. Hipótese diagnóstica:

- Sem síndrome respiratória
- IVAS
- IVAI
- IVAS/IVAI
- Outras _____

12. Realizada de lavado nasal: sim não não sabe não se aplica

13. Conduta:

- ndn (Sem síndrome respiratória)
- Rx de tórax/seios da face
- ATB (especificar) _____
- Internação
- Outras (especificar) _____

8. Entrevistador: _____

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Tomblyn M, Chiller T, Einsele H, Gress R, Sepkowitz, Storec J, Wingard JR, Young JAH. Guidelines for prevention infectious complications among hematopoietic cell transplantation recipients: a global perspective. *Biol Blood Marrow Transplant.* 2009;15: 1143-1238.
2. Kim JK, Boeckh M, Englund JA. Community Respiratory Virus Infections in Immunocompromised Patients: Hematopoietic Stem Cell and Solid Organ Transplant Recipients, and Individuals with Human Immunodeficiency Virus Infection. *Sem Resp Crit Care Med.* 2007;28:222-242.
3. Ljungman P, Engelhard, D, de La Camara R, Einsele H, Locasciulli A, Martino R, Ribaud P, Ward K, Cordonnier C. Vaccination of stem cell transplant recipients: recommendations of the Infectious Disease Working Party of EBMT. *Bone Marrow Transplantation.* 2005; 35: 737-746.
4. Couch RB, Englund JA, Whimbey E. Respiratory viral infections in immunocompetent and immunocompromised persons. *Am J Med.* 1997;102:2-9
5. Veys P, Owens C. Respiratory infections following haemopoietic stem cell transplantation in children. *Brit Med Bull.* 2002; 61, 151-174.
6. Bodey GP, Community respiratory viral infections in the immunocompromised host: past, present and future directions. *Am J Med,* 1997; 102:77-80.
7. Boeckh M. The challenge of respiratory virus infections in hematopoietic transplant recipients. *Br J Haematol,* 2008; 1434: 455-467.
8. Hicks KL, Chemaly RF, Kontoyiannis DP. Common community respiratory viruses in patients with cancer. *Cancer.* 97: 2003: 2576-87
9. Ison, MG. Respiratory viral infections in transplant recipients. *Antiviral Theray.* 2007;12: 267-638.
10. Kumar, D, Humar A. Respiratory viral infections in transplant and oncology patients. *Infect. Dis Clin N Am.* 2010;24:395-412.
11. Lee I, Barton TD. Respiratory infections in transplant patients. *Drugs.* 2007; 67: 1411-1427.
12. Ljungman P, Ward KN, Crooks BNA, Parker A, Martino R, Shaw PJ, Brune M, De La Camara R, Dekker A, Pusksen K, Russel N, Schwarzer AP, Cordonnier C. Respiratory virus infections after stem cell

- transplantation: a prospective study from The Infectious Disease Working Party of the European Group for Blood and Marrow transplantation. *Bone Marrow Transplant.* 2001; 28: 479-484.
13. Raboni S, Nogueira MB, Tsuchiya LRV, Takahashi G, Pereira LA, Paquini R, Siqueira MM. Respiratory tract viral infections in bone marrow transplant patients. *Transplantation.* 2003; 76: 142-146.
 14. Englund JA. Diagnosis and epidemiology of community-acquired respiratory virus infections in the immunocompromised host. *Biology of Blood Marrow Transplant.* 2001;7: 2S-4S.
 15. Machado CM. Reimmunization after hematopoietic stem cell transplantation. *Expert Rev. Vaccines.* 2005; 4: 219-228.
 16. Molrine DC, Guinan EV, Antin JH, Parsons SK, Weistein HJ, Wheeler C, McGarigle C, Blanding P, Phillips NR, Kinsella K, Denas K, Ciamarra A, Goorin A, George S, Ambrosino DM. Donor immunization with Haemophilus influenzae type b (HiB) – conjugate vaccine in allogeneic bone marrow transplantation. *Blood.* 1996; 87: 3012-3018. Ambrosino DM
 17. Molrine DC, Antin JH, Guinan EV, Soiffer RJ, MacDonald K, Malley R, Milson M, Ambrosino DM. Donor immunization with pneumococcal conjugate vaccine and early protective antibody responses following allogeneic hematopoietic cell transplantation. *Blood.* 2003; 831 – 836.
 18. Ljungman P, Avetisyan G. Influenza vaccination in hematopoietic SCT recipients. *Bone Marrow Transplantation.* 2008;42: 637-641.
 19. Kumar D, Humar, D. Pandemic influenza and its implications for transplantation. *Am J. Transplant.* 2006;7:1512-1517.
 20. Hibbert P. Seasonal influenza vaccination in adults.[Internet] 2010 Sept 19. Available from http://www.uptodate.com/online/content/topicdo?topicKey=pulm_inf/17544&view
 21. Chemaly RF, Ghosh S, Bodey GP, Rohatgi N, Safdar A, Keating MJ, Chaplin RE, Aguilera JJ. Respiratory virus infections in adults with hematologic malignancies and human stem cell transplantation recipients: a retrospective study at a major cancer center. *Medicine,* 2006;85:278-287.
 22. Ison MG. Human Immunodeficiency Virus Infection. *Sem. Resp Crit Care Med.* 2007;28: 222-242

23. Vilchez RA, Fung J, Kusne S. The pathogenesis and management of influenza virus infection in organ transplant recipients. *Transplant Infectious Disease*. 2002; 4: 177-182,
24. Nichols WG, Gutherie KA, Corey L, Boeckh. Influenza infections after hematopoietic stem cell transplantation: risk factors, mortality, and the effect of antiviral therapy. *Clin Infect Dis*. 2004; v. 39, p. 1300-1306.
25. Ljungman P, Gleaves CA, Meyers JD. Respiratory virus in immunocompromised patients. *Bone Marrow Transplantation*. 1989;4: 35-40.
26. Whimbey, E, Champlin RE, Couch RB, Englund JA, Goodrich JM, Raad I, Przepiorka D, Lewis VA, Mirza N, Youssuf H, Tarrand JJ, Bodey GP. Community respiratory virus infections among hospitalized adult bone marrow transplant recipients. *Clin Infect Dis*. 1996; 22:778-782.
27. Roghmann M, Ball K, Erdmann D, Lovchik J, Anderson LJ, Edelman. Active surveillance for respiratory virus infections in adults who have undergone bone marrow and peripheral blood stem cell transplantation. *Bone Marrow Transplantation*. 2003; 32: 1085-1088.
28. Ljungman P. Respiratory virus infections in bone marrow transplant recipients: The European experience. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2001; 7: 5S-7S.
29. Machado, CM, Villas Boas LS, Mendes AVA, Santos MFM, da Rocha IF, Sturaro D, Dulley FL. Low mortality rates related to respiratory infections after bone marrow transplantation. *Bone Marrow Transplantation*. 2003; 31:695-700.
30. Bowden RA. Respiratory virus infections in bone marrow transplant: the Fred Hutchinson Cancer Research Center experience. *Am J Med*, 1997;102: 27-30.
31. Machado CM, Cardoso RRA, da Rocha IF, Villas Boas LS, Pannuti, CS. The benefit of influenza vaccination after bone marrow transplantation. *Bone Marrow Transplantation*. 2005;36:897-900.
32. Franquet T, Rodriguez S, Martino R, Giménez A, Salina T, Hidalgo A. Thin-section CT findings in hematopoietic stem cell transplantation recipients with respiratory virus pneumonia. *AJR*. 2006;187:1085-1090.
33. Ascha J, Ringdén O, Ljungman P, Andersson J, Lewensohn-Fuchs, Fosgren M. Influenza B in transplant patients. *Scand J Infect Dis*, 1989; 21:349-350.

34. Engelhard D, Nagler A, Hardna I, Morag A, Aker M, Baciú H, Stauss N, Parag G, Naparstek E, Ravid Z, Or R, Slavin S, Zakay-Rones Z. Antibody response to a two-dose regimen of influenza vaccine in allogeneic T cell-depleted and autologous BMT recipients. *Bone Marrow Transplantation*. 1993; 11:1-5.
35. Pausken K, Linde A, Hammarström V, Cranescog J, Jonsson G, Oberg G, Englemann H, Ljungman P. Granulocyte-macrophage colony-stimulating factor as immunomodulating factor together with influenza vaccination in stem cell transplant patients. *Clin Infect Dis*. 2000; 30: 342 – 8.
36. Gandhi MK, Egnér W, Sizer L, Inman I, Zambon M, Craig J, Marcus RE. Antibody responses to vaccination given within the first two years after transplant are similar between autologous peripheral blood stem cell and bone marrow transplant recipients. *Bone Marrow Transplantation*. 2001; 28: 775-781.
37. Haining NW, Evans JW, Seth NP, Callaway GD, Evans JW, Wucherpfening K, Nadler LM, Guinan EC. Measuring T cell immunity to influenza vaccination in children after haemopoietic stem cell transplantation. *British J Haematology*, 2004. 127: 322-325.
38. Avestisyan G, Aschan J, Hassan M, Ljungman P. Evaluation of immune responses to seasonal influenza vaccination in healthy volunteers and in patients after stem cell transplantation. *Transplantation*. 2008; 86: 257-263
39. Lausen BF, Hougs L, Schejbel L, Heilmann C, Barington T. Human memory B cells transferred by allogeneic bone marrow transplantation contribute significantly to antibody repertoire of the recipient. *J Immunol*. 2004; 172: 3305 – 3318.
40. Mazza JJ, Yale SH, Arrowood JR, Reynolds CR, Glurich I, Po-Huang C, Linneman JG, Reed KD. Efficacy of the influenza vaccine in patients with malignant lymphoma. *Clin Med Res*. 2005; 3: 214 – 220.
41. Mazzone PJ, Mossad SB, Mawhorter SD, Mehta AC, Schiz JR. The humoral immune response to influenza vaccination in lung transplant patients. *Eur Resp J*. 2001; 18: 971- 976.
42. van der Velden AMT, Mulder AHL, Hartkamp A, Diepersloot RJA, Velzen-Blad, Biesma DH. Influenza vaccination and booster in B – cell chronic lymphocytic leukemia patients. *Eur J Intern Med*. 2001; 21: 420-424.

43. Avestisyan G, Ragnavölgyi E, Toth GT, Hussan M, Ljungman P. Cell-mediated immune responses to influenza vaccination in healthy volunteers and allogeneic stem cell transplant recipients: *Bone Marrow Transplantation*. 2005; 36: 411- 415.
44. Saxon A, Mitsuyasu R, Stevens R, Chaplin RE, Kimata H, Gale RP. Designed transfer of specific immune responses with bone marrow transplantation. *J. Clin. Invest.* 1986;78, 959-967.
45. Wahren B, Gahrton G, Linde A, Ljungman P, Lönnqvist B, Ringden O, Sundqvist V. Transfer and persistence of viral antibody-producing cells in bone marrow transplantation. *Journal Infect Dis.* 1984; 150: 358-365.
46. Kurmar D, Chen MH, Wesh B et al. A randomized, double-blind trial of pneumococcal vaccination in adult allogeneic stem cell transplant donors and recipients. *Clin Infect Dis*, 2007;45: 1572-82.
47. Robertson JD, Nagesh K, Jowitt SN, Dougal M, Anderson H, Mutton K, Zambon M, Scarffe JH. Immunogenicity of vaccination against influenza, *Streptococcus pneumoniae* and *Haemophilus influenzae* type B in patients with multiple myeloma. *BR. J Cancer* . 2000; 82:1261-1265.
48. Lo W, Whimbey E, Elting L, Couch R, Cabanillas F, Bodey G. Antibody response to a two-dose influenza vaccine in adult lymphoma patients on chemotherapy. *Eur J. Clin Microbiol Infect Dis*. 1993; 12: 778-782.
49. Ljungman P, Nahi H, Linde A. Vaccination of patients with haematological malignancies with one or two doses of influenza vaccine: a randomized study. *Brit J Haematol*, 2005; 130:96-98.
50. Treanor JJ. Influenza virus. In: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R. Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Disease. 6th edition. Philadelphia: Elsevier, Churchill Livingstone, 2005. Chap 162, p. 2060-2085.
51. Gueller S, Allwinn R, Musset S, Martin H, Wieters I, Hermann E, Serve H, Bickel M, Bug G. Enhanced immune response after a second dose of an AS03- Adjuvant H1N1 influenza A vaccine in patients after hematopoietic stem cell transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2011; 1-5.
52. Engelhard D, Zakay-Rones A, Shapira MY, Renick I, Averbuch D, Grisariu S, Dray L, Djian E, Strauss-Liviatan, Grotto I, Wolf DG, Reuven Or. The humoral response of hematopoietic stem cell transplantation recipients to AS03 – adjuvanted AS03/California/7/2009 (H1N1) v –like virus vaccine during the 2009 pandemic. *Vaccine*, 2011; 29:1777-1782