UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO
CENTRO DE CIÊNCIAS EM SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM DOENÇAS INFECCIOSAS

JESIREE IGLÉSIAS QUADROS DISTENHREFT

SEGURANÇA E IMUNOGENICIDADE DA VACINAÇÃO CONTRA A FEBRE AMARELA EM PACIENTES COM DOENÇA RENAL CRÔNICA DIALÍTICA

VITÓRIA

2022

JESIREE IGLÉSIAS QUADROS DISTENHREFT

SEGURANÇA E IMUNOGENICIDADE DA VACINAÇÃO CONTRA A FEBRE AMARELA EM PACIENTES COM DOENÇA RENAL CRÔNICA DIALÍTICA

Dissertação apresentada ao Programa de Pós–Graduação em Doenças Infecciosas da Universidade Federal do Espírito Santo como parte dos requisito parcial para conclusão do Mestrado em Doenças Infecciosas.
Orientador: Prof. Dr. Aloísio Falqueto
Co-orientadora: Dra. Dinair Couto Lima
Colaborador: Dr. Weverton Machado Luchi

VITÓRIA

2022

Ficha catalográfica disponibilizada pelo Sistema Integrado de
Bibliotecas - SIBI/UFES e elaborada pelo autor

Distenhreft, Jesiree Iglésias Quadros, 1989-
D614s Segurança e imunogenicidade da vacinação contra a febre amarela em pacientes com doença renal crônica dialítica / Jesiree Iglésias Quadros Distenhreft. - 2022.
99 f. : il.

Orientador: Falqueto Aloísio.
Coorientadora: Dinair Dinair.
Dissertação (Mestrado em Doenças Infecciosas) - Universidade Federal do Espírito Santo, Centro de Ciências da Saúde.

1. Vacina contra febre amarela. 2. Segurança. 3. Imunização. 4. Resposta de anticorpos. 5. Doença renal crônica. 6. Testes de neutralização. I. Aloísio, Falqueto. II. Dinair, Dinair. III. Universidade Federal do Espírito Santo. Centro de Ciências da Saúde. IV. Título.

CDU: 61

UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO
Centro de Ciências da Saúde
Programa de Pós-Graduação em Doenças Infecciosas

Ata da sessão de defesa de Dissertação do Programa de Pós-Graduação em Doenças Infecciosas (PPGDI) do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal do Espírito Santo, da discente Jesiree Iglésias Quadros Distenhreft, candidato(a) ao título de Mestre(a) em Doenças Infecciosas, realizada às 14:30h do dia quatorze de março do ano dois mil e vinte e dois, por meio de webconferência. O presidente da Banca, Prof. Dr. Aloísio Falqueto apresentou os demais membros da comissão examinadora, constituídos pelos Professores Doutores, Lauro Monteiro Vasconcellos Filho (UFES), Crispim Cerutti Junior (UFES). Em seguida, cedeu a palavra ao candidato que em __50 (cinquenta)____ minutos apresentou sua dissertação intitulada "Segurança e imunogenicidade da vacinação contra a febre amarela em pacientes com doença renal crônica dialítica". Terminada a apresentação da estudante, o presidente retomou a palavra e a cedeu aos membros da Comissão Examinadora, um a um, para procederem à arguição. O presidente convidou a Comissão Examinadora a se reunir em separado para deliberação. Ao final, a Comissão Examinadora retornou e o presidente informou aos presentes que a dissertação havia sido _aprovada_ (aprovada/reprovada) e que o(a) estudante deve providenciar dentro do período de um mês a versão final. O Presidente, então, deu por encerrada a sessão, e eu, Perlyson Pires de Carvalho, Secretário do Programa de Pós-Graduação em Doenças Infecciosas, lavrei a presente ata, que é assinada pelos membros da Comissão Examinadora. Vitória, 14 de março de 2022.

Prof. Dr. Aloísio Falqueto
Universidade Federal do Espírito Santo – Orientador

Dra. Dinair Couto Lima
Fundação Oswaldo Cruz – Coorientadora

Dr. Lauro Monteiro Vasconcellos Filho
Universidade Federal do Espírito Santo – Titular Externo

Prof. Dr. Crispim Cerutti Junior
Universidade Federal do Espírito Santo – Titular Interno

Jesiree Iglésias Quadros Distenhreft
Discente

Vitória, 14 de março de 2022.

Este documento foi assinado digitalmente por LAURO MONTEIRO VASCONCELLOS FILHO
Para verificar o original visite: https://api.lepisma.ufes.br/arquivos-assinados/378844?tipoArquivo=O

UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO
Centro de Ciências da Saúde
Programa de Pós-Graduação em Doenças Infecciosas

PARECER ÚNICO DA COMISSÃO JULGADORA DE DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

O(a) mestrando(a) Jesiree Iglésias Quadros Distenhreft apresentou a dissertação intitulada "Segurança e imunogenicidade da vacinação contra a febre amarela em pacientes com doença renal crônica dialítica" em sessão pública, como requisito final para obtenção do título de Mestre em Doenças Infecciosas do Programa de Pós-Graduação em Doenças Infecciosas do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal do Espírito Santo.

Considerando a apresentação oral dos resultados, sua qualidade e relevância, a Comissão Examinadora decidiu (X) aprovar ( ) reprovar a dissertação habilitando Jesiree Iglésias Quadros Distenhreft a obter o Grau de Mestre(a) em Doenças Infecciosas.

Vitória, 14 de março de 2022.

Prof. Dr. Aloísio Falqueto
Universidade Federal do Espírito Santo – Orientador

Dra. Dinair Couto Lima
Fundação Oswaldo Cruz – Coorientadora

Dr. Lauro Monteiro Vasconcellos Filho
Universidade Federal do Espírito Santo – Titular Externo

Prof. Dr. Crispim Cerutti Junior
Universidade Federal do Espírito Santo – Titular Interno

Este documento foi assinado digitalmente por LAURO MONTEIRO VASCONCELLOS FILHO
Para verificar o original visite: https://api.lepisma.ufes.br/arquivos-assinados/378844?tipoArquivo=O

UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO
Centro de Ciências da Saúde
Programa de Pós-Graduação em Doenças Infecciosas
REGISTRO DE JULGAMENTO DA DISSERTAÇÃO DO CANDIDATO AO GRAU DE MESTRE PELO PPGDI/UFES.

A Comissão Examinadora da Dissertação de Mestrado intitulada "Segurança e imunogenicidade da vacinação contra a febre amarela em pacientes com doença renal crônica dialítica" elaborada por Jesiree Iglésias Quadros Distenhreft, candidato(a) ao Grau de Mestre em Doenças Infecciosas, recomendou, após apresentação da Dissertação, realizada no dia 14 de março de 2022, que ela seja (assinale um dos itens abaixo):

(X) Aprovada

( ) Reprovada

Os membros da Comissão deverão indicar a natureza de sua decisão através de sua assinatura na coluna apropriada que segue:

Aprovada	Reprovada
---	---
---	---
---	---

Este documento foi assinado digitalmente por [illegible]NCELLOS FILHO
Para verificar o original visite: https://api.lepisma.ufes.br/arquivos-assinados/[illegible]?tipoArquivo=O

UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO
Centro de Ciências da Saúde
Programa de Pós-Graduação em Doenças Infecciosas

--- ---

--- ---

--- ---

Prof. Dr. Aloísio Falqueto
Universidade Federal do Espírito Santo – Orientador

Dra. Dinair Couto Lima
Fundação Oswaldo Cruz – Coorientadora

Dr. Lauro Monteiro Vasconcellos Filho
Universidade Federal do Espírito Santo – Titular Externo

Prof. Dr. Crispim Cerutti Junior
Universidade Federal do Espírito Santo – Titular Interno

Centro de Ciências da Saúde – Av. Marechal Campos, 1468 - Bonfim, Vitória - ES | CEP 29047-105 Tel: (27) 3335-7504 │
www.doencasinfecciosas.ufes.br │ ppgdi.ufes@gmail.com

Este documento foi assinado digitalmente por LAURO MONTEIRO VASCONCELLOS FILHO
Para verificar o original visite: https://api.lepisma.ufes.br/arquivos-assinados/388816?tipoArquivo=O

UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO

PROTOCOLO DE ASSINATURA

O documento acima foi assinado digitalmente com senha eletrônica através do Protocolo Web, conforme Portaria UFES nº 1.269 de 30/08/2018, por
LAURO MONTEIRO VASCONCELLOS FILHO - SIAPE 99991484
Chefia da Unidade de Nefrologia
Unidade de Nefrologia - UNEF/STPC/DMED/GAS/SUP/HU
Em 15/03/2022 às 11:40

Para verificar as assinaturas e visualizar o documento original acesse o link:
https://api.lepisma.ufes.br/arquivos-assinados/378211?tipoArquivo=O

Este documento foi assinado digitalmente por LAURO MONTEIRO VASCONCELLOS FILHO
Para verificar o original visite: https://api.lepisma.ufes.br/arquivos-assinados/378211?tipoArquivo=O

UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO

PROTOCOLO DE ASSINATURA

O documento acima foi assinado digitalmente com senha eletrônica através do Protocolo Web, conforme Portaria UFES nº 1.269 de 30/08/2018, por
ALOISIO FALQUETO - SIAPE 295317
Departamento de Medicina Social - DMS/CCS
Em 17/03/2022 às 14:39

Para verificar as assinaturas e visualizar o documento original acesse o link:
https://api.lepisma.ufes.br/arquivos-assinados/380440?tipoArquivo=O

Este documento foi assinado digitalmente por ALOISIO FALQUETO JUNIOR
Para verificar o original visite: https://api.lepisma.ufes.br/arquivos-assinados/380440?tipoArquivo=O

UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO

PROTOCOLO DE ASSINATURA

O documento acima foi assinado digitalmente com senha eletrônica através do Protocolo Web, conforme Portaria UFES nº 1.269 de 30/08/2018, por
CRISPIM CERUTTI JUNIOR - SIAPE 1312483
Departamento de Medicina Social - DMS/CCS
Em 17/03/2022 às 22:40

Para verificar as assinaturas e visualizar o documento original acesse o link:
https://api.lepisma.ufes.br/arquivos-assinados/380844?tipoArquivo=O

Este documento foi assinado digitalmente por CRISPIM CERUTTI JUNIOR
Para verificar o original visite: https://api.lepisma.ufes.br/arquivos-assinados/380844?tipoArquivo=O

Este trabalho foi realizado no Laboratório de Mosquitos Transmissores de Hematozoários (LATHEMA) do Instituto Oswaldo Cruz, Fundação Oswaldo Cruz, e no Hospital Universitário Cassiano Antônio de Moraes (HUCAM), Universidade Federal do Espírito Santo.

AGRADECIMENTO

A Deus, toda a minha gratidão pela vida, pelo privilégio de cuidar de pessoas e de contribuir para avanços neste cuidado.

Ao meu amado Wender, pela parceria e pelo incentivo incondicionais.

À minha mãe Débora pela inspiração de trilhar o caminho do ensino, e ao meu pai por me inspirar a sonhar.

Aos que me orientaram neste estudo, Dra. Dinair e Professor Falqueto pela dedicação e paciência com minhas dúvidas. Agradeço também a Luciana Stanzani por intermediar meu contato com a Dra. Dinair na Fiocruz.

Ao mestre e amigo Weverton, por me incentivar a prosseguir avançando cada vez mais na Nefrologia.

Aos que contribuíram para este estudo: Juliana Carrera, Ligiany Bastos, Lucas Marques, Pollyanna Soares, Rodrigo Mazzini e, em especial, às queridas pesquisadoras da Fiocruz Flávia Chalhoub e Cecília Andreazzi.

RESUMO

A resposta imune e a segurança da vacina contra a febre amarela em renais crônicos dialíticos não são conhecidas. A imunossupressão característica da doença renal crônica poderia aumentar o risco de eventos adversos graves, não havendo uma recomendação específica quanto à segurança desta vacina em renais crônicos. O surto de febre amarela silvestre no Espírito Santo em 2017, na ocasião área indene, levou à necessidade de vacinação de uma população desprotegida. Indivíduos com doença renal crônica foram vacinados com base na decisão compartilhada do médico com o paciente. É conhecido que, para outras vacinas, esta população apresenta menores taxas de soroconversão, pico mais baixo de títulos de anticorpos e rápido declínio dos títulos comparado com indivíduos saudáveis. O objetivo deste estudo foi avaliar a segurança e a imunogenicidade da vacina contra a febre amarela em renais crônicos dialíticos. Foi realizado um estudo transversal, com 223 pacientes crônicos em terapia dialítica, estando 211 pacientes (94,62%) em hemodiálise e 12 pacientes (5,38%) em diálise peritoneal, com mediana de tempo de terapia dialítica de 4,5 e 7 anos, respectivamente. Apenas 11 pacientes foram vacinados antes de 2017. Os demais foram vacinados ao longo dos anos 2017 e 2018. Do total de 223 pacientes entrevistados, 205 (91,93%) não apresentaram quaisquer eventos adversos após a vacinação. As manifestações locais, tais como dor e edema, ocorreram em 13 pacientes (5,83%), enquanto que 6 pacientes (2,7%) apresentaram manifestações sistêmicas gerais (tais como febre e cefaleia). Um paciente teve ambas as manifestações. Nenhum indivíduo apresentou evento adverso grave atribuível à vacina contra a febre amarela (reação de hipersensibilidade, doença neurológica aguda e doença viscerotrópica). Raça parda foi o único fator de risco para a ocorrência de eventos adversos. Foi realizado teste de neutralização por redução de placas de lise para avaliar a soroconversão. Um título de neutralização ≥1:20 foi considerado adequado e protetor. A soroconversão foi avaliada cerca de 35 meses após a vacinação em 71 pacientes. Destes, apenas 27 pacientes (38%) apresentaram título de neutralização adequado. Nenhuma característica clínica foi considerada como preditor para soroconversão. Este estudo sugere que a vacina contra a febre amarela seja segura em renais crônicos dialíticos. A vacina, no entanto, confere taxa de soroconversão muito abaixo do esperado para a população geral. Este estudo não pode predizer qual seria a dose ideal ou o número de doses que devem ser aplicadas para

manter níveis adequados de anticorpos antes que o renal crônico seja submetido a um transplante renal.

Palavras-chave: Vacina contra febre amarela, Segurança, Imunização, Resposta de anticorpos, Doença renal crônica, Testes de neutralização.

ABSTRACT

The immune response and safety of the yellow fever vaccine in chronic kidney disease patients are not known. The immunosuppression characteristic of chronic kidney disease could increase the risk of serious adverse events, in a scenario of no specific recommendation regarding the safety of this vaccine in chronic kidney disease. The outbreak of wild yellow fever in Espírito Santo in 2017, at the time an unprotected area, led to the need for vaccination of an unprotected population. Individuals with chronic kidney disease were vaccinated based on the physician's shared decision with the patient. It is known that, for other vaccines, this population has lower seroconversion rates, lower peak antibody titers, and rapid decline in titers compared to healthy subjects. The aim of this study was to evaluate the safety and immunogenicity of the yellow fever vaccine in chronic kidney disease patients. A cross-sectional study was carried out with 223 chronic patients on dialysis, with 211 patients (94.62%) on hemodialysis and 12 patients (5.38%) in peritoneal dialysis, with a median time of dialysis therapy of 4.5 and 7 years, respectively. Only 11 patientes received the vaccine before 2017, the others being vaccinated during the years 2017 and 2018. From 223 patients interviewed, 205 (91.93%) did not experience any adverse events after vaccination. Local manifestations such as pain and swelling occurred in 13 patients (5.83%), while 6 patients (2.7%) had general systemic manifestations (such as fever and headache). One patient had both manifestations. Severe adverse events attributable to the yellow fever vaccine were not observed. Brown race was the only risk factor for the occurrence of adverse events. A lysis-plaque-reduction neutralization test was performed to assess seroconversion. A neutralization titer of ≥1:20 was considered adequate and protective. Seroconversion was evaluated approximately 35 months after vaccination in 71 patients. Of these, only 27 patients (38%) had sufficient neutralization titer. No clinical feature was considered a predictor for seroconversion. This study suggests that the yellow fever vaccine is safe in chronic kidney disease patients. The vaccine, however, confers a seroconversion rate much lower than expected for the general population. This study cannot predict the ideal dose and/or the number of doses that should be given to maintain adequate antibody levels before the chronic kidney patient undergoes a kidney transplant.

Keywords: Yellow fever vaccine, Safety, Immunization, Antibody response, Chronic kidney disease, Neutralization test.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Países sob risco de febre amarela e áreas com recomendação de vacinação contra febre amarela. Modificado de Sacchetto e colaboradores, 2020 24
Figura 2. Áreas endêmicas da Febre Amarela no Brasil ao longo dos anos. 29
Figura 3. Distribuição dos municípios segundo a recomendação de vacinação para prevenção da febre amarela, Brasil, 2017 29
Figura 4. Distribuição dos municípios segundo a recomendação de vacinação para prevenção da febre amarela, Brasil, 2018 30
Figura 5. Histórico de passagens da cepa viral Asibi para obtenção da cepa vacinal 17D. Figura modificada de Monath 2008 36
Figura 6. Desenho ilustrativo da placa de 96 poços para a realização de diluição das amostras de 1:10, para realização do *screening.* As colunas de 1 a 4 e 6 a 10 foram destinadas os soros amostrais (12ul soro+48ul meio 199 1x) e as colunas 5 e 11 ao controle viral (vírus 60 ul). 48
Figura 7. Desenho ilustrativo da placa de 24 poços para a realização do screening das amostras de 1 a 71 dos soros para neutralização ≥ 10, onde foram colocados 100ul de cada amostra da diluição da placa de 96 poços. Uma segunda placa de 24 poços foi incubada, apenas com o controle viral para a validação do teste 49
Figura 8. Modelo de análise de correspondência múltipla para avaliar variáveis mais representativas na amostra de 223 indivíduos renais crônicos dialíticos avaliados quanto à segurança da vacina contra febre amarela 56
Figura 9. Representação dos indivíduos renais crônicos dialíticos avaliados quanto à segurança da vacina contra febre amarela no modelo de anális de correspondência múltipla. Em azul estão evidenciados os indivíduos sem eventos adversos, e em amarelo os indivíduos sem eventos adversos 57
Figura 10. Modelo de análise de correspondência múltipla reduzida para avaliar variáveis mais representativas na amostra de 223 indivíduos renais

crônicos dialíticos avaliados quanto à segurança da vacina contra febre amarela..... 58
Figura 11. Representação dos indivíduos renais crônicos dialíticos avaliados quanto à segurança da vacina contra febre amarela no modelo de anális de correspondência múltipla reduzida. Em azul estão evidenciados os indivíduos sem eventos adversos, e em amarelo os indivíduos com eventos adversos.....59
Figura 12. Modelo de análise de correspondência múltipla para avaliar variáveis mais representativas na amostra de 71 indivíduos renais crônicos dialíticos avaliados quanto à soronversão da vacina contra febre amarela 64
Figura 13. Representação dos indivíduos renais crônicos dialíticos avaliados quanto a soroconversão da vacina contra febre amarela no modelo de anális de correspondência múltipla. Em azul estão evidenciados os indivíduos sem soroconversão, e em amarelo os indivíduos com soroconversão 65
Figura 14. Gráficos de efeito de variáveis explicativas após ajuste com Modelo Linear Generalizado para estimar o efeito individual de cada variável para soroconversão adequada.....67
Figura 15. Gráficos de efeito de variáveis explicativas após ajuste com Modelo Linear Generalizado para estimar o efeito das variáveis idade e tempo de terapia dialítica para soroconversão adequada.....68

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Mutações comuns às subcepas atenuadas 17D-204 e 17DD comparadas à cepa Asibi (Monath et al, 2008)..... 37
Tabela 2. Eventos adversos pós-vacinação contra febre amarela..... 43
Tabela 3. Características dos 223 indivíduos renais crônicos dialíticos avaliados quanto à segurança da vacinação contra febre amarela..... 54
Tabela 4. Fatores para predição de eventos adversos pós-vacinação contra febre amarela em pacientes renais crônicos dialíticos. 55
Tabela 5. Características dos 71 indivíduos renais crônicos dialítivos avaliados quanto a soroconversão após vacinação contra febre amarela..... 63
Tabela 6. Análise multivariada por meio de regressão logística múltipla 66

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1. Número anual de casos de febre amarela no mundo e a cobertura vacinal, entre 1980 e 2015. Fonte: Organização Mundial de Saúde, 2016..... 25

Gráfico 2. Distribuição de indivíduos renais crônicos dialíticos avaliados quanto à segurança da vacina conforme idade..... 53

Gráfico 3. Distribuição de indivíduos renais crônicos dialíticos avaliados quanto à segurança da vacina conforme tempo de diálise..... 53

Gráfico 4. Distribuição de indivíduos renais crônicos dialíticos avaliados quanto à soroconversão conforme a idade..... 61

Gráfico 5. Distribuição de indivíduos renais crônicos dialíticos avaliados quanto à soroconversão conforme tempo de terapia dialítica.... 62

Gráfico 6. Comparação entre soroconversão e tempo de vacinação médio na ocasião da realização do teste de neutralização..... 62

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AST	Aspartato Aminotransferase
CMC	Carboximetilcelulose
DM	Diabetes mellitus
DNA	Doença neurológica aguda
DRC	Doença renal crônica
DVA	Doença viscerotrópica aguda
EAPV	Eventos adversos pós-vacinação
EAG	Eventos adversos graves
EDTA	Ethylenediamine tetraacetic acid
ES	Espírito Santo
FA	Febre amarela
HAS	Hipertensão arterial sistêmica
HIV	Vírus da Imunodeficiência Humana
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
IC	Intervalo de confiança
INF-α	Interferon-α
LATHEMA	Laboratório de Mosquitos Transmissores de Hematozoários
LNI	Índice de neutralizaçao de Log10
MG	Minas Gerais
MS	Ministério da Saúde
TN	Título de neutralização
OMS	Organização Mundial de Saúde
PRNT	Teste de neutralização de redução de placas de lise
RDC	Resolução de Diretoria Colegiada
RNA	Ácido ribonucleico
RJ	Rio de Janeiro
SBN	Sociedade Brasileira de Nefrologia
SESA-ES	Secretaria de Saúde do Estado do Espírito Santo
VFA	Vacina contra a febre amarela
YFV	Vírus da febre amarela

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO 23

1.1 ASPECTOS GERAIS DA FEBRE AMARELA 23

1.2 A FEBRE AMARELA NO BRASIL 26

1.3 A FEBRE AMARELA NO ESPÍRITO SANTO 28

1.4 O AGENTE ETIOLÓGICO 30

1.5 IMPORTÂNCIA DA VACINAÇÃO CONTRA A FEBRE AMARELA 31

1.6 EVENTOS ADVERSOS PÓS-VACINAÇÃO E CONTRA-INDICAÇÃO À VACINAÇÃO 32

1.7 IMUNIZAÇÃO EM PACIENTES COM DOENÇA RENAL CRÔNICA DIALÍTICA 33

1.8 TESTE DE NEUTRALIZAÇÃO 34

1.8.1 VÍRUS UTILIZADOS NO PRNT 35

1.8.1.1 SUBCEPA VACINAL 17DD 35

1.8.1.2 CEPA SELVAGEM IEC-4408 (YFV-4408) 37

1.8.1.3 CEPA SELVAGEM ES-504 38

2. OBJETIVOS. 40

3. MÉTODOS. 41

3.1 QUESTIONÁRIO 41

3.2 TESTE DA IMUNOGENICIDADE 43

3.2.1 VÍRUS 44

3.2.2 SOLUÇÕES E REAGENTES 44

3.2.3 CÉLULAS VERO 47

3.2.4 TRIAGEM DAS AMOSTRAS (PLACA DE 24 POÇOS) 47

3.3 ANÁLISE DOS DADOS 49

4. RESULTADOS 51

4.1 AVALIAÇÃO DOS EVENTOS ADVERSOS PÓS-VACINAÇÃO 51

4.2 PRNT 60

5. DISCUSSÃO 69

5.1 SEGURANÇA DA VACINA CONTRA A FEBRE AMARELA EM ESTADO DE IMUNOSSUPRESSÃO 69

SUMÁRIO

5.2 IMUNOGENICIDADE DA VACINA CONTRA A FEBRE AMARELA 72
5.3 DISFUNÇÃO IMUNE NA DOENÇA RENAL CRÔNICA 75
5.4 LIMITAÇÕES DO ESTUDO 76
5.5 PERSPECTIVAS 77
6. CONCLUSÃO 79
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS 80
8. ANEXOS 89
8.1 TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO (TCLE) 89
8.2 QUESTIONÁRIO 92
8.3 CRITÉRIOS ESPECÍFICOS PARA A CLASSIFICAÇÃO DA DOENÇA NEUROLÓGICA AGUDA ASSOCIADA À VACINA CONTRA A FEBRE AMARELA (DNA/VFA). 95
8.4 CRITÉRIOS ESPECÍFICOS PARA A CLASSIFICAÇÃO DA DOENÇA VISCEROTRÓPICA AGUDA ASSOCIADA À VACINA CONTRA A FEBRE AMARELA (DVA/VFA) 8

1. INTRODUÇÃO

Em dezembro de 2016 iniciou-se em Minas Gerais (MG) um surto de febre amarela silvestre, que se espalhou pelo Espírito Santo (ES) e por outros estados litorâneos. Por não ser área endêmica, o ES não era área de recomendação de vacinação contra a febre amarela, portanto, tinha a população desprotegida. Com a ameaça de transmissão urbana da febre amarela, rapidamente iniciou-se a vacinação da população conforme as recomendações preconizadas pelo Ministério da Saúde (MS).

A vacina contra a febre amarela (VFA) é contra-indicada em pacientes em uso de drogas imunossupressoras, transplantados de órgãos, gestantes, crianças com menos de seis meses, pessoas com doenças do timo e portadores de HIV (Vírus da Imunodeficiência Humana) com linfócitos T CD4 abaixo de 200. Já pacientes com doença renal crônica (DRC) dialítica, por apresentarem imunossupressão característica desta doença, poderiam apresentar eventos adversos graves após a vacina. No entanto, não se sabe se realmente o percentual de eventos adversos é maior nesta população, não havendo uma recomendação específica quanto à segurança da vacinação em renais crônicos (Janus et al, 2008).

A vacinação dos pacientes renais crônicos em 2017 no ES foi decidida com base no risco de adquirir a doença e na possível maior gravidade nessa população que já tem uma imunossupressão de base. Levantamos o percentual de eventos adversos após a vacinação destes pacientes e avaliamos a taxa de soroconversão após a vacina.

1.1 Aspectos gerais da febre amarela

A febre amarela (FA) é uma arbovirose endêmica nos continentes da África e das Américas Central e do Sul, em 47 países, sendo 34 na África e os demais nas Américas. Apesar de haver vacina eficaz disponível, ocorrem, anualmente, 200.000 casos de FA e 30.000 mortes (Vasconcelos e Monath, 2016).

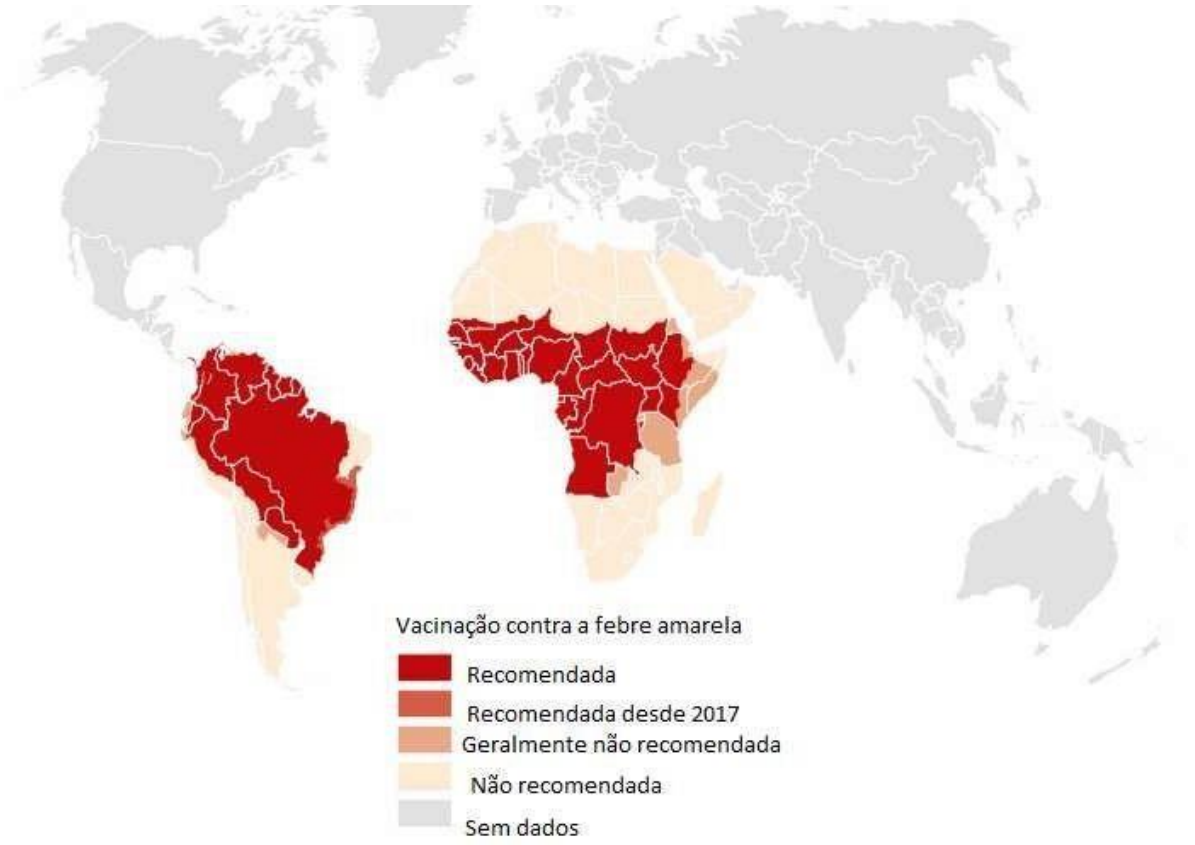


Figura 1. Países sob risco de febre amarela e áreas com recomendação de vacinação contra febre amarela. Modificado de Sacchetto e colaboradores, 2020.

A FA tem sua provável origem no continente africano, com dispersão mundial junto ao vetor urbano clássico, o *Aedes aegypti.* Esta doença já foi considerada um dos maiores flagelos da humanidade nos séculos XVIII a XIX, causando epidemias devastadoras em ambiente urbanos, especialmente em cidades portuárias. Muitos atribuem a descoberta do vetor urbano da FA ao médico cubano Carlos Finlay, em 1885. Algumas referências, no entanto, registram que foram os estudos coordenados por Walter Reed em Cuba, na primeira década do século XX, que permitiram a descoberta da transmissão vetorial e o controle e a vigilância do vetor urbano. A partir destas descobertas, Oswaldo Cruz e Emílio Ribas, no Brasil, enfretaram epidemias combatendo ao vetor.

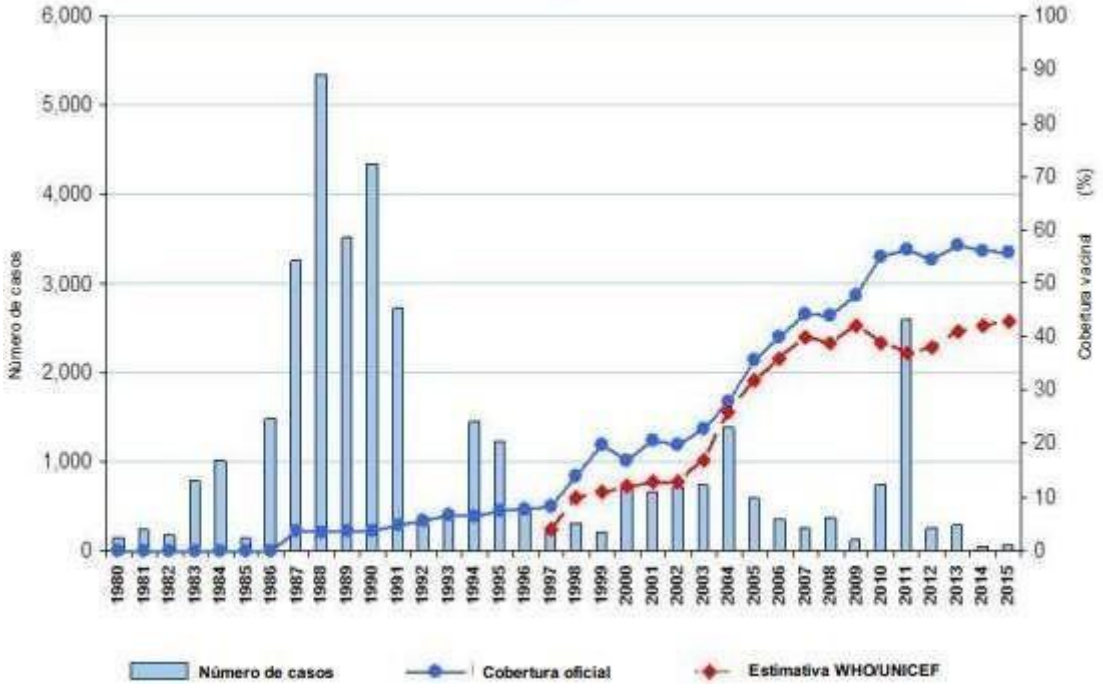


Gráfico 1. Número anual de casos de febre amarela reportados no mundo e a cobertura vacinal, entre 1980 e 2015. Fonte: Organização Mundial de Saúde, 2016.

Apesar da recomendação de vacinação nos países assinalados, a baixa cobertura vacinal permite a ocorrência de alguns surtos de FA em áreas urbanas na África (Figura 2). No entanto, estes são rapidamente controlados por campanhas de vacinação. Ao longo dos anos, percebe-se que a cobertura vacinal reduziu gradativamente, por dificuldade de acesso a áreas rurais, desmatamentos, urbanização desordenada, pobreza, guerras-civis, mudanças climáticas e programas de vacinação irregulares (Bryant et al, 2007). Como resultado deste quadro, nos anos de 2015-2016 ocorreu em Angola uma epidemia que resultou em 4000 casos suspeitos e aproximadamente 400 mortes em apenas seis meses, de acordo com dados da Organização Mundial de Saúde (OMS). Houve ainda dispersão para o país vizinho, República Democrática do Congo, além de indivíduos virêmicos que se dispersaram para outros países da África e outras zonas povoadas e infestadas por mosquitos do subgênero *Stegomyia,* como a China (Woodal e Yulli 2016).

No Brasil, a vacinação contra a FA foi iniciada em 1937 e passou a ser aplicada a cada cinco anos em áreas endêmicas (Costa et al, 2011). Desde 1999, foi incorporada

ao calendário de vacinação da criança, a partir dos seis meses, para os moradores da Amazônia Legal e da região Centro-Oeste e, a partir dos nove meses, para a chamada área de transição. A partir de 2001, a expansão da circulação viral amplificou as áreas de recomendação para as regiões Sudeste e Sul. Apesar da expansão progressiva da área de cobertura conforme será discutido adiante, um inquérito domiciliar realizado em 2006 para avaliar a cobertura vacinal em crianças de 18 a 30 meses em 15 cidades evidenciou que 79% tinham vacinação aos 12 meses, 86% aos 18 e 91% tinham algum registro anterior de vacinação (Veras et al, 2010). Uma estimativa do MS, considerando o número de doses aplicadas e os registros de nascidos vivos, indicou cobertura vacinal de 65,3% para todas as áreas de recomendação da vacina, de 2003 a 2013. Essa cobertura variou entre as regiões do país, chegando a menos de 60% em várias (Ministério da Sáude, 2014). Em relação aos anos de 2005 a 2015, o MS demonstrou haver heterogeneidade de cobertura vacinal entre os municípios, implicando em maior vulnerabilidade da população (Ministério da Saúde, 2015). A epidemia de FA iniciada em dezembro de 2016, em MG, Brasil, evidenciou as baixas coberturas vacinais em populações rurais propícias à circulação viral em ciclo silveste (Noronha & Camacho, 2017).

1.2 A Febre Amarela no Brasil

Os primeiros relatos da presença do vírus amarílico são do século XVII, no estado de Pernambuco, descrevendo uma epidemia ocorrida em 1685 no Recife, cidade portuária como aquelas descritas em outros países do continente americano. Na ocasião, havia a hipótese de procedência africana por meio de embarcações. Houve uma propagação não contínua da doença do norte ao sul do Brasil no século XIX, atingindo os portos marítimos. No Rio de Janeiro (RJ), os primeiros casos datam de 28 de dezembro de 1849, em uma cidade populosa, com 166.000 habitantes, bastante insalubre, permitindo a transmissão da doença por 59 anos (Franco, 1969).

Inicialmente, acreditava-se que a transmissão da doença seria por meio do desenvolvimento espontâneo em navios negreiros, por miasmas ou por brotamento pelo solo, infectando as pessoas que passassem por ali. Em 1848, Josias Clarck Nott trouxe a ideia de transmissão vetorial, dando início ao combate dos mosquitos por queima de enxofre e pela fumigação com piretro dissolvido em tetracloreto de carbono e querosene. Houve queda do número de óbitos na cidade do RJ, chegando a zero

em 1909. No entanto, nova epidemia ocorreu em 1928-1929, atingindo 738 pessoas, com 478 óbitos (letalidade de 64,8%). O combate à epidemia em 17 meses foi devido a ações antivetorias, tais como o uso de adulticidas e o combate às formas imaturas. Em 1929, o governo brasileiro e a Fundação Rockefeller assinaram uma colaboração para o combate à FA. O último caso detectado de FA urbana foi no Acre, em 1942, mas havia outra forma de manutenção do vírus na natureza, a transmissão silvestre (Franco, 1969).

A transmissão silvestre foi comprovada pela primeira vez no Brasil nos anos 1930, em área rural do ES. Em Santa Teresa, a 600 m de altitude, no Vale do Canaã, foram detectados casos suspeitos de FA. Sob a supervisão da Fundação Rockefeller, organizaram-se capturas de mosquito fora das casas com a detecção de *Aedes scapularis, Aedes terrens, Aedes serratus,* e espécies de *Psorophra* e *Mansonia*. Em 1938, comprovava-se, pela primeira vez, que *Haemagogus capricornii Lutz e Haemagogus leucocelaenus* eram vetores silvestres da FA (Franco, 1969).

Segue a propagação da epidemia no Brasil descrita por Franco (1969):

> [...]Em 1934, a febre amarela silvestre apareceu na Bahia (Ilhéus), Amazonas, Pará (Ilha de Marajó), Bahia e Mato Grosso, dirigindo-se depois para o Sul e para Leste e ameaçando as regiões mais populosas do País. Em 1935, infiltrou-se nos Estados de Goiás, Minas Gerais e São Paulo, explodindo em vários municípios, onde a viscerotomia os localizava. No ano seguinte chegou ao Paraná e depois a Santa Catarina, salpicando, ainda, as áreas por onde havia passado. Em seguida dirigiu-se para o Estado do Rio de Janeiro, onde penetrou em 1938, e fechando o roteiro num ciclo de 7 anos, retornou em 1939, à área espírito-santense do Vale do Canaã, onde fôra descoberta em 1932.

A vacina da FA, baseada no vírus da FA atenuado, cepa 17D, foi desenvolvida em 1936 e passou a ser produzida no ano seguinte, no Instituto Oswaldo Cruz, sendo aplicadas no RJ e em MG nesse mesmo ano. A Fundação Rockefeller supervisiou, nessa mesma década, um programa de erradicação do *Aedes aegypti* do Brasil e das Américas, sendo um grande sucesso, com os últimos focos do mosquito sendo encontrados na Bahia em 1955 (Franco, 1969). A partir da década de 70, houve

reinfestação do mosquito a partir de países americanos que não cumpriram a meta da erradicação, tais como Estados Unidos da América, Venezuela, Guianas e Cuba (Consoli & Lourenço-de-Oliveira, 1994).

Mesmo com a erradicação da FA no meio urbano, a alta densidade de infestação do *Aedes aegypti*, o aumento do número de casos de FA silvestre e a baixa cobertura vacinal no Brasil favorecem a reemergência da doença no cenário urbano (Camara et al., 2011; Couto-Lima et al, 2017).

1.3 A Febre Amarela no Espírito Santo

Os casos de FA registrados no Brasil são decorrentes de casos humanos esporádicos em consequências de vetores silvestres presentes em regiões florestais e suas franjas (Prata, 2000). Até 2016, o ES não era considerada área de recomendação de vacinação, devido ausência de casos de FA. No entanto, a epidemia ocorrida no Brasil a partir do estado de MG acabou por se propagar por outras localidades com baixa cobertura vacinal ou sem recomendação para a vacina, como o ES.

De acordo com dados da Secretaria de Saúde do Estado do ES (SESA-ES), em 2017 ocorreram 330 casos confirmados de FA silvestre, sendo que 126 deles evoluíram para óbito (SESA-ES, 2018). A partir da ocorrência desses casos em 2017, o estado do ES passou a ser classificado como área de recomendação permanente de vacinação contra a FA (Ministério da Saúde, 2017). Nos anos de 2017 e 2018, na medida em que houve disseminação dos casos para outros estados gerando necessidade crescente de doses da vacina, em diversos locais foram utilizadas doses fracionadas conforme recomendação da OMS (OMS, 2016). No entanto, o ES permaneceu utilizando a dose padrão da vacina contra a febre amarela (27476 UI) segundo informações da SESA-ES.

O mapa do Brasil quanto à recomendação de vacinação foi mudando ao longo do tempo, com a entrada do estado do ES e de outros estados brasileiros que também tiveram surtos de FA nos anos de 2017 e 2018, conforme observamos nas figuras 1, 2 e 3, divulgadas pelo MS (Ministério da Saúde, 2018).

Figura 2: Áreas endêmicas da FA

Figura 3: Distribuição dos municípios segundo a recomendação de vacinação para prevenção da FA, Brasil, 2017.

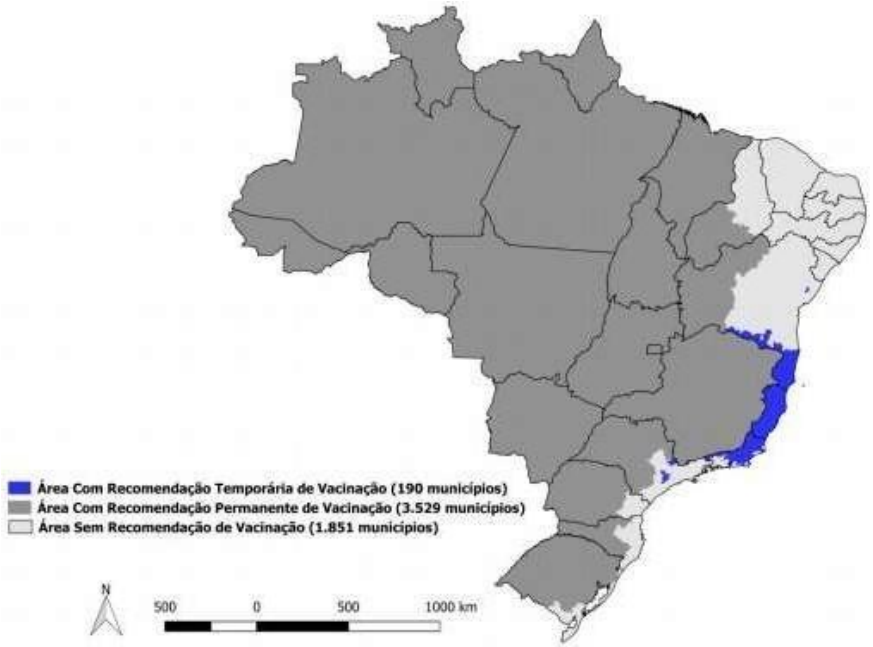


Figura 4: Áreas com recomendação de vacinação – 2018

1.4 O agente etiológico

O vírus da FA é mantido na floresta tropical pelos mosquitos vetores silvestres *Haemagogus sp. e Sabethes sp.*, em ciclo enzoótico envolvendo primatas, principalmente os macacos. Em locais onde estes vetores estão em alta densidade, como na zona de savanas da África, os seres humanos podem servir como hospedeiro principal. Estes vetores estão presentes em regiões florestais e suas fronteiras, causando casos humanos esporádicos e pequenos surtos (Prata, 2000).

O agente etiológico é o vírus da FA, protótipo do gênero *Flavivirus* (família *Flaviviridae*), do qual também fazem parte o vírus da dengue, o vírus zika e o vírus da encefalite japonesa. Este vírus é mantido na natureza por meio de transmissão entre hospedeiros vertebrados suscetíveis e artrópodes hematófagos, tais como os mosquitos e o carrapato (este último não transmite a febre amarela). Os vírus se replicam nos tecidos dos artrópodes que fazem repasto sanguíneo nos vertebrados infectados. Por intermédio da picada da fêmea do mosquito vetor, novos hospedeiros vertebrados são infectados (Schoub & Blackburn, 1995; Calisher *et al*., 1999).

O vírus da febre amarela (YFV) é esférico e apresenta um capsídeo icosaédrico com RNA de fita simples, de senso positivo, cujo genoma completo tem aproximadamente 11 mil nucleotídeos, que codificam 3.411 aminoácidos. Este RNA apresenta uma região codificante para a formação das proteínas virais estruturais e não estruturais. As regiões não codificantes são responsáveis pela regulação e pela expressão do vírus (Rice *et al*., 1985; Chambers *et al*., 1990; Bonaldo *et al*., 2006).

Os aminoácidos codificados por esta molécula de RNA, que funciona como um RNA mensageiro, geram 10 polipeptídeos virais: proteína C do capsídeo (12-14 KDa), proteína M da membrana e sua precursora prM (18-22 KDa), proteína E que dá origem ao envelope (52-54 KDa) e as proteínas não-estruturais NS1, NS2A, NS2B, NS3, NS4A, NS4B e NS5. A estrutura básica da partícula viral é composta pelas proteínas estruturais – C, prM/ M e E – e pelo genoma. Durante uma infecção no ser humano, ocorre produção de anticorpos contra as glicoproteínas do envelope e a proteína C do capsídeo (Rice *et al*., 1985; Chambers *et al*., 1990; Bonaldo *et al*., 2006).

A captura viral deve ocorrer por endocitose, havendo revestimento do vírus por vesículas de clatrina. O envelope viral então se funde com a membrana celular, permitindo que o nucleocapsídeo seja entregue ao citoplasma, onde ocorre a tradução do RNA genômico. Após montagem das partículas virais em associação com o retículo endoplasmático, estas são transportadas em vesículas intracelulares e seguem a via secretória do hospedeiro, fundindo-se à membrana plasmática e liberando as partículas virais maduras no meio extracelular (Lindenbach & Rice, 2001; Monath, 2004).

1.5 Importância da Vacinação contra a Febre Amarela

A FA tem manifestações clínicas variáveis, que vão desde um quadro febril leve até a infecção grave, acarretando falência renal e hepática, dano cardíaco, hemorragia e choque. Estima-se que apenas 10% sejam formas graves, associadas a elevada letalidade, que varia entre de 20 e 50% dos casos. Todos os indivíduos são suscetíveis, não havendo distinção de raça, idade ou gênero (Vasconcelos, 2003).

Até o momento, não existe tratamento bem sucedido contra o YFV, sendo a vacina a principal medida de prevenção da doença. Durante a ocorrência de um surto,

recomenda-se a imunização de pessoas não vacinadas que residem ou vão se deslocar para áreas de risco (Ministério da Saúde, 2017).

A vacina usada no Brasil é produzida desde 1936 por Bio-Manguinhos (Fiocruz), sendo composta por vírus atenuado da febre amarela cepa 17D, cultivada em ovos embrionados de galinha. O vírus é atenuado, porém mantém sua imunogenicidade. As vacinas em uso atualmente são as subcepas derivadas 17D-204 e 17DD. Esta vacina tem excelente imunogenicidade e perfil de segurança, com raros eventos adversos. Atualmente, é o principal meio de controle da doença. Tem uma eficácia de 95% ao ser apliacada uma dose subcutânea, com duração da imunidade por tempo maior que 10 anos. A OMS recomenda apenas uma dose da vacina que, segundo alguns estudos, confere proteção por toda a vida (OMS, 2015).

1.6 Eventos Adversos Pós-Vacinação (EAPV) e contra-indicação à vacinação

Os EAPV contra a FA constituem-se de manifestações locais e sistêmicas. As manifestações sistêmicas podem ser gerais ou reações graves. As gerais podem ser febre, cefaleia e mialgia. Já as reações graves incluem as reações de hipersensibilidade, a doença neurológica e a doença viscerotrópica. De acordo com dados trazidos pelo Manual de Vigilância de EAPV (2020), a taxa de anafilaxia no Brasil foi de 0,09 caso por 100 mil doses administradas no período de 2000 a 2015. As reações de hipersensibilidade são atribuídas às proteínas do ovo ou a outros componentes da vacina, como a gelatina, a canamicina e a eritromicina. Em geral ocorrem nas primeiras duas horas após a vacinação (erupções, urticária e broncoespasmos) (Noronha & Camacho, 2017).

A incidência da doença neurológica no período entre 2007 e 2021 foi de 0,17 episódios a cada 100 mil doses administradas. No mesmo período, houve 21 casos de doença viscerotrópica relacionada à vacina contra febre amarela, com taxa de 0,04 caso por 100 mil doses administradas. Não foram encontradas mutações no vírus vacinal isolado dos casos de viscerotropismo, que parecem ocorrer em razão de fatores individuais (Martins et al, 2015).

A vacinação com vírus vivo atenuado apresenta maior risco potencial de ocorrência de doenças neurológicas e viscerotrópicas em pessoas com imunodeficiência. Por

este motivo, a VFA é contra-indicada em pessoas em uso de drogas imunossupressoras, em pacientes que receberam transplantes de órgãos, em portadores de HIV com CD4 menor 200 células por milímetro cúbico, em portadores de neoplasias e imunodeficiências primárias, em pessoas imunossuprimidas e em pessoas com doenças do timo. Gestantes e crianças com menos de seis meses também não devem ser vacinadas. Em idosos com mais de 60 anos, deve haver precaução ao se recomendar a vacina (Ministério da Saúde, 2020).

A vigilância de EAPV iniciou-se em 1998, incorporada pelo Programa Nacional de Imunizações, sendo realizada através de um sistema passivo. As manifestações locais não necessitam de notificação, enquanto as manifestações sistêmicas não graves devem ser notificadas apenas se ocorrerem acima do esperado. Os eventos adversos graves, por sua vez, são de notificação compulsória (Ministério da Saúde, 2020).

1.7 Imunização em pacientes com doença renal crônica dialítica

A DRC é caracterizada por uma disfunção imune e por risco aumentado de infecção. Há níveis aumentados de citocinas inflamatórias pela própria diminuição da eliminação renal e pela maior produção estimulada pelas toxinas urêmicas. A uremia ainda altera o funcionamento dos leucócitos, possivelmente predispondo a eventos adversos graves pós-vacinação contra a febre amarela. A vacina contra a febre amarela, portanto, não seria segura em portadores de DRC. Outro questionamento a ser levantado, seria qual a dose de vacina ideal para estes pacientes. Conhecidas alterações nas funções dos linfócitos T levam a altas taxas de falha nas vacinações contra o vírus da hepatite B, o vírus influenza, o *Clostridium tetani* e o *Corynebacterium diphtheriae* nos pacientes com doenças renais crônicas (Kato *et al*., 2008). Além disso, a VFA é contra-indicada em pacientes transplantados renais (Ministério da Saúde, 2020), ressaltando-se a importância do conhecimento dos riscos de eventos adversos na população de pacientes ainda quando em terapia dialítica.

Devido à necessidade de imunização emergencial em meio à epidemia ocorrida no ES em 2017, surgiu a preocupação quanto à vacinação dos doentes renais crônicos em diálise. A maioria dos pacientes da área urbana que não tinha viagem programada para as zonas de epidemia não foi vacinada por recomendação dos nefrologistas

assistentes, principalmente por vários desses pacientes terem mais de 60 anos, enquadrando-se na recomendação de precaução da OMS. Além disso, muitos pacientes tinham outras comorbidades, como lúpus eritematoso sistêmico, e faziam uso de terapia imunossupressora, não recebendo recomendação de vacinação por parte de seus médicos. No entanto, nos municípios onde estava ocorrendo a epidemia, os pacientes foram vacinados após decisão compartilhada do paciente com o médico, considerando o risco aumentado de adquirirem a doença sem a imunização.

1.8 Teste de neutralização

O método de referência para a avaliação da resposta imune protetora após a vacinação nos flavivírus é o PRNT (teste de neutralização por redução de placas de lise). Este teste é o mais sensível e específico para a detecção e quantificação de anticorpos neutralizantes. Ensaios imunoenzimáticos demonstram haver complexa reatividade cruzada, especialmente onde se esperam dados de áreas de intensa circulação de flavivírus, como nos países da América do Sul (Facincani *et al.*, 2016; Barnett, *et al.*, 2007). A reatividade cruzada ocorre pela existência de epítopos antigênicos comuns a todos os flavivírus na proteína do envelope (Vazquez *et al.*, 2003).

As vacinas flavivirais atuam por meio da produção do anticorpo anti-glicoproteína E, que neutraliza os vírus. A glicoproteína flaviviral E é responsável pela ligação viral aos receptores da célula hospedeira, e pela fusão da membrana celular. Como tal, é a proteína viral mais importante com em relação à infectividade viral e, assim, estimula essencialmente todos os anticorpos neutralizantes específicos do vírus. O principal anticorpo medido no PRNT é o anti-glicoproteína E.

O PRNT mede o parâmetro biológico de neutralização do vírus *in vitro*. Este teste permite que a interação vírus-anticorpo ocorra em um tubo de ensaio ou placa de microtitulação, permitindo que os efeitos sobre a infectividade viral sejam mensurados em mistura de células sensíveis ao vírus. As células são sobrepostas com um meio semi-sólido que restringe a disseminação do vírus da progênie. Cada vírus que inicia uma infecção produtiva produz uma área localizada de infecção (uma placa), que pode ser detectada de várias maneiras. Placas são contadas e comparadas com a concentração inicial do vírus para determinar a redução percentual na infectividade

total. No PRNT, a amostra de soro a ser testada é geralmente submetida a diluições em série antes da mistura com uma quantidade padronizada de vírus. A concentração do vírus é mantida constante de tal forma que, quando o vírus é adicionado a células suscetíveis e revestido com meio semi-sólido, placas individuais pode ser discernidas e contadas. Desta forma, os títulos finais do PRNT podem ser calculados para cada amostra de soro (Barnett, 2007).

1.8.1 Vírus utilizados no PRNT

Nesse estudo o PRNT foi realizado com três diferentes cepas do vírus da febre amarela: a cepa vacinal 17DD, a cepa selvagem IEC-4408 (YFV-4408) e a cepa selvagem ES-504/BRA/2017.

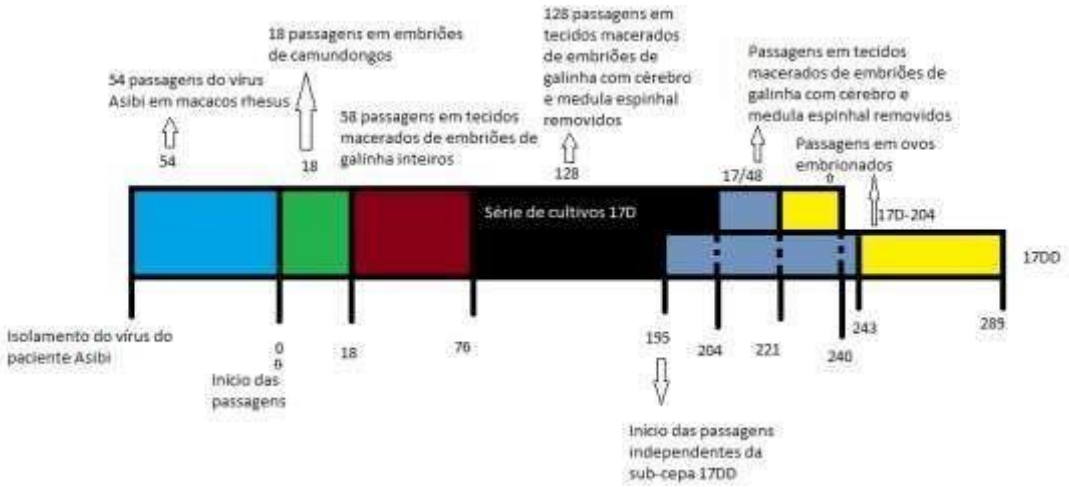
1.8.1.1 Subcepa vacinal 17DD

As vacinas contra a FA são baseadas no vírus selvagem isolado em 1927 de um indivíduo de Gana chamado Asibi. Os produtores da vacina qualificados pela Organização Mundial de Saúde são: Sanofi Pasteur (França), Bio-Manguinhos (Brasil) e Institut Pasteur Dakar (Senegal), que utilizam lotes sementes derivados das subcepas do vírus FA 17D. O produtor brasileiro, BioManguinhos, utiliza a subcepa 17DD (Monath, 2008; Barret & Teuwen, 2009). Todas as vacinas 17D são efetivas contra os sete tipos selvagens do vírus da febre amarela, mesmo diferindo em até 25,1% em nível de nucleotídeos e 7,9% em nível de aminoácidos (Barrett & Teuwen, 2009).

Na figura a seguir (figura 4), vemos o histórico de passagens seriadas do vírus parental Asibi, que permitiu a obtenção da cepa vacinal FA 17D. Após passagens sequenciais, obtiveram-se as subcepas 17DD e 17D-204 em tecidos macerados de embriões de galinha dos quais o cérebro e a medula espinhal haviam sido retirados. Passagens adicionais em ovos embrionados foram realizadas antes da inoculação em humanos (Monath *et al.*, 2008). A Fundação Rockefeller enviou o vírus 17DD para o Brasil na passagem 229. Este foi cultivado em tecidos macerados de embriões de galinha até a 243ª passagem, quando foi transferido para ovos embrionados. Estas passagens seriadas resultaram em perda do viscerotropismo, do neurotropismo e da capacidade de se replicar em mosquitos. Resultaram, assim, no fenótipo viral

atenuado resultante de mutações ocorridas ao acaso (Monath, 2008; Barret & Teuwen, 2009).

Figura 5: Histórico de passagens da cepa viral Asibi. Figura modificada de Monath 2008.



As diferenças entre os vírus vacinais e a cepa original 17D estão no nível de passagem e nos componentes adicionais vacinais (estabilizantes, sais e diluentes). No entanto, eles são semelhantes em relação a soroconversão, duração de imunidade e segurança. Além disso, as vacinas são compostas por múltiplas subpopulações virais, que acabam por aumentar a sua eficácia (Barrett, 1997).

Na tabela a seguir, podemos verificar mutações comuns às subcepas atenuadas 17D-204 e 17DD comparadas à cepa Asibi (Monath et al., 2008). Já se mostrou que alterações na neurovirulência em camundongos e macacos ocorrem por mutações na proteína E (Galler et al., 2001; Monath et al., 2002). Mutações no domínio III da proteína E, por sua vez, reduzem o viscerotropismo e aumentam o neurotropismo (Nickells et al., 2008; Lee & Lobigs, 2008). É provável que a atenuação viral seja resultado de várias mutações, acumuladas por mais de 230 passagens em diversos sistemas de propagação (Monath et al., 2008).

Tabela 1: Mutações comuns às subcepas atenuadas 17D-204 e 17DD comparadas à cepa Asibi (Monath *et al.*, 2008).

Nucleotídeo	Gene	Aminoácido	Asibi	17D-204 e 17DD
854	M	36	Leu	Phe
1,127	E	52	Gly	Arg
1,482		170	Ala	Val
1,491		173	Thr	Lle
1,572		200	Lys	Thr
1,870		299	Met	Lle
1,887		305	Ser	Phe
2,112		380	Thr	Arg
2,193		407	Ala	Val
3,371	NS1	307	Lle	Val
3,860	NS2a	118	Met	Val
4,007		167	Thr	Ala
4,002		172	Thr	Ala
4,056		183	Ser	Phe
4,505	NS2b	109	Lle	Leu
6,023	NS3	485	Asp	Asn
6,876	NS4a	146	Val	Ala
7,171	NS4b	95	Lle	Met
10,142	NS5	836	Glu	Lys
10,338		900	Pro	Leu
10,367	(3`NCR)		U	C
10,418			U	C
10,800			G	A
10,847			A	C

1.8.1.2 Cepa selvagem IEC-4408 (YFV-4408)

O vírus selvagem apresenta sete linhagens identificadas: cinco na África (África Ocidental I e II, África Oriental, África Oriental/Central e Angola), e dois nas Américas (América do Sul I e II) (Bryant et al. 2007). O YFV que circula nas Américas é derivado de um ancestral da linhagem da África Ocidental (Bryant et al. 2007).

O sul-americano I é o genótipo mais frequentemente registrado no Brasil (Nunes et al. 2012, Monath & Vasconcelos 2015). Cinco linhagens foram reconhecidas no genótipo sul-americano I, a saber, 1A a 1E (Vasconcelos et al. 2004, de Souza et al. 2010). Desde 2008, apenas vírus da linhagem 1E são detectados no Brasil (de Souza et al. 2010, Nunes et al. 2012).

A cepa IEC-4408, pertencente à linhagem 1E, recebeu o código BeAn754036/RS-Brazil/2008 no Instituto Evandro Chagas, Belém, tendo sido isolada do bugio *Alouatta sp*, no Rio Grande do Sul, na epidemia de 2008. Seu genoma completo foi sequenciado e a sequência depositada no Genbank sob o registro KY861728 (Couto-Lima et al, 2017).

1.8.1.3 Cepa selvagem ES-504/BRA/2017

Durante a epidemia de FA iniciada em dezembro 2016, o YFV se espalhou desde a transição da zona entre o cerrado e a Mata Atlântica do interior do estado de MG, até o litoral do ES e RJ, e depois alcançou áreas densamente povoadas perto da floresta tropical, as quais possuíam cobertura vacinal insignificante. A análise de sequências do genoma obtidas de macacos bugios do ES revelou que essas cepas apresentam novos polimorfismos, compreendendo várias substituições de aminoácidos, localizadas principalmente nos componentes do complexo da replicase viral, no domínio de protease da proteína NS3 (NS3pro) e na metiltransferase (MTase) e no domínio de RNA polimerase (RdRp) da proteína NS5 (Bonaldo et al., 2017). É possível que as mudanças nas proteínas NS3 e NS5, por estarem ligadas a replicação viral, acelerem a propagação de um surto em curso (Goméz et al., 2018).

Os YFV de 2017 encontrados pertenciam à sub-linhagem 1E e são agrupados com as cepas venezuelanas de YFV de 2004-2010. O YFV de 2017 e as cepas venezuelanas de YFV compartilham um ancestral comum relativamente distante com cepas venezuelanas de YFV de 2004-2010, um compartilhamento que pode ser rastreado até 1993. Portanto, a linhagem moderna do YFV pode ter circulado anteriormente (Goméz et al., 2018).

A cepa utilizada neste trabalho será ES-504/BRA/2017, uma cepa selvagem do genótipo Sul americano I da linhagem 1E, isolada do plasma de macaco *Alouatta g.*

clamitans no Espírito Santo, município de Domingos Martins, teve sua sequência genômica depositada no Genbank sob o registro KY885000 (Bonaldo et al., 2017).

2. OBJETIVOS:

2.1 Gerais:

2.1.1 Verificar a frequência de eventos adversos pós-vacinação contra a FA nos pacientes com doença renal crônica dialítica

2.1.2 Avaliar a taxa de soroconversão nos pacientes renais crônicos dialíticos após administração de uma dose da vacina contra a febre amarela

2.2 Específicos:

2.2.1 Comparar a frequência de eventos adversos pós-vacinação contra a febre amarela na população estudada com os dados da população geral

2.2.2 Verificar se a vacina contra a febre amarela é segura na população de doentes renais crônicos dialíticos

3. MÉTODOS

Este é um estudo transversal para verificação da frequência de eventos adversos pós-vacinais em adultos renais crônicos dialíticos. A população estudada foi composta por pacientes em terapia dialítica regular (diálise peritoneal ou hemodiálise), sendo adultos (com mais de 18 anos de idade) em serviços de diálise da região da Grande Vitória e do município de Colatina. A amostra foi constituída a partir de serviços de hemodiálise que consentiram com a realização do estudo, que são: o Instituto de Doenças Renais (municípios de Serra e Vitória), o Hospital Universitário Antônio Cassiano de Moraes (serviços de hemodiálise e diálise peritoneal), a Casa de Saúde de Santa Maria (Colatina – ES) e a Clínica Nefrológica de Colatina. O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquida do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal do Espírito Santo (CAAE 24851419.9.0000.5060). Cada paciente assinou termo de consentimento livre e esclarecido (ANEXO 1), além receber esclarecimento de dúvidas por parte do próprio pesquisador.

3.1 Questionário

Os pacientes foram submetidos a uma entrevista estruturada durante as sessões de diálise (nos pacientes em hemodiálise) ou no dia de coleta de exames mensais do serviço de diálise peritoneal. Aplicou-se um questionário que continha os seguintes dados: nome, idade, sexo, raça, comorbidades, sorologias (HIV e hepatites virais), consumo de álcool, tabagismo, etiologia da doença renal, tempo de diálise, método de diálise, transplante renal prévio e uso de terapia imunossupressora (ANEXO 2). A data de vacinação foi confirmada por meio do cartão de vacinação. Os pacientes que haviam sido vacinados antes de iniciar a terapia dialítica foram desconsiderados.

As sorologias para HIV e hepatites virais são avaliadas anualmente nos serviços de diálise, e os resultados foram consultados nos prontuários dos pacientes. As raças pontuadas no questionário são as denominadas pelo Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE, 2013). Etilismo foi definido como consumo de mais do que 15 doses/semana (homem) ou mais do que 10 doses/semana (mulher), considerando que uma dose padrão tem 12 g de álcool puro e equivale a 300 ml de cerveja ou 100 ml de vinho ou 30 ml de destilado (OMS, 2010). Os pacientes ainda foram questionados quanto a tabagismo, definido a partir de carga tabágica de 20 anos-

maço. As etiologias da doença renal foram avaliadas conforme as principais causas apontadas pela Sociedade Brasileira de Nefrologia (SBN). As seguintes comorbidades foram verificadas: hipertensão arterial sistêmica (HAS), diabetes mellitus (DM), neoplasias, doenças reumatológicas e insuficiência cardíaca.

A Resolução da Diretoria Colegiada-RDC nº 154, de 15 de junho de 2004 (Ministério da Saúde) determinou que o exame da enzima hepática AST (alanina aminotrasferase) deve ser realizado mensalmente nas clínicas de diálise. Aproveitando esta determinação, este exame também foi avaliado no mês da vacinação ou no mês subsequente para verificar se houve alguma alteração laboratorial mesmo que o paciente não tivesse relatado sintomas compatíveis com lesão hepática, tais como náuseas, vômitos e dor abdominal.

A classificação dos eventos adversos foi baseada nas definições trazidas pelo MS por meio do Manual de vigilância epidemiológica de EAPV (Ministério da Saúde, 2020). A classificação está resumida na tabela 2. Nos anexos 3 e 4 estão descritos os critérios para confirmação dos eventos adversos graves, especificamente a doença neurológica aguda (DNA) e a doença viscerotrópica aguda (DVA).

Tabela 2 – Eventos adversos pós-vacinação

	Definição
Manifestações Locais	dor, edema e eritema, abscesso
Manifestações Sistêmicas	Manifestações gerais: primeiros 3 dias após a vacinação. Incluem: febre, cefaleia, mialgia.
	Eventos adversos graves (EAGs):
	Reações de hipersensibilidade (ovo de galinha ou quaisquer outros componentes da vacina): exantema, urticária e asma
	DNA: de 1-4 semanas após a vacinação. Encefalite, meningite, síndrome de Guillian-Barré, encefalomielite aguda disseminada.
	DVA: de 1-4 semanas após a vacinação. Disfunção aguda de múltiplos órgãos. Sintomas iniciais inespecíficos, incluindo febre, cefaleia, astenia, mialgia, artralgia, náusea, vômito, diarreia e dor abdominal. Com a progressão da doença, podem ocorrer icterícia, trombocitopenia e elevação de transaminases hepáticas, bilirrubinas totais e creatinina. O quadro mais grave é caracterizado por hipotensão, hemorragia, insuficiência renal aguda e insuficiência respiratória. Manifestações menos frequentes incluem rabdomiólise e coagulação intravascular disseminada.

3.2 Teste da imunogenicidade

Em fevereiro de 2020 (cerca de 3 anos após a campanha de imunização), coletou-se sangue periférico em tubo contendo o anticoagulante EDTA em uma amostra de 71 pacientes. O sangue foi fracionado por meio de centrifugação e, com auxílio de micropipetas, o soro foi transferido para tubos de criopreservação. As amostras de soro foram conservadas em freezer a -70°C e enviadas para o Laboratório de

Mosquitos Transmissores de Hematozoários (LATHEMA), Fundação Oswaldo Cruz – Fiocruz – RJ, para a realização do PRNT.

A eficácia protetora da vacina contra a febre amarela foi determinada a partir de correlatos de proteção devido a ausência de estudos em humanos. A FDA determinou um índice de neutralização de log10 (LNI) maior que 0,7 a partir de estudos de dose-resposta em macacos rhesus que foram desafiados após a imunização (Gotuzzo et al, 2013). No entanto, esse ensaio requer uma quantidade de soro adequada não utilizada rotineiramente em humanos. Portanto, o LNI foi substituído pelo PRNT para esta avaliação. Títulos de neutralização (TN) de 1:10 e 1:20 são utilizados como títulos de corte a partir de estudos sobre imunização passiva em hamsters e evidências de títulos protetores para outros vírus, como o vírus da encefalite japonesa (Julander el al, 2011; Hombach et al, 2004). Em geral, considera-se que um título maior que 1:10 está associado a imunidade protetora (de Melo et al, 2011). Neste estudo utilizamos o título maior que 1:10 como triagem e o título maior que 1:20 como determinante de imunidade.

3.2.1 Vírus

Neste estudo, desafiamos as 71 amostras com três diferentes cepas do vírus da febre amarela: a cepa vacina 17DD e duas cepas selvagens. A cepa vacinal 17DD é proveniente da propagação viral, do vírus liofilizado, em cultivo de células VERO, sendo o título de partículas virais $1,6x10^6$ cel/ml (não realizado o sequenciamento genético). As cepas selvagens são: IEC-4408 (YFV-4408), com título de partículas virais de $6,6x10^5$ cel/ml; e a cepa ES-504/BRA/2017, com título de partículas virais de $5,4x10^5$ cel/ml.

As cepas foram isoladas a partir de soro humano ou de primatas não humanos (PNH), em cultivo celular de *Ae. albopictus* C6/36 e VERO (ATCC,CCL81). Após isolamento, as cepas foram armazenadas a -80ºC até serem utilizadas nos ensaios.

3.2.2 Soluções e Reagentes

<u>Soro Fetal Bovino (Cultilab):</u> Inativado a 56ºC por 30 minutos, e filtrado. Aliquotado (50 ml) e armazenado à -20ºC.

Carboximetilcelulose (CMC) 3%

CMC	3 g
Água bidestilada q.s.p.	100 ml

Instruções: homogeneização por agitação vigorosa (liquidificador); autoclavação (121°C por 20 minutos); armazenagem a temperatura ambiente.

Bicarbonato de sódio 5% (NaHCO3)

$NaHCO_3$	50 g
Vermelho de fenol 1%	1 ml
Água bidestilada q.s.p.	1000 ml

Instruções: Adição de gelo seco com agitação até a solução atingir pH 7,0 – 7,2; aliquotar em 20 ml e esterilizar por autoclavação (121°C por 15 minutos).

Tripsina

Tripsina estoque	0,5 ml

Instruções: Preparar imediatamente antes do uso.

Sulfato de gentamicina

1 ampola de sulfato de gentamicina (2 ml) para 18 ml de água bidestilada estéril.

CMC

Meio 199 com sais de Earle 10X*	10%
NaHCO3 5% (pH 7,0)	5%
Sulfato de gentamicina (4 mg/ml)	1%
Anfotericina B (500mg/ml)	0,4%
CMC 3% (Sigma) q.s.p.	100 ml

*Diluir no CMC 3%, completando o volume total necessário.

**Previamente preparado e esterilizado.

Instruções: Todo material deverá estar estéril; com preparo no momento do uso. Homogeneizar vigorosamente.

Meio 199 com sais de Earle completo (meio diluente para o PRNT)

	Sistema fechado (garrafas de cultura)	PRNT
Meio 199 com sais de Earle 10X*	10%	10%
$NaHCO_3$ 5% (pH 7,0)	2,5%	5%
SFB inativado (Cutilab)	10%	5%
Sulfato de gentamicina (4 mg/ml)	1%	1%
Água destilada q.s.p.q	100 ml	100 ml

*Diluído em água destilada estéril, completando o volume total necessário.

Instruções: Todo o material devera estar estéril, com preparo no momento do uso.

Formaldeído 10%

Formaldeído 37%	1000 ml
Água destilada	2600 ml

Instruções: Preparar e estocar a temperatura ambiente.

Cristal Violeta – Solução Estoque (2%)

Cristal Violeta	10 g
Metanol	100 ml
Água destilada q.s.p.	500 ml

Cristal Violeta – Solução de Uso (0,04%)

Cristal Violeta solução estoque	20 ml
Água destilada q.s.p.	1000 ml

Instruções: Preparar e estocar a temperatura ambiente.

3.2.3 Células Vero

Células Vero, uma linhagem de rim de *Cercopithecus aethiops* (macaco verde africano - ATCC, CCL 81), expandidas a partir do banco de células do LATHEMA (mantidas à -196ºC em container de N_2), foram mantidas em meio 199 1x, com sais de Earle (10X), tamponado com bicarbonato de sódio 5,0% e suplementado com 10% de soro fetal bovino inativado e antibiótico (1% de sulfato de gentamicina/ 100mL). A concentração celular utilizada no PRNT foi de 2 x 10^4 cel/ml, semeadas em placas de 12 poços. Uma concentração de 3x10^5cel/ml foi semeada em placas de seis poços 24 horas antes do teste ser realizado (monocamadas confluentes entre 80 e 90%).

3.2.4 Triagem das amostras (placa de 24 poços)

Inicialmente, as 71 amostras foram submetidas a triagem com a cepa vacinal 17 DD. Apenas as amostras com TN maior ou igual a 1: 10 foram submetidas a diluição progressiva para avaliação de títulos imunológicos. Para isso, adicionamos na placa de diluição 12ul da amostra e 48ul de meio 199 1x. Adicionamos ainda, na mesma placa, 60 ul do vírus, obtendo um volume total de 120ul.

Amostras com neutralização acima de 90% em uma diluição de 1:10 são consideradas detectáveis. Todas as amostras com teste de neutralização (TN) detectável (TN maior ou igual a 1:10) foram testadas com diluição dupla progressiva variando de 1:20 até igual ou maior que 1: 640. O título imunológico será considerado adequado quando TN for maior ou igual a 1:20. Apenas amostras com título adequado foram desafiadas com as cepas selvagens.

Para a etapa de neutralização, os vírus e os soros foram incubados por uma hora em estufa a 37°C com atmosfera de 5% de CO_2. Após a etapa de neutralização, todo o meio das placas de 24 poços (semeadas 24 horas antes com células Vero) foi retirado e, em seguida, foram adicionados, a cada poço, 100ul para 24 poços, das misturas vírus-soro.

As monocamadas foram incubadas por uma hora em estufa a 37°C com atmosfera de 5% de CO_2 para que ocorresse a adsorção. Após essa incubação, as misturas foram

aspiradas e, em cada poço, adicionou-se 1ml para as placas de 24 poços e de CMC. As monocamadas foram incubadas por sete dias em estufa a 37ºC com atmosfera de 5% de CO_2.

Passados os 7 dias, as monocamadas foram fixadas por, pelo menos, uma hora a temperatura ambiente com 3mL de formolaldeido (10%) em cada orifício, lavadas para a retirada completa do CMC e coradas por 30 minutos com 1ml por poços e 3mL de cristal violeta por orifício. Após a secagem das monocamadas a 37°C, as placas de lise formadas foram contadas.

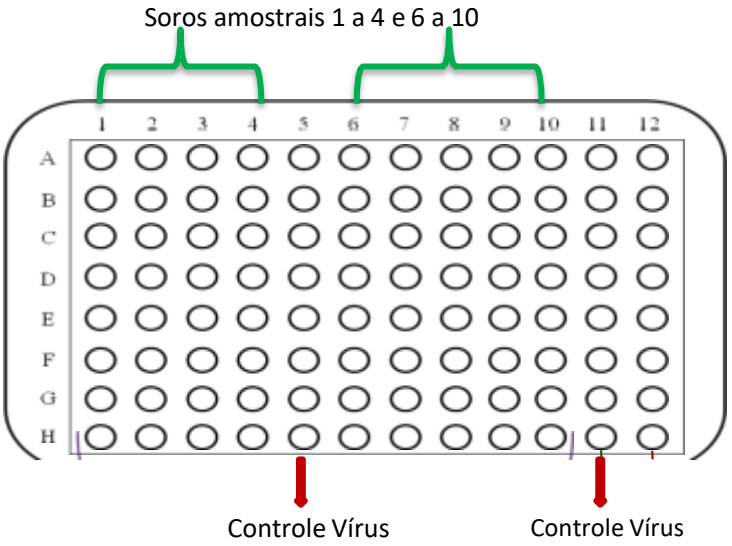


Figura 6: Desenho ilustrativo da placa de 96 poços para a realização da diluição das amostras de 1:10, para realização do screening. As colunas de 1 a 4 e 6 a 10 foram destinadas aos soros amostrais (12ul soro+48ul meio 199 1x) e as colunas 5 e 11 ao controle viral (vírus 60 ul).

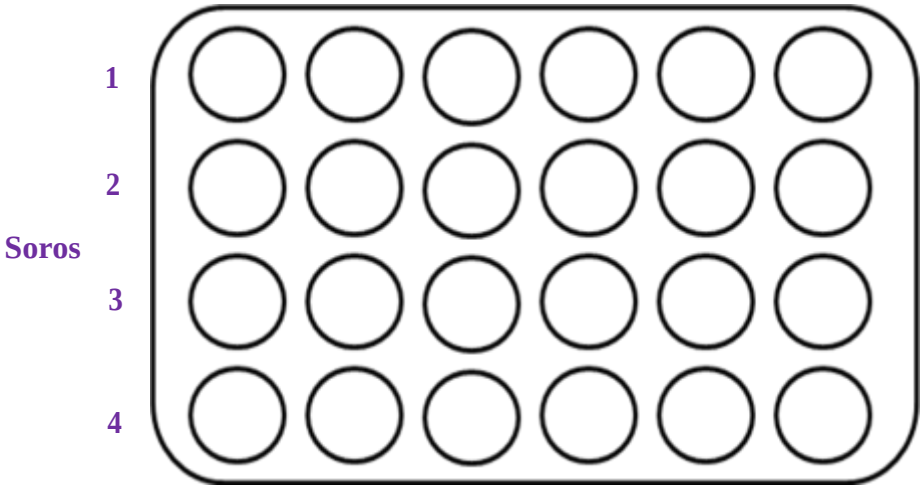


Figura 7: Desenho ilustrativo da placa de 24 poços para a realização do screening das amostras de 1 a 71 dos soros para neutralização ≥ 10, em que foram colocados 100ul de cada amostra da diluição da placa de 96 poços. Uma segunda placa de 24 poços foi incubada, apenas com o controle viral para a validação do teste.

3.3 Análise dos dados

Após a coleta de dados, foi verificada a frequência de pacientes que não apresentaram eventos adversos, daqueles que tiveram manifestações locais, dos que tiveram manifestações sistêmicas gerais e daqueles com eventos adversos graves. Estas frequências foram comparadas com os dados apresentados pelo Manual de Vigilância de Eventos Adversos Pós-Vacinação – 4ª Edição (Ministério da Saúde, 2020).

Foram avaliadas as características que poderiam predizer a ocorrência de eventos adversos e que poderiam predizer um título imunológico adequado. Realizou-se análise univariada por meio do teste Qui-Quadrado para variáveis categóricas no programa Past e do teste de regressão logística simples para as variáveis quantitativas no programa BioEstat.

A seguir, realizou-se análise multivariada no programa R por meio de regressão logística múltipla para avaliar como as características clínicas com efeito significativo na análise univariada poderiam predizer a ocorrência de eventos adversos. A análise de correspondência múltipla foi realizada para apresentar a associação de fatores preditores para a ocorrência de eventos adversos.

Também foi realizada análise multivariada no programa R por meio de regressão logística múltipla para avaliar se haveria alguma característica preditora para soroconversão. Foi realizado a seguir Likelihood-ratio test (Razão da máxima verossimilhança).

As diversas associações avaliadas foram expressas mediante os valores de qui-quadrado, de Z para variável independente e pela *odds ratio* determinada a partir do modelo de regressõa logística, com seu respectivo intervalo de confiança de 95%. Em todos os casos, um valor de $p < 0,05$ foi considerado estatisticamente significativo.

4. RESULTADOS

4.1 Avaliação dos eventos adversos pós-vacinação

Do total de 223 pacientes entrevistados, 205 (91,93%) não apresentaram quaisquer EAPV. As manifestações locais ocorreram em 13 pacientes (5,83%), enquanto que 6 (2,7%) apresentaram manifestações sistêmicas gerais. Um indivíduo apresentou manifestação local e sistêmica geral. Não houve EAGs.

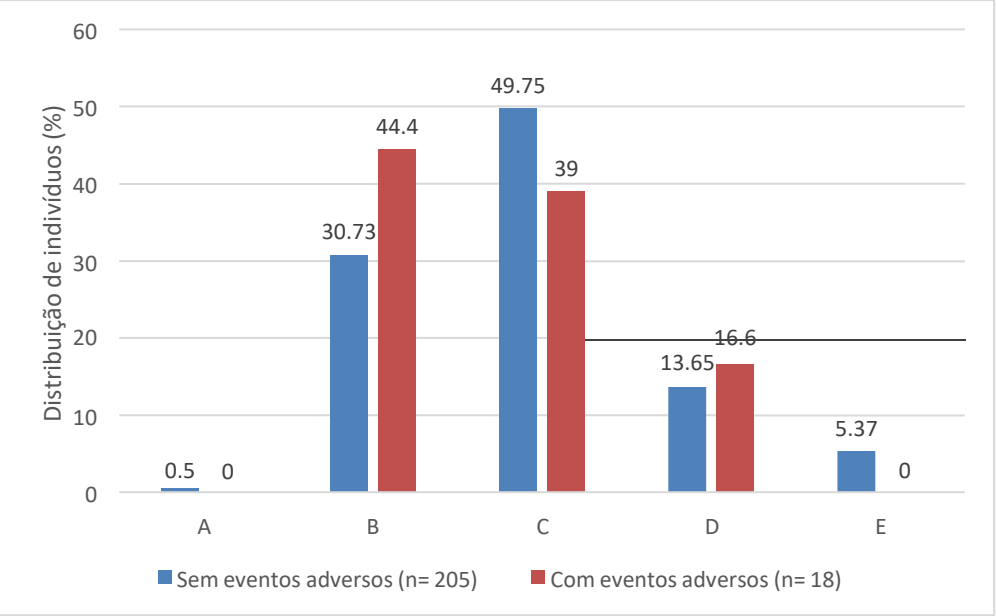
Foram entrevistados 223 adultos em terapia renal substitutiva regular. A idade média desta população foi de 51,13 anos (48,88% com idade entre 45-64 anos e 18,83% com idade acima de 65 anos), com 138 indivíduos (61,88%) do sexo masculino. Deste total, 12 (5,38%) pacientes estavam em diálise peritoneal e 211 (94,62%) em hemodiálise, sendo a mediana de tempo de terapia dialítica 4,5 e 7 anos, respectivamente. No gráfico 2, está evidenciada a distribuição dos indivíduos conforme faixas etárias enquanto, no gráfico 3, evidenciamos a distribuição de tempo de terapia dialítica conforme categorias definidas para realização de regressão logística simples e múltipla. Apenas 11 pacientes foram vacinados antes de 2017 por morarem previamente em áreas com recomendação de vacinação contra a febre amarela (um paciente no ano de 2002, um paciente em 2004, um em 2009, dois em 2013, um em 2014, dois em 2015 e, por fim, dois pacientes em 2016). Os demais pacientes foram vacinados ao longo dos anos de 2017 e 2018. A distribuição de raças conforme classificação do IBGE foi a seguinte: branca (39,91%), negra (30,05%), parda (29,59%) e amarela (0,45%). Tabagismo e alcoolismo foram identificados, respectivamente, em 11,21% e 19,73% da população.

Quanto às comorbidades, encontrou-se: hipertensão arterial sistêmica (154 pacientes), diabetes mellitus (57 pacientes), neoplasias (quatro pacientes), doenças reumatológicas (cinco pacientes) e insuficiência cardíaca (12 pacientes). As etiologias da doença renal crônica predominantes foram: hipertensão arterial sistêmica, diabetes mellitus e glomerulopatias. Do total de pacientes, 16 deles haviam sido submetidos a transplante renal previamente, sendo que dois deles ainda estavam em uso de drogas imunossupressoras (prednisona, ciclosporina e micofenolato). Havia mais quatro pacientes em uso de drogas imunossupressoras devido doença reumatológica (prednisona, ciclosporina, e micofenolato). Os dados estão detalhados na tabela 3.

Todos os pacientes tinham sorologias negativas contra HIV. Havia dois portadores de hepatite B (0,89%) e dois portadores de hepatite C (0,89%). Dos pacientes que tiveram eventos adversos, apenas um apresentava hepatite C e um apresentava hepatite B. Dos valores observados de AST, apenas um paciente com sorologias negativas que apresentou manifestações sistêmicas gerais teve aumento nos níveis de AST, que chegou a duas vezes o valor de referência no mês seguinte à vacinação. Este mesmo paciente foi o único que teve internação hospitalar em enfermaria, com recuperação completa dos níveis de transaminases em cerca de um mês, não apresentando sequelas.

A parcela que apresentou eventos adversos foi comparada com os pacientes que não apresentaram. Ao realizar a análise univariada, inicialmente seriam fatores preditores para a ocorrência de eventos adversos as seguintes características: pardos (χ^2 = 15,96; $p<0,002$), ter glomerulopatia como etiologia da DRC (χ^2 = 7; $p<0,04$) e fazer uso de drogas imunossupressoras (χ^2 = 5,59; $p<0,033$). No entanto, observamos que o uso de drogas imunossupressoras não explicaria a ocorrência de eventos adversos por apresentar intervalo de confiança (IC) 95% de 0,9-27,84, na análise univariada (tabela 4). Após realização de análise multivariada, observou-se que apenas a raça parda permanece como fator de risco para a ocorrência de eventos adversos (tabela 4).

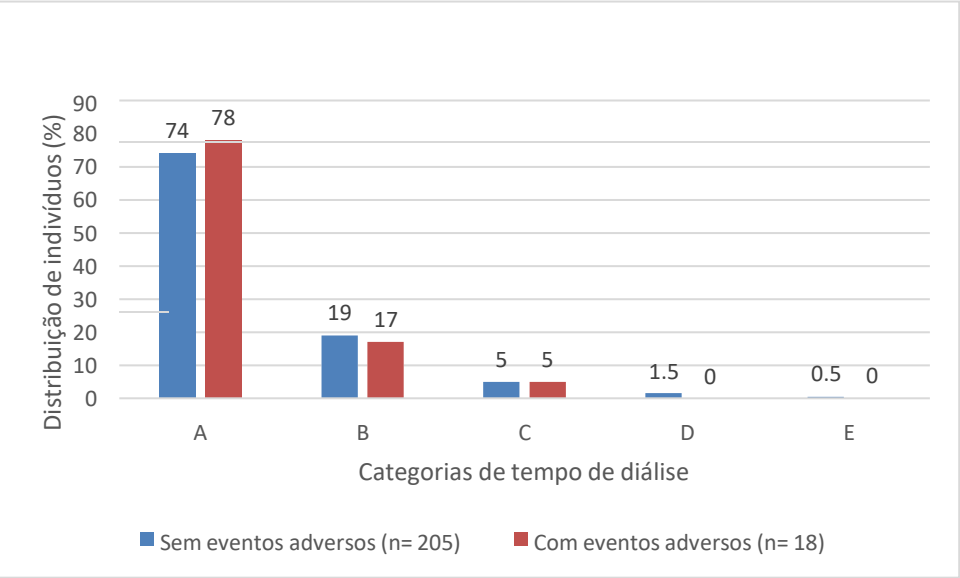
Gráfico 2 – Distribuição de indivíduos avaliados quanto à segurança da vacina conforme idade



Categorias (conforme classificação definida pela Sociedade Brasileira de Nefrologia no censo realizado anualmente):

A) 13-19 anos; B) 20-44 anos; C) 45-64 anos; D) 65-74 anos; E) >75 anos.

Gráfico 3 – Distribuição de invidíduos avaliados quanto à segurança da vacina conforme tempo de diálise



Categorias de tempo de terapia dialítica:

A) 3-9 anos; B) 10-16 anos; C) 17-23 anos; D) 24-30 anos; E) 31-36 anos.

Tabela 3 – Características da população estudada para avaliar segurança da vacinação

Características	Total (223)	Sem eventos adversos (205)	Com eventos adversos (18)	p-valor
Sexo masculino, n (%)	138 (61,88)	129 (62,92)	9 (50)	0,45#
Idade (média em anos)	51,13	51,64	47,17	0,22§
Raça, n (%)				
Branco	89 (39,91)	84 (40,97)	5 (27,78)	0,94#
Negro	67 (30,05)	65 (31,71)	2 (11,11)	0,21#
Pardo	66 (29,59)	55 (26,83)	11 (61,11)	<0,002#
Amarelo	1 (0,45)	1 (0,49)	0	0,77#
Indígena	0	0	0	
Tabagismo, n (%)	44 (19,73)	43 (20,97)	1 (5,55)	0,13#
Alcoolismo, n (%)	25 (11,21)	24 (11,76)	1 (5,55)	0,50#
Comorbidades, n				
HAS	154	140	14	0,4#
Diabetes mellitus	57	55	2	0,51#
Neoplasia*	4	3	1	0,20#
Doenças reumatológicas	5	5	0	0,51#
Insuficiência cardíaca	12	10	2	0,22#
Etiologia da DRC, n				
Glomerulopatias	44	37	7	0,04#
Diabetes mellitus	47	45	2	0,14#
HAS	55	51	4	0,79#
Doença cística	8	8	0	0,40#
Doença congênita	13	13	0	0,28#
Outras	18	17	1	0,75#
Desconhecida	38	34	4	0,34#
Hemodiálise, n (%)	211 (94,62)	193 (94,15)	18 (100)	0,61#
Tempo de diálise, anos	8	5,5	8,2	0,69§
Diálise peritoneal, n (%)	12 (5,38)	12	0	0,61#
Tempo de diálise, anos	5,25	5,25	-	
Transplante renal prévio, n (%)	16 (7,17)	14 (6,83)	2 (11,11)	0,44#
Uso de drogas imunossupressoras, n (%)	6 (2,69)	4 (1,95)	2 (11,11)	0,02#

* Neoplasias encontradas: pele (uma), próstata (uma), rim (uma), reto (uma). Apenas o paciente com neoplasia de pele apresentou evento adverso pós-vacinação.

§ teste regressão logística simples # teste Qui-quadrado

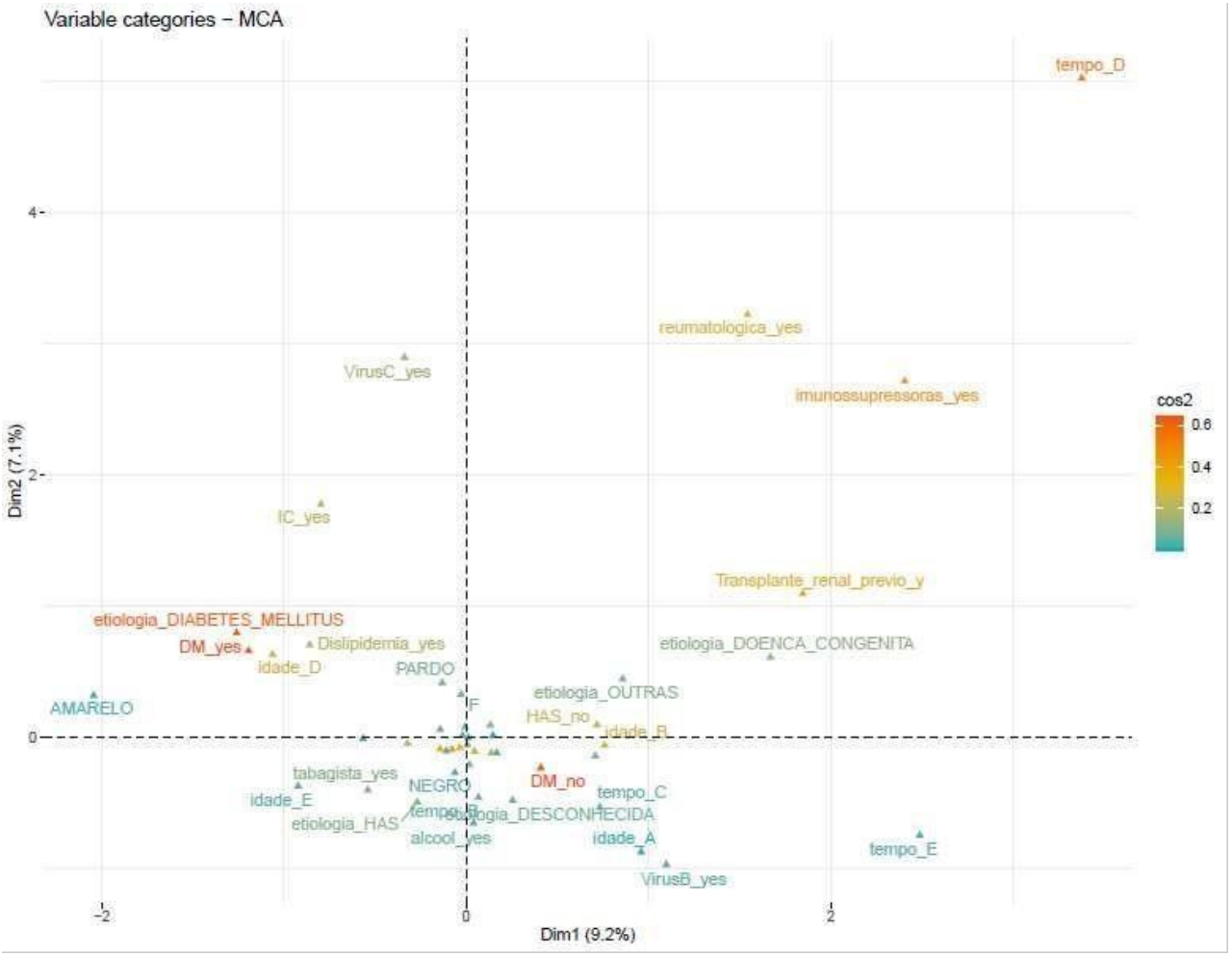
Tabela 4 – Fatores para predição de eventos adversos pós-vacinação em pacientes renais crônicos dialíticos

Características	**Predição para ocorrência de eventos adversos**							
	Análise Univariada				**Análise Multivariada**			
	N	**OR**	**(95%IC)**	**P**	**N**	**OR**	**(95%IC)**	**p**
Raça Parda	11	4,29	1,59-11,61	0,002	223	3,96	1,43-10,94	0,0081
Uso de drogas imunossupressoras	2	5	0,9-27,84	0,04	223	3,36	0,5-22,7	0,21
Glomerulopatia	44	2,89	1,05-7,95	0,033	223	2,49	0,84-7,34	0,099

Razão de chances ajustada para o risco de eventos adversos pós-vacinação. A análise de regressão logística múltipla estimou que a raça parda estaria associada à ocorrência de evento adverso pós-vacinação.

As associações entre os fatores preditores e a ocorrência de EAPV foram apresentadas usando análise de correspondência múltipla (Figura 8 e 9). Identificamos duas dimensões que explicam 16,3% da variância: a primeira é de 7,1% e a segunda de 9,2%. Nesta análise, as associações são interpretadas a partir da distância entre duas variáveis no mesmo quadrante. Quando duas variáveis aparecem na direção semelhante a do centróide, a distância mais próxima refere uma provável associação. Na figura 8, podemos observar que a raça parda encontra-se em um quadrante, enquanto que uso de drogas imunossupressoras e glomerulopatias estão em outro quadrante. Apesar destas características estarem em um único quadrante, observamos que encontram-se bem separadas, não havendo associação entre elas. Ao evidenciar a distribuição dos indivíduos por meio de gráfico de análise de correspondência múltipla, observamos que as características sem efeito significativo estão contidas naquelas com efeito para a ocorrência de EAPV (Figura 9).

Figura 8 - Associação entre variáveis incluídas no modelo de análise de correspondência múltipla



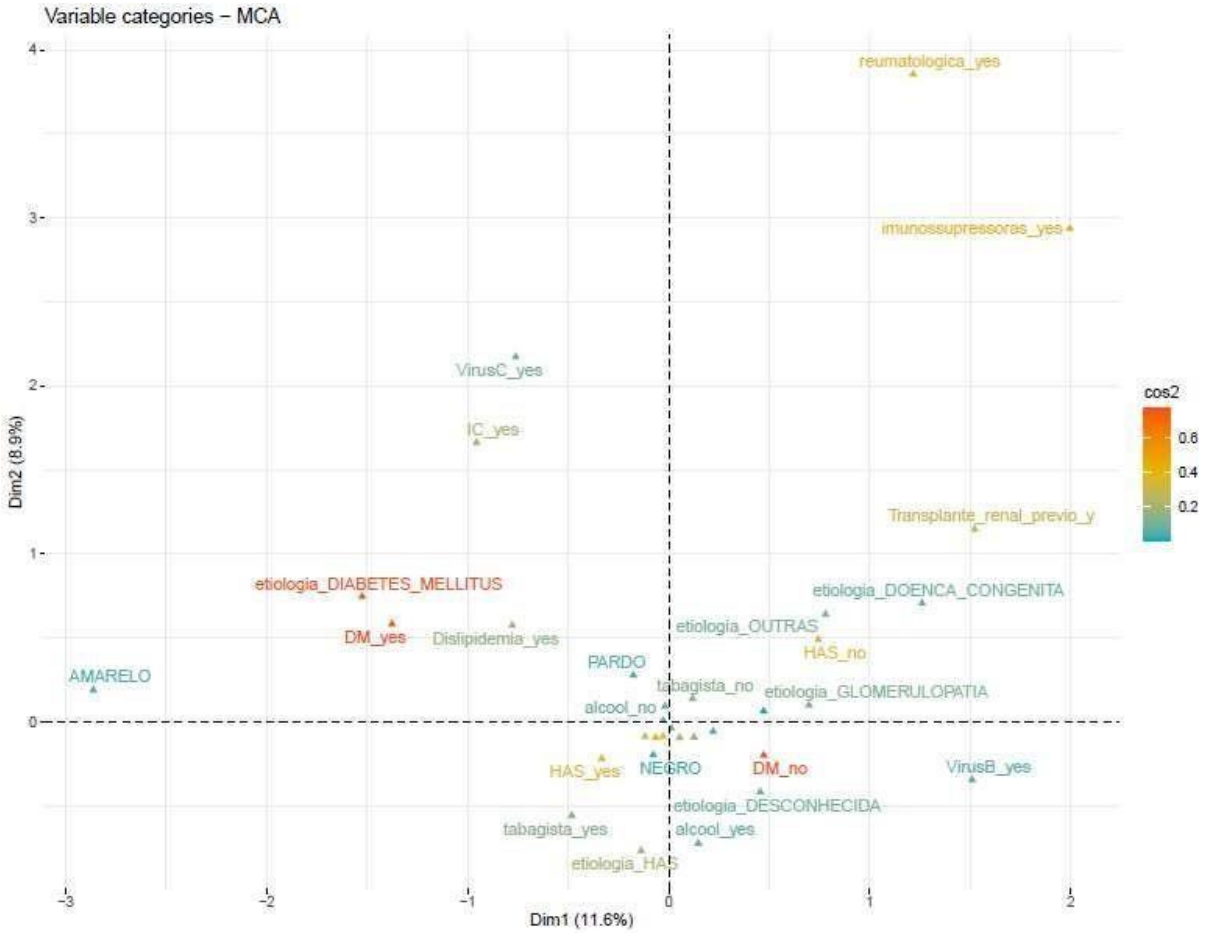
Legenda	
VirusB_yes: sorologia positiva para hepatite B	Idade_A: 13-19 anos
VirusC_yes: sorologia positiva para hepatite C	Idade_B: 20-44 anos
IC_yes: Insuficiência cardíaca	Idade_C: 45-64 anos
DM_yes: portador de diabetes mellitus como comorbidade	Idade_D: 65-74 anos
	Idade_E: >75 anos
Dislipidemia_yes: dislipidemia	Tempo_C: 17-23 anos de terapia dialítica
Tabagista_yes: tabagismo (>20 anos-maço)	Tempo_D: 24-30 anos de terapia dialítica
Etilogia_HAS: Hipertensão arterial sistêmica (etiologida de DRC)	Tempo_E: 31-36 anos de terapia dialítica
	HAS_no: não hipertensos
Álcool_yes: etilismo	Transplante_renal_previo_yes: histórico de transplante renal

Figura 9 – Distribuição dos indivíduos de acordo com análise de correspondência múltipla

Em amarelo estão representados os indivíduos que não apresentaram eventos adversos. As características destes indivíduos são correlacionadas com as demonstradas no gráfico 7. Em azul observamos os indivíduos que não apresentaram eventos adversos. Os indivíduos com eventos adversos estão localizados em pontos diversos do gráfico, demonstrando não haver uma oposição direta com as características daqueles que tiveram eventos adversos. Os círculos em azul e em amarelo demonstram uma aproximação da distribuição de cada grupo. Notamos que o círculo azul está contido no amarelo, o que nos sugere não haver grupos distintos.

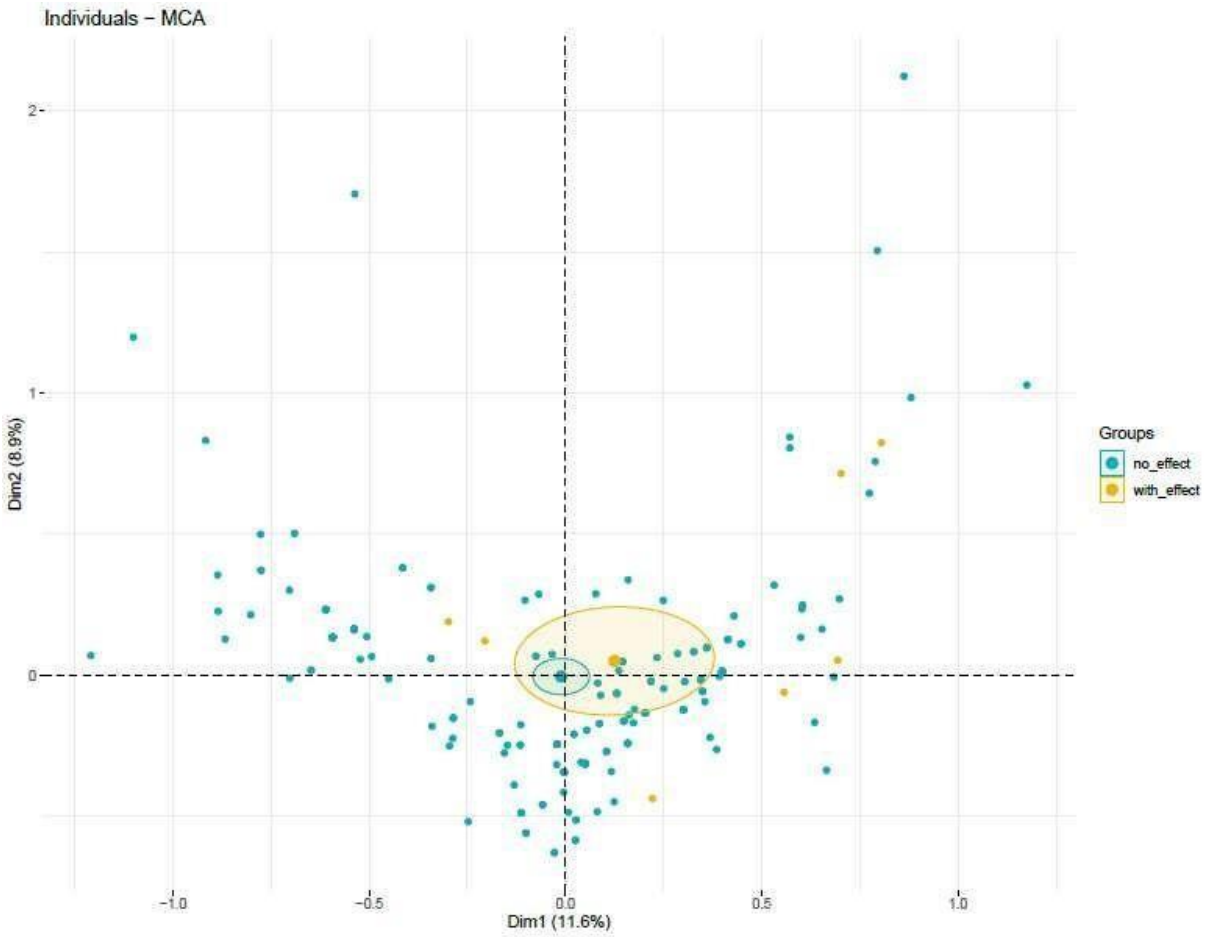
Realizamos ainda uma redução das variáveis categóricas originais que pudessem expressar melhor a distribuição dos dados. Encontramos duas dimensões que explicam 20,5% da variância: a primeira é de 8,9% e a segunda de 9,2%. As mesmas representações descritas para as figuras 8 e 9 são representadas nas figuras a seguir (10 e 11).

Figura 10 - Associação entre variáveis incluídas no modelo de análise de correspondência múltipla reduzida



Legenda	
VirusB_yes: sorologia positiva para hepatite B VirusC_yes: sorologia positiva para hepatite C IC_yes: Insuficiência cardíaca DM_yes: portador de diabetes mellitus como comorbidade Dislipidemia_yes: dislipidemia Tabagista_yes: tabagismo (>20 anos-maço)	HAS_no: não hipertensos Transplante_renal_previo_yes: histórico de transplante renal Álcool_no: não etilista Álcool_yes: etilismo Etilogia_HAS: Hipertensão arterial sistêmica (etiologida de DRC)

Figura 11 – Distribuição dos indivíduos de acordo com análise de correspondência múltipla reduzida



Em amarelo estão representados os indivíduos que não apresentaram eventos adversos. As características destes indivíduos são correlacionadas com as demonstradas no gráfico 9. Em azul observamos os indivíduos que não apresentaram eventos adversos. Os indivíduos com eventos adversos estão localizados em pontos diversos do gráfico, demonstrando não haver uma oposição direta com as características daqueles que tiveram eventos adversos. Os círculos em azul e em amarelo demonstram uma aproximação da distribuição de cada grupo. Notamos que o círculo azul está contido no amarelo, o que nos sugere não haver grupos distintos.

4.2 PRNT

Na amostra total dos 223 pacientes, realizou-se o PRNT em 71, dos quais apenas um apresentou evento adverso (manifestação local). O PRNT foi realizado, em média, 35 meses (tempo mínimo de 20 meses, máximo de 82 meses) após a vacinação (sendo um paciente vacinado em 2013, um paciente vacinado em 2016 e os demais vacinados ao longo dos anos de 2017 e 2018). A idade foi transformada em variável categórica e dividida em categorias conforme as utilizadas pela SBN em seu censo anual. Evidenciamos estes dados no gráfico 4. A distribuição de indivíduos conforme categoria de tempo de diálise está demonstrada no gráfico 5.

Realizamos uma comparação entre o tempo médio de vacinação dos indivíduos com TN <1:20 e TN ≥1:20. O primeiro grupo apresentou tempo médio de 35,3 (±8,15) meses, que foi maior do que aquele do segundo grupo, com tempo médio de 34 (±3,72) meses. Ao compararmos os grupos não foi encontrada diferença significativa, conforme evidenciado no gráfico 6.

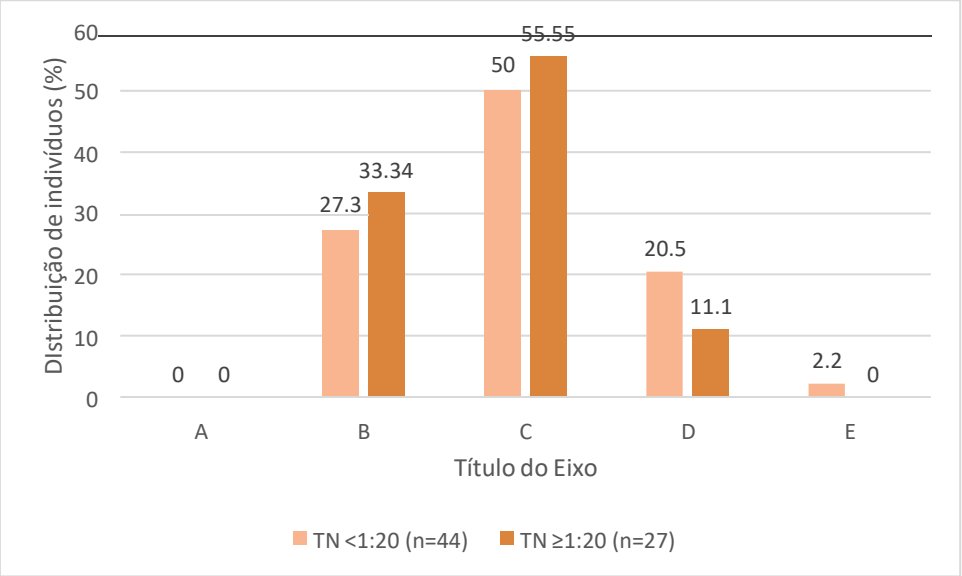
Nesta amostra todos os pacientes tinham sorologias negativas para HIV e hepatite B, e dois pacientes eram portadores de hepatite C, sendo que apenas um apresentou TN ≥1:20. As características desta população estão demonstradas na tabela 5.

Título de neutralização ≥ 1:20 foi considerado adequado para imunização, tendo sido encontrado em 27 pacientes (38% da amostra) em relação às três cepas virais (vírus vacinal, Es504 e 4408). Os dois pacientes vacinados nos anos de 2013 e 2016 não tiveram título de neutralização adequado. Todos os 27 pacientes tiveram TN ≥1:640 para o vírus vacinal e a cepa Es504. Em relação à cepa 4408, 1 paciente teve TN 1: 40, dois pacientes tiveram TN 1:80 e os 68 demais tiveram TN ≥1:640. O único paciente da amostra que estava em uso de droga imunossupressora não apresentou TN ≥1:20.

Utilizamos análise de correspondência múltipla para verificar as associações entre as variáveis na população estudada com a soroconversão pós vacinação. Identificamos duas dimensões que explicam 37,6% da variância: a primeira é de 17,3% e a segunda de 20,3%. Correlacionando as variáveis observadas na Figura 12 com a distribuição dos indivíduos na Figura 13, mais uma vez observamos ma distribuição de indivíduos

bastante aleatória, não apresentando um padrão de grupos em oposição. Representado na cor amarela (Grupo 1), está o grupo que apresentou soroconversão (TN ≥1:20), enquanto que na cor azul (Grupo 0), temos o grupo sem soroconversão (TN <1:20). Os círculos estão representando uma aproximação média da distribuição dos indivíduos. Percebemos que há intersecção entre os grupos, evidenciando não existirem variáveis em oposição.

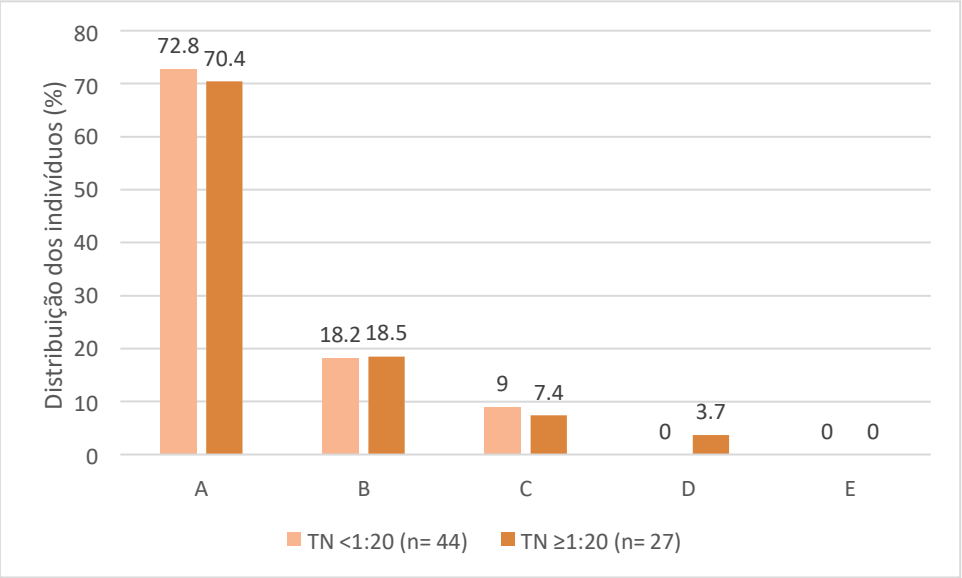
Gráfico 4 – Distribuição de indivíduos avaliados quanto à soroconversão conforme a idade



Categorias (conforme classificação definida pela Sociedade Brasileira de Nefrologia no censo realizado anualmente):

A) 13-19 anos; B) 20-44 anos; C) 45-64 anos; D) 65-74 anos; E) >75 anos.

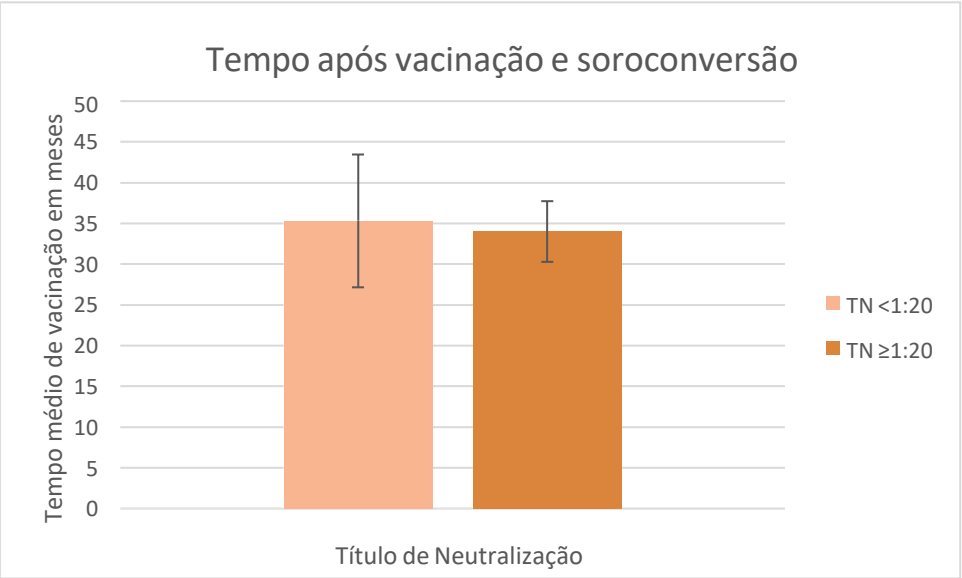
Gráfico 5 – Distribuição de indivíduos avaliados quanto à soroconversão conforme tempo de terapia dialítica



Categorias de tempo de terapia dialítica:

A) 3-9 anos; B) 10-16 anos; C) 17-23 anos; D) 24-30 anos; E) 31-36 anos.

Grafico 6 – Comparação entre soroconversão e tempo de vacinação



Regressão logística simples: $\chi^2 = 0,69$; $p<0,4$

$Z= -0,75$; IC 95% 0,88-1,06; $p=0,45$

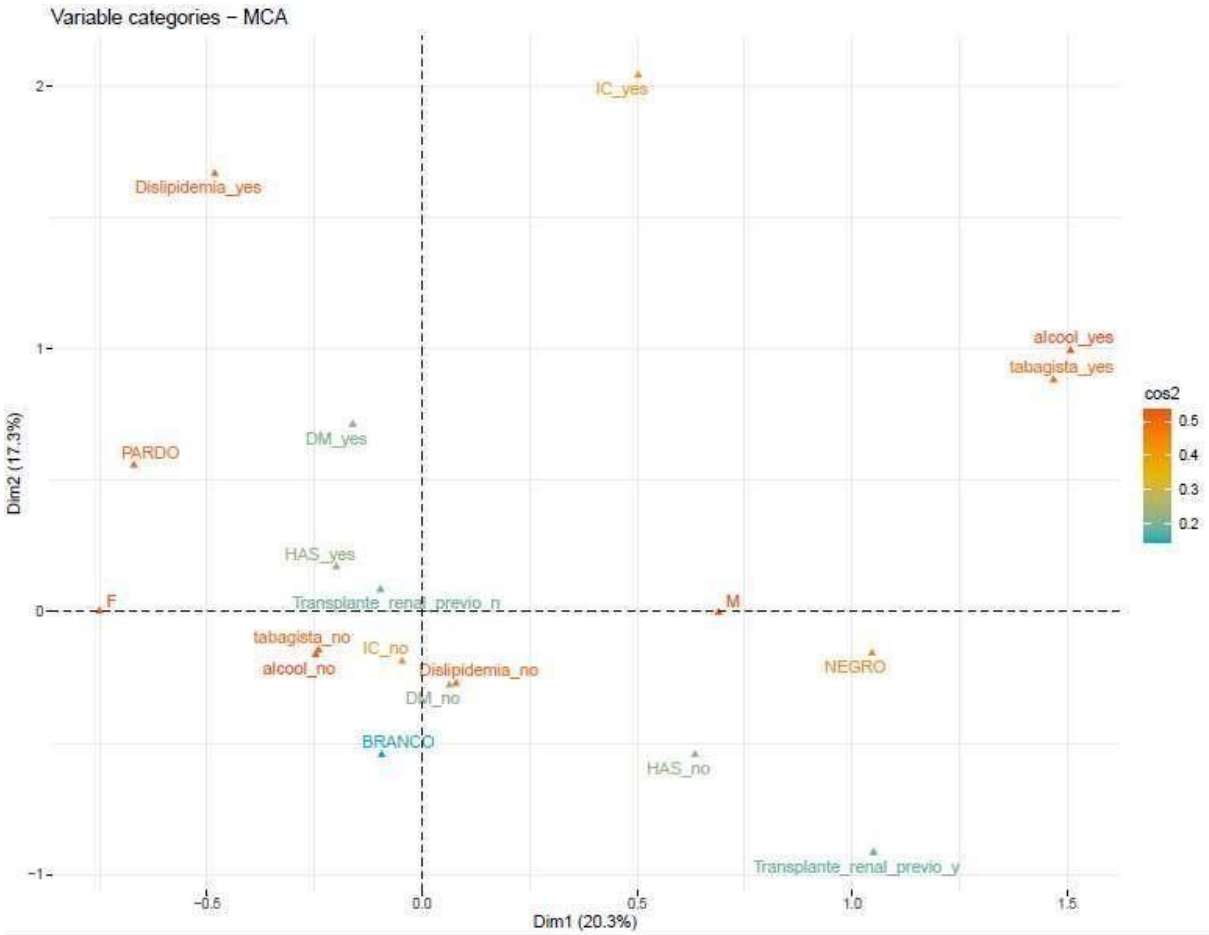
Tabela 5 – Características da população avaliada quanto à soroconversão

Características	**Total (71)**	**TN <1 : 20 (44)**	**TN ≥1 : 20 (27)**
Sexo masculino, n (%)	37 (52,11)	21 (47,72)	16 (59,26)
Idade (média em anos)*	51,08	52,52	48,74
Raça, n (%)			
Branco	23 (32,39)	16	7
Negro	20 (28,17)	11	9
Pardo	28 (39,44)	17	11
Amarelo	0	0	0
Indígena	0	0	0
Tabagismo, n (%)	9 (12,67)	3 (6,82)	6 (22,22)
Alcoolismo, n (%)	10 (14,08)	4 (9,1)	6 (22,22)
Comorbidades, n			
HAS	54	30	24
Diabetes mellitus	20	15	5
Neoplasia	0	0	0
Doenças reumatológicas	2	1	1
Insuficiência cardíaca	6	4	2
Etiologia da DRC, n			
Glomerulopatias	16	9	7
Diabetes mellitus	18	14	4
HAS	17	10	7
Doença cística	5	3	2
Doença congênita	2	2	0
Outras	10	7	3
Desconhecida	5	5	0
Hemodiálise, n (%)	66 (92,96)	41 (93,19)	25 (92,59)
Tempo de diálise, anos*	7,69	7	8,08
Diálise peritoneal, n (%)	5 (7,04)	3 (6,81)	2 (7,41)
Tempo de diálise, anos	9	4	17,5
Transplante renal prévio, n (%)	6 (8,45)	3 (6,81)	3 (1,11)
Uso de drogas imunossupressoras, n (%)	1 (1,41)	0	1 (3,7)

HAS = Hipertensão arterial sistêmica; DRC = Doença renal crônica

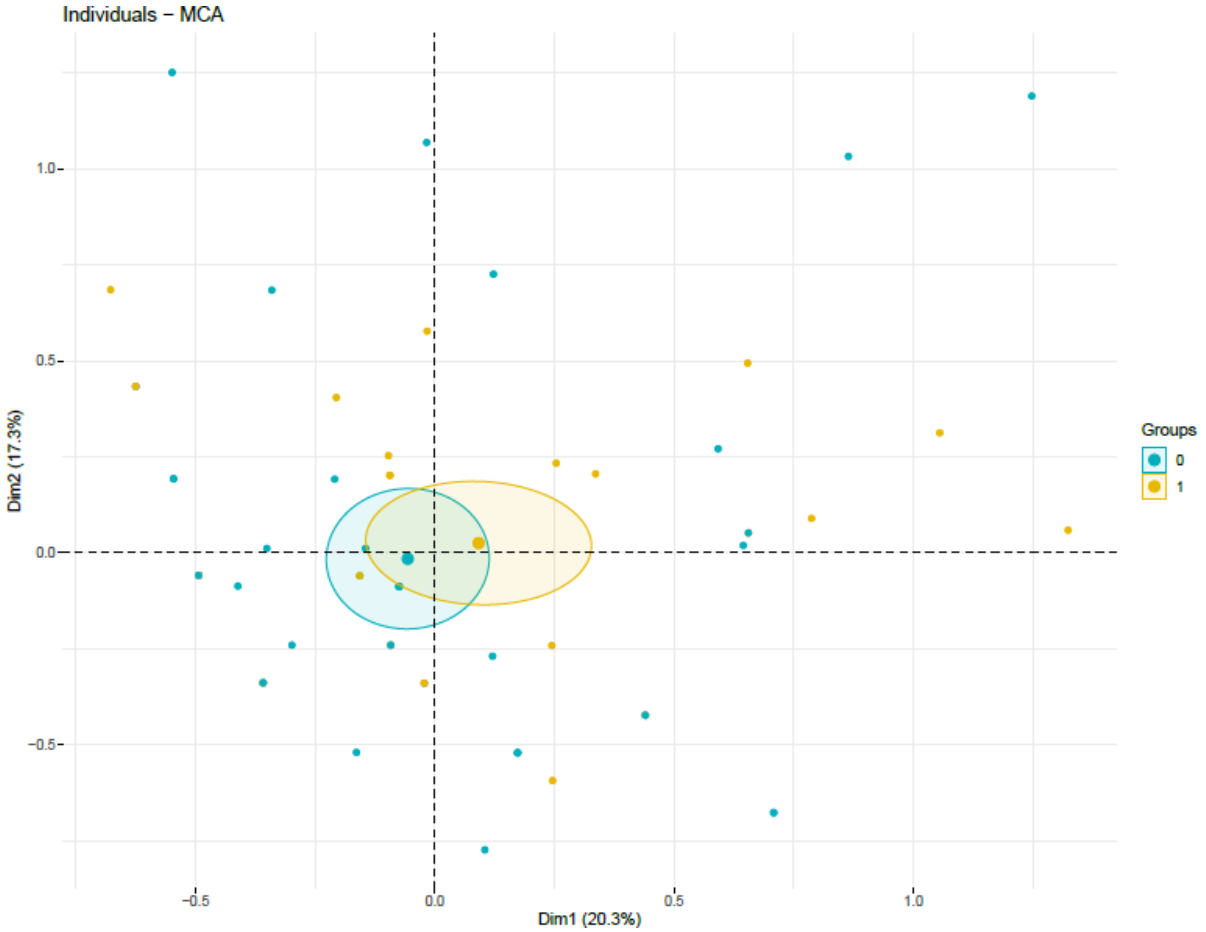
*Idade e tempo de diálise foram transformados em variáveis categóricas para a realização de regressão logística multivariada, conforme descrito a seguir:
Idade (conforme categorias definidas pela Sociedade Brasileira de Nefrologia no censo nacional realizado anualmente): A) 13-19 anos; B) 20-44 anos; C) 45-64 anos; D) 65-74 anos; E) >75 anos.
Tempo de diálise: A) 3-9 anos; B) 10-16 anos; C) 17-23 anos; D) 24-30 anos; E) 31-36 anos

Figura 12 - Associação entre variáveis incluídas no modelo de análise de correspondência múltipla (avaliação quanto à soroconversão)



Legenda	
VirusB_yes: sorologia positiva para hepatite B VirusC_yes: sorologia positiva para hepatite C IC_yes: Insuficiência cardíaca IC_no: sem insuficiência cardíaca DM_yes: portador de diabetes mellitus como comorbidade DM_no: sem DM Dislipidemia_yes: dislipidemia Dislipidemia_no: sem dislipidemia Tabagista_yes: tabagismo (>20 anos-maço)	HAS_no: não hipertensos Transplante_renal_previo_yes: histórico de transplante renal Transplante_renal_previo_n: sem histórico de transplante renal Álcool_no: não etilista Álcool_yes: etilismo Etilogia_HAS: Hipertensão arterial sistêmica (etiologida de DRC) F: sexo feminino M: sexo masculino

Figura 13 – Distribuição dos indivíduos de acordo com análise de correspondência múltipla



Legenda:

Groups (Grupos)

0: TN <1:20

1: TN ≥1:20

Após a avaliação de quais seriam as categorias mais representativas por meio da análise de correspondência múltipla, foi realizada análise multivariada pelo Modelo Linear Generalizado, conforme demonstrado na tabela 6. Nas figuras 14 e 15, estão as representações gráficas do efeito de cada variável para soroconversão adequada.

Tabela 6 – Análise multivaridada por meio de regressão logística múltipla

Variáveis	**Coeficiente**	**Erro padrão**	**Z valor**	**p-valor**
Sexo masculino	0,94	1,67	1,27	0,20
Raça negra	0,36	0,74	0,47	0,64
Raça parda	0,14	0,78	0,18	0,85
Transplante renal prévio	0,05	0,76	0,05	0,96
Etilismo	0,14	1,14	0,14	0,88
Tabagismo	0,87	0,99	0,98	0,32
HAS	2,12	0,88	2,35	0,02
DM	-0,48	0,91	-0,59	0,55
Insuficiência cardíaca	0,35	0,82	0,29	0,77
Dislipidemia	0,18	1,22	0,20	0,84
Idade	-0,04	0,93	-1,34	0,18
Tempo de diálise	0,04	0,03	0,71	0,47

Legenda:

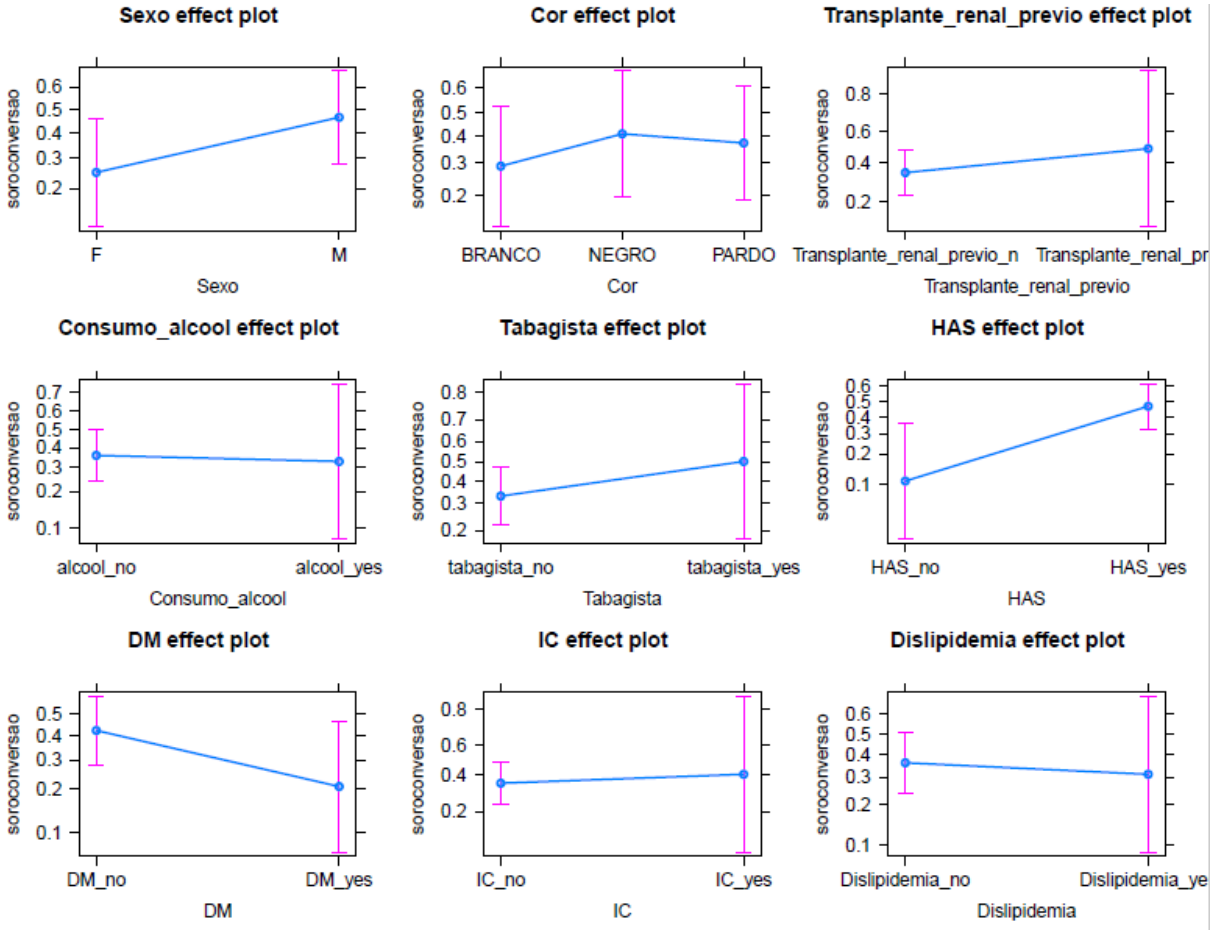
HAS = Hipertensão arterial sistêmica (etiologia de DRC)

DM = Diabetes mellitus (etiologia de DRC)

A hipertensão arterial sistêmica demonstrou ser um fator preditor de soroconversão (Coeficiente= 2,12; p= 0,02).

A seguir, podemos observar nas Figuras 14 e 15, o efeito individual de cada variável, no sentido de verificar se alguma delas aumentaria a probabilidade de soroconversão. Para exemplificar os resultados, citamos sexo e cor. Em relação ao sexo, a probabilidade de soroconversão é de 0,265 (26,5%) para o sexo feminino e de 0,43 (43%) para o sexo masculino. As probabilidades de soroconversão quanto a cor são de: 0,3 para a branca, 0,4 para negros e 0,39 para pardos. Os demais dados são apresentados nos gráficos. Os respectivos intervalos de confiança de 95% estão evidenciados em rosa.

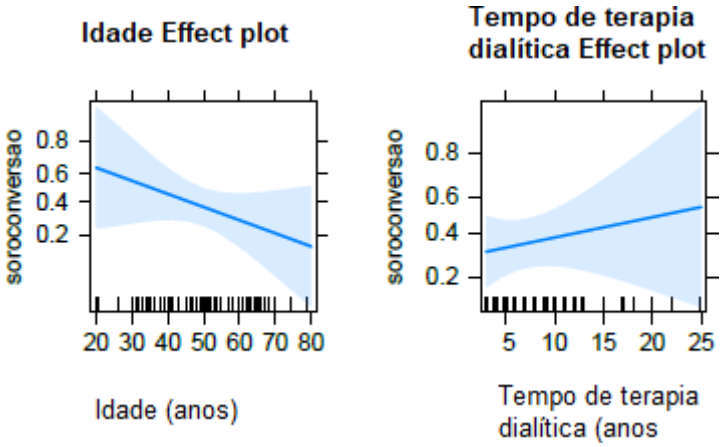
Figura 14 – Gráficos de efeito de variáveis explicativas após ajuste com Modelo Linear Generalizado para estimar o efeito individual de cada variável para soroconversão adequada



Legenda	
Transplante_renal_previo_n: sem histórico de transplante renal Transplante_renal_previo_yes: histórico de transplante renal Álcool_no: não etilista Álcool_yes: etilista Tabagista_no: não tabagista Tabagista_yes: tabagista	HAS_no: não hipertenso HAS_yes: portador de hipertensão arterial sistêmica DM_no: sem diabetes mellitus DM_yes: portador de DM IC_no: sem insuficiência cardíaca IC_yes: portador de insuficiência cardíaca Dislpidemia_no: sem dislipidemia Dislipidemia_yes: portador de dislipidemia

Os intervalos de confiança de 95% estão mostrados em rosa

Figura 15 – Gráficos de efeito de variáveis explicativas após ajuste com Modelo Linear Generalizado para estimar o efeito das variáveis idade e tempo de terapia dialítica.



Os gráficos evidenciam a tendência média de soroconversão de acordo com a idade e o tempo de terapia dialítica, com seus respectivos intervalos de confiança. Os traços evidenciados no eixo X representam observações individuais.

Conforme evidenciado na tabela 6, ao realizar a regressão logística multivariada a HAS foi a única característica com efeito significativo para sonconversão (Coeficiente=2,12; p=0,02), porém com baixo poder explicativo. No entanto, apesar desta variável ter sido significativa, o modelo multivariado não foi muito explicativo porque ele não diferiu do modelo nulo (Teste da razão da máxima verossimilhança; p=0,24).

5. DISCUSSÃO

Este estudo avaliou a segurança e a eficácia da vacinação primária contra a febre amarela em adultos portadores de DRC dialítica. Não foi observado evento adverso grave, sugerindo que a vacina seja segura nesta população. Encontramos uma taxa de soroconversão de 38% em um tempo médio de 35 meses (±7 meses) após a vacinação para as três cepas analisadas.

5.1 Segurança da vacina contra a febre amarela em estado de imunossupressão

No presente estudo, não houve evento adverso grave dentre os 223 indivíduos avaliados. Apenas um paciente ficou internado com manifestações sistêmicas gerais (febre, astenia, dor abdominal e aumento dos níveis de transaminases) e 5,83% dos pacientes apresentaram eventos locais. Ao realizar comparação entre grupos (com e sem eventos adversos), encontramos apenas a raça parda como fator de risco para a ocorrência de eventos adversos mesmo após análise multivariada. Não há explicação, do ponto de vista fisiopatológico, para que indivíduos desta raça apresentem mais eventos adversos. É possível que o aumento do número de participantes fizesse com que este efeito não fosse mais evidenciado. Esperávamos que outras comorbidades podessem influenciar na ocorrência de EAPV, tais como neoplasias, doenças reumatológicas e o uso de drogas imunossupressoras. No entanto, na amostra estudada não havia muitos indivíduos com tais características. Fazemos, a seguir, uma comparação com os dados trazidos pelo Ministério da Saúde e resultados de estudos realizados com indivíduos em estado de imunossupressão. Esses dados iniciais sugerem que a vacina seria segura em renais crônicos dialíticos.

De acordo com dados do Manual de Vigilância de EAPV do MS – 4ª Edição – 2020, a manifestação local mais frequente é a dor, que ocorre em 4% dos adultos. As manifestações gerais mais relatadas são febre, cefaleia e mialgia, que ocorrem em aproximadamente 4% dos primovacinados. O fato das manifestações ocorrerem nos dias subsequentes à vacinação pode ter levado a uma subdetecção de manifestações locais e sistêmicas.

Em relação aos eventos adversos graves, a taxa de anafilaxia no Brasil foi de 0,09 caso por 100 mil doses administradas para o período de 2000 a 2015. No Brasil, no

período entre 2007 e 2021, a incidência de doença neurológica associada à febre amarela foi de 0,17 para cada 100 mil doses administradas. No mesmo período, houve 21 casos de doença viscerotrópica relacionada à vacina contra febre amarela, com taxa de 0,04 caso por 100 mil doses administradas.

Não se sabe qual o mecanismo exato dos eventos adversos graves. Especula-se que a resposta imunológica prejudicada no hospedeiro permitiria uma maior replicação viral, causando esses eventos (Wieten et al, 2016b).

O único estudo que avaliou a segurança da vacina contra a febre amarela em renais crônicos foi realizado na cidade de São Carlos, no estado de São Paulo por Facincani e colaboradores, em 2016. Nesse estudo, 45 pacientes foram vacinados contra febre amarela, sendo relatados eventos adversos em 12. Destes, 11 apresentaram manifestações locais e dois relataram manifestações sistêmicas. Nenhum paciente apresentou evento adverso grave. Seis pacientes, que apresentaram dor, e três pacientes, que tiveram edema, receberam no mesmo dia a vacina anti-pneumocócica. Não foi avaliada a eficácia da vacina.

A vacina contra a febre amarela é contra-indicada em pacientes transplantados, porém foram relatados casos de vacinação inadvertida em transplantados de órgãos sólidos por meio de levantamento feito pela Associação Brasileira de Transplante de Órgãos (Azevedo et al, 2011). Foram levantados dados por meio de questionários enviados a médicos. Doze médicos relataram dezenove casos sem nenhum evento adverso grave. Onze pacientes eram do sexo masculino, com idade média da população de 45 ± 13,6 anos, creatinina de 1,46 ± 0,62 mg/dL, tempo pós-transplante de 65 ± 83,9 meses e tempo pós-vacinação na ocasião da pesquisa de 35±7 meses. Os órgãos recebidos foram: 14 rins, três corações e dois fígados. O tratamento imunossupressor dos pacientes continha: azatioprina (sete pacientes), ciclosporina (oito), deflazacorte (um), micofenolato (10), prednisona (11), sirolimus (três) e tacrolimus (quatro). Cabe ressaltar que estes pacientes já estavam num período de imunossupressão reduzida, porém não é possível realizar estudo nesta população por já existir uma contra-indicação formal à vacinação. É importante garantir a imunossupressão adequada em pacientes renais dialíticos antes da realização do

transplante renal pois, apesar destes poucos resultados aparentemente promissores, não podemos realizar estudos em transplantados com vacina de vívus vivo atenuado.

Outros estudos ainda avaliaram a vacinação em pacientes moderadamente imunocomprometidos. Em 2008, 115 indivíduos portadores de HIV de Mali foram avaliados quanto à presença de eventos adversos graves pós vacinação. Na mesma localidade, a soroconversão nove meses após a vacinação foi verificada em 83 indivíduos. Na época da vacinação, a contagem média de células CD4 era de 389 células / mm^3 e a carga viral estava indetectável em 24 dos 46 pacientes testados (a carga viral não era conhecida em 69 indivíduos). Setenta e seis (92%) de 83 participantes tinham títulos imunológicos adequados (TN ≥1:20). Vacinação anterior ou exposição prévia a outros flavivírus pode ter contribuído para esse achado, visto que o cartão de vacinação foi verificado em apenas 30% da amostra. Contagens de células CD4 mais altas e carga viral indetectável foram associadas a títulos imunológicos adequados e TN mais elevados (Sidibe et al, 2012).

Um estudo realizado no Distrito Federal (Mota, 2007), avaliou 70 pacientes com diagnóstico de doenças reumáticas em uso de imunossupressores que receberam a vacina contra a febre amarela. A amostra era composta majoritariamente pelo sexo feminino (90%), com idade média de 46 anos. Dezesseis pacientes (22,8%) relataram algum efeito adverso, predominando manifestações leves, que incluíam elevação transitória de enzimas hepáticas em duas vezes o valor de referência. Dos oito pacientes em uso de terapia biológica, apenas um teve exantema cutâneo. Não ocorreram EAG, internações hospitalares ou óbito (Mota, 2007).

Um estudo caso-controle realizado em Vitória entre março e julho de 2017 avaliou a segurança e imunogenicidade da vacina 17DD-YF em pacientes com doenças reumáticas e uso de imunossupressores. Foram incluídos pacientes em remissão ou em baixa atividade da doença de base, com baixo nível de imunossupressão ou com sua interrupção. Não houve evento adverso grave. Houve diferença nas taxas de soroconversão entre os pacientes com doenças autoimunes e o grupo controle (78 vs. 96%, $p = 0,04$). Esses resultados apóiam a segurança da vacina nesse grupo de pacientes (Valim et al, 2020).

5.2 Imunogenicidade da vacina contra a febre amarela

A resposta imune ao YFV é complexa. Em até duas semanas após a vacinação, ocorre o pico de anticorpos IgM, que se reduz nos meses seguintes. Já os anticorpos IgG, chamados de neutralizantes e sendo o principal método de proteção, surgem a partir do 7º dia. Além disso, ocorre respostas de células T citotóxicas CD4+ (dia 7) e CD8+ (dia 30) contra as proteínas estruturais E e não estruturais NS1, NS2B e NS3. Também há replicação de células dendríticas e estímulo para produção de citocinas pró-inflamatórias (Barrett & Teuwen, 2009). As células T em conjunto com os anticorpos neutralizantes conferem proteção após infecção por FA, conforme demonstrado em desafio intracerebral em um modelo murino (Bassi et al, 2015).

A imunidade inata é ativada de diversas maneiras. A detecção do vírus vacinal ocorre por meio de receptores imunes inatos, tais como o gene I induzível por ácido retinóico (RIG-I, também conhecido como DDX58), o gene 5, associado à diferenciação de melanoma (MDA5, também conhecido como IFIH1), e os receptores Tolllike 2 (TLR2), TLR7, TLR8 e TLR9. A sinalização através de TLR estimula uma resposta de linfócitos mista, com ativação de perfil TH1 e TH2. Além disso, há indução de diversas respostas antivirais, incluindo proteína quinase ativada por RNA de fita dupla (PKR), 2', 5'-oligoadenilato sintetase 1 (OAS1), induzida por interferon, OAS2, OAS3, OASL, proteína 5 contendo motivo tripartido (TRIM5) e componentes da cascata do complemento, como C1Qb. O fator de iniciação da tradução eucariótica 2 alfa quinase 4 (EIF2AK4), uma proteína codificada por um gene conhecido por ser central para a resposta integrada ao estresse, prediz a manigtude da resposta de células TCD8+. Outras proteínas também predizem a manigtude de resposta CD8+, tais como calreticulina e proteína dissulfeto. De acordo com a resposta ao estresse, o vírus vacinal induz a fosforilação do fator de iniciação de alongamento 2α (EIF2α) e a formação de grânulos de tensão. Ocorre também estímulo para a superfamília de receptores de TNF, receptor 17 (TNFRSF17), e um receptor para BAFF (também conhecido como TNFSF13B), que é conhecido por regular as respostas das células B (Pulendran, 2009).

A resposta do sistema imune inato tem papel fundamental na determinação da força e qualidade do sistema adaptativo. YF-17D ativa vários subconjuntos de células

dendríticas mieloides e células plasmocitóides por meio de TlR2, TlR7, TlR8 e TlR9, resultando na produção de citocinas pró-inflamatórias (Pulendran, 2009). Não se sabe exatamente quais componentes virais que desencadeiam esses TIR (Takeuchi & Akira, 2009).

A raridade de ocorrência de eventos adversos graves dificulta o estudo dos possíveis mecanismos envolvidos (Pulendran, 2009). No entanto, aparentemente, a causa não seria a presença de mutações genéticas, pois vírus isolados de pacientes com eventos graves tinham a mesma sequência que a cepa vacinal original (Galler et al, 2001). Viremia aumentada e persistente, linfócitos CD8+ específicos aumentados, respostas de anticorpos, altos níveis de interleucinas, polimorfismos genéticos em receptor de quimiocinas e seus ligantes (que influenciam a migração de células T efetoras e monócitos aos tecidos) sugerem influência da resposta imune inata nos eventos adversos graves (Pulendran, 2009).

A vacina contra a febre amarela é altamente imunogênica, conferindo imunidade eficaz em 10 dias para 80-100% das pessoas e, em 30 dias, para mais de 99% das pessoas após uma única dose. Nos estudos apresentados, notamos que a taxa de soroconversão em pacientes com HIV foi semelhante (92% - Sidibe, 2012), em pacientes com doenças autoimunes foi reduzida (78% - Valim, 2020) e foi bem reduzida na população do presente estudo (38%). No estudo de Sidibe et al, dos 83 pacientes submetidos ao PRNT, 16 não foram avaliados quantos aos níveis de CD4 e, entre os outros 67, apenas oito (12%) tinham CD4 abaixo de 200. Este grupo foi o que teve menor taxa de soroconversão (75%). Já no estudo de Valim et al, os participantes estavam com a doença de base em remissão ou com baixos níveis de imunossupressão.

No presente estudo, encontramos uma taxa de soroconversão de 38% em um tempo médio de 35 meses após a primovacinação. Observamos que a média de tempo foi um pouco maior no grupo sem soroconversão (35,3 meses x 34 meses), porém não houve diferença significante. Comparando com dados da população geral, já foi citado que, em até 30 dias, 99% das pessoas apresentam TN adequados. Em relação à persistência da imunidade, encontramos estudos com dados da neutralização em tempos distintos. Após 30 anos da vacinação, foram encontrados anticorpos

neutralizantes com TN >1:8 em 72,8%; e com TN >1:16 em 64,1% de veteranos da Segunda Guerra Mundial (Poland et al, 1981). Em 1963, Rosenzweig et al relataram que 100% de 24 fuzileiros navais e da marinha aposentados apresentavam anticorpos neutralizantes 16 a 19 anos após a vacinação. Niedrig et al relataram, em 1999, que 94% dentre 209 indivíduos tiveram TN >1:10 após um ano, havendo queda para 74,5% após 10 anos. Um estudo com 84 pessoas com mais de 60 anos (mediana de idade 69 anos, idade máxima de 89 anos). A data da vacinação era conhecida em 68 dos indivíduos (81%), com tempo médio de vacinação de 14 anos (variando entre 10 a 60 anos). Os demais apenas relataram vacinação há mais de 10 anos. Título >1:10 (mediana de 1:40) foram encontrados em 95% dos casos. Vale ressaltar que nesta amostra dois indivíduos apresentavam DRC dialítica e ambos apresentavam títulos protetores, porém este número é muito baixo para qualquer comparação (Coulange et al, 2011).

Conforme observado, diversos estudos utilizam TN >1:10 como ponto de corte. Se fosse considerado um ponto de corte >1:20, poderia haver queda no percentual de pessoas com soroproteção adequada em alguns casos, porém nem todos os estudos trazem estes dados. No estudo de Coulange *et al*, por exemplo, considerando um título >1:20, o percentual de vacinação adequada cai para cerca de 72%. Em nosso estudo, no entanto, todos os indivíduos que apresentavam TN >1:10 permaneceram com títulos >1:20.

Apesar da consideração de que apenas uma dose da vacina é suficiente para conferir proteção por toda a vida, existe uma queda nos títulos de anticorpos com o tempo da imunização (Gómez & Ocazionez, 2008). Aliado a isto, sabe-se que renais crônicos apresentam pico de produção de anticorpos menor, o que poderia justificar o percentual de soroproteção encontrada em 38%. Caso o PRNT tivesse sido realizado em período mais precoce, seria possível encontrarmos um nível de soroproteção mais elevado. Não há estudo com a mesma população na literatura para comparação, no entanto já se sabe que para outras vacinas as taxas de soroconversão são reduzidas.

Em relação à vacina contra hepatite B, por exemplo, verificou-se que a vacinação antes de iniciar terapia dialítica confere taxas de soroconversão maiores. Para pacientes em diálise, a recomendação varia conforme a vacina: quatro doses de 40

µg de Engerix B R, três doses de Recombivax HB R ou quatro doses de 20 µg de Fendrix R (diferindo da população geral, em que o esquema é composto por três doses, independentemente da vacina). Mesmo assim, os estudos encontraram taxas de soroconversão variando entre 66 e 97,6%, sendo necessário reiniciar o esquema quando os títulos de anticorpos estão abaixo de 10 UI/l. Em relação à vacina contra influenza, recomenda-se vacinação anual na dose habitual de 15 µg, apesar de taxas reduzidas de soroconversão, que variam de 36 a 79% na literatura. Outro exemplo seria a vacina de vírus inativados contra a poliomielite, que mostrou-se segura em estudo com 49 paciente renais crônicos dialíticos e com taxa de soroconversão de 86%.

O PRNT é o método de referência para avaliação de resposta vacinal. Ele utiliza o próprio vírus vacinal para verificar soroconversão. Neste estudo, utilizamos a cepa vacinal e duas cepas selvagens (4408 e Es504), tendo resultados bastante semelhantes. Todos os 27 pacientes tiveram títulos maiores que 1:20 para as três cepas virais. A cepa IEC-4408 foi isolada de bugio *Alouatta sp*, no Rio Grande do Sul, na epidemia de 2008, enquanto a cepa ES-504/BRA/2017 foi isolada de macaco bugio de Domingos Martins, Espírito Santo. Esta cepa apresentou polimorfismos relacionados a replicação viral, com potencial para acelerar a propagação de um surto em curso. Na ocasião, surgiu uma preocupação sobre a eficácia da vacina perante esta nova cepa. No entanto, observamos que os títulos de PRNT foram de pelo menos 1:640 em todos os 27 pacientes para o vírus vacinal e a cepa ES-504. Em relação à cepa 4408, um paciente teve TN de 1:40 e dois pacientes tiveram TN de 1:80.

5.3 Disfunção imune na doença renal crônica

A disfunção imune na doença renal crônica prejudica a resposta vacinal, com menores taxas de soroconversão, pico mais baixo de títulos de anticorpos e rápido declínio dos títulos quando comparado com indivíduos saudáveis. Os defeitos na imunidade resultam em alterações na imunidade inata e na adaptativa. Há redução da atividade fagocitária celular, alterações nos receptores de reconhecimento celular, contagem reduzida de células B e T e níveis elevados de citocinas. Existe uma relação inversa entre a taxa de filtração glomerular e os níveis de citocinas. As possíveis causas para

aumento de citocinas são: menor depuração renal, aumento da permeabilidade do intestino, periodontite e estresse oxidativo da uremia.

De modo geral, em indivíduos com imunodeficiência de células T, há risco teórico de replicação viral após vacinação com vírus vivo atenuado. A vacina contra a febre amarela pode causar doença viscerotrópica ou neurológica em indivíduos com doenças do timo ou após timectomia, em bebês ou em adultos com mais de 60 anos. Isto justifica a contra-indicação da vacina nestes indivíduos e em outros imunossuprimidos, tais como transplantados, portadores de neoplasias, pessoas em uso de drogas imunossupressoras e gestantes. Em relação à doença renal crônica, a recomendação até o momento é de que haja cautela na indicação da vacina, cabendo ao médico assistente indica-la ou não, por serem escassos os dados na literatura. Nossos resultados sugerem que a vacina é segura em renais crônicos dialíticos, mesmo em indivíduos com mais de 60 anos. Nossa amostra foi composta por 69 pacientes com idade maior ou igual a 60 anos. Destes, quatro pacientes tinham idade maior ou igual a 80 anos (idade máxima de 87 anos). Apenas cinco pacientes tiveram eventos adversos locais, com idade mínima de 63 anos e máxima de 68 anos.

5.4 Limitações do estudo

Este estudo apresenta algumas limitações. A primeira a ser citada foi a seleção dos pacientes para participar no estudo. A amostra foi composta por indivíduos da região da Grande Vitória e do Norte do Espírito Santo. Ou seja, não havia representantes de todo o Estado. Não foi possível realizar o PRNT em toda a amostra participante da primeira etapa. No entanto, ao compararmos a população inicial do estudo (223 pacientes) com os dados apresentados pela Sociedade Brasileira de Nefrologia (SBN) referente ao censo nacional em 2018, observamos que há semelhança com as características de pacientes com DRC em diálise no Brasil. Em relação à faixa etária, 45 a 64 anos, foi observada em 48,88% de nossa amostra, enquanto que abrangia 41,5% da população de DRC em nível nacional. Ainda acima de 65 anos temos 18,83, em contraste com 35% (SBN). Quanto ao sexo, 61,88% da presente amostra foi composta pelo sexo masculino, em comparação a 58% dos dados nacionais. As três principais etiologias citadas foram DM (31% x 21,07%), HAS (34% x 24,66%) e GNC (9% x 19,73%). A prevalência de sorologias positivas no presente estudo e na amostra

naciona foram, respectivamente: para o HIV, 0% e 0,9%; para a hepatite B 0,89% e 0,7% e, para a hepatite C, 0,89% e 3,2%, para os dados da presente amostra e da amostra nacional. Em relação aos métodos de terapia renal substitutiva houve 7,04% dos pacientes em diálise peritoneal e 92,96% em hemodiálise neste estudo, enquanto que, no Brasil, temos 7,8% dos pacientes em diálise peritoneal e 92,2% em hemodiálise.

O fato de não ter sido o levantamento de EAPV realizado imediatamente após a vacinação pode ter subestimado os dados. No entanto, o ponto mais importante a ser destacado é o fato de não termos encontrado eventos adversos graves na amostra estudada. Não avaliamos também a imunidade celular, que também contribui para a resposta pós-vacinação.

5.5 Perspectivas

No presente estudo, verificamos que a estratégia de dose única contra a FA não foi capaz de induzir taxas de soroconversão semelhantes àquelas da população geral. São necessários novos estudos para determinar qual seria o melhor esquema vacinal para renais crônicos dialíticos. Já foi demonstrado que o reforço vacinal não eleva os títulos de anticorpos específicos para FA, não aumenta a frequência de células TCD8+ e não altera o fenótipo dessas células (Wieten et al, 2016a). Este estudo, no entanto, foi realizado em uma população de 105 adultos saudáveis. Como descrito acima para outras vacinas, em imunossuprimidos há menor pico de anticorpos e queda mais acentuada com o tempo. Sendo assim, é possível que seja necessário um reforço vacinal. Outra possibilidade seria avaliar os títulos de anticorpos após diferentes doses da vacina e acompanhar, ao longo do tempo, se ainda haveria anticorpos detectáveis e células T de memória específica para FA.

Durante surtos de febre amarela, havendo maior demanda de vacina e dificuldade de produção para contê-lo, poder-se-ia usar até um quinto da dose, segundo recomendação da OMS. Devido a ausência de estudos avaliando se esta dose conferiria proteção a longo prazo, a OMS recomenda que a dose padrão seja administrada posteriormente. No entanto, um estudo realizado com adultos sem imunossupressão vacinados com diferentes doses da vacina contra a febre amarela,

sem dose de reforço, concluiu que doses acima de 577 UI (cerca de 2,1% da dose completa de 27.476 UI) geraram taxas de soropositividade satisfatórias em até oito anos após a vacinação (da Costa-Rocha et al, 2019). Não seria prudente aplicar doses fracionadas em renais crônicos, visto que nem a dose padrão foi capaz de conferir proteção adequada.

6. CONCLUSÃO

A vacina contra a febre amarela parece ser segura em renais crônicos dialíticos, visto não termos encontrado nenhum evento adverso grave na população estudada. As frequências encontradas para manifestações locais e sistêmicas foram semelhantes àquelas relatadas para a população geral no Manual de Vigilância de EAPV.

A imunossupressão característica da doença renal crônica deve explicar a baixa taxa de soroconversão apresentada pela população estudada, que foi de 38% em um tempo médio de 35 meses após a vacinação. A maior parte dos estudos demonstram que a maioria dos invidíduos permanece com títulos de neutralização adequado mesmo após 30 anos de vacinação.

Novos estudos são necessários para avaliar qual seria o esquema vacinal adequado em renais crônicos dialíticos capaz de conferir eficácia semelhante à da população geral. Possibilidades a serem avaliadas seriam uma dose única mais elevada ou esquemas que contenham um ou mais reforços vacinais.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Azevedo LS, Lasmar EP, Contieri FL, Boin I, Percegona L, Saber LT, Selistre LS, Netto MV, Moreira MC, Carvalho RM, Bruno RM, Ferreira TC, David-Neto E. Yellow fever vaccination in organ transplanted patients: is it safe? A multicenter study. Transpl Infect Dis. 2012 Jun;14(3):237-41.

Barnett ED. Yellow Fever: Epidemiology and Prevention, Clinical Infectious Diseases. 2007 March; 44 (6): 850-856.

Barrett AD. Yellow fever vaccines. Biologicals. 1997 Mar; 25(1):17-25.

Barrett ADT, Teuwen DE. Yellow fever vaccine – how does it work and why do rare cases of serious adverse events take place? Curr Opin Immunol. 2009; 21:308–313.

Bassi MR, Kongsgaard M, Steffensen MA, Fenger C, Rasmussen M, Skjødt K, et al. CD8+ T-cells complement antibodies in protecting against yellow fever virus. J Immunol. 2015; 194: 1141–1153.

Bonaldo MC, Garratt RC, Freire, MS & Galler R. Expression of foreign protein epitopes at the surface of recombinant yellow fever 17D viruses based on three-dimensional modeling of its envelope protein. Cell Biochem Biophys 2006; 44(3):313-24.

Bonaldo MC, Gómez MM, dos Santos AA, Abreu FVS, Ferreira-de-Brito A et al. Genome analysis of yellow fever virus of the ongoing outbreak in Brazil reveals polymorphisms. Mem Inst Oswaldo Cruz 2017;112:447–451.

Bryant JE, Holmes EC, Barrett AD. Out of Africa: a molecular perspective on the introduction of yellow fever virus into the Americas. PLoS Pathog. 2007; 3(5): e 75.

Camara FP, Gomes AL, Carvalho LM, Castello LG. Dynamic behavior of sylvatic yellow fever in Brazil (1954-2008). Rev Soc Bras Med Trop 2011;44:297–9.

Calisher CH, Beaty BJ, Chandler LJ. Arboviruses. In: Lennette EH & Smith TF, editors. Laboratory diagnosis of viral infections. 3nd. ed. New York: Marcel Dekker, Inc; 1999. p.305-32.

Chambers TJ, Hahn CS, Galler R, Rice CM. Flavivirus genome organization, expression, and replication. Annual Reviews of Microbiology 1990; 44:649-88.

Costa ZGA, Romano APM, Elkhoury ANM, Flannery B. Evolução histórica da vigilância epidemiológica e do controle da febre amarela no Brasil. Rev Pan-Amaz Saúde 2011; 2:11-26.

Coulange BH, Benabdelmoumen G, Gergely A, Goujon C, Pelicot M, Poujol P, Consigny PH. Long term persistence of yellow fever neutralizing antibodies in elderly persons. Bull Soc Pathol Exot 2011; 104: 260–265

da Costa-Rocha IA, Campi-Azevedo AC, Peruhype-Magalhães V, Coelho-Dos-Reis JG, Fradico JRB, Souza-Lopes T, Reis LR, Freire LC, Costa-Pereira C, Mambrini JVM, Maia MLS, de Lima SMB, de Noronha TG, Xavier JR, Camacho LAB, de Albuquerque EM, Farias RHG, de Castro TDM, Homma A, Romano APM, Domingues CM, Martins RM, Teixeira-Carvalho A, Martins-Filho OA. Duration of Humoral and Cellular Immunity 8 Years After Administration of Reduced Doses of the 17DD-Yellow Fever Vaccine. Front Immunol. 2019 Jun 21;10:1211.

de Melo AB, da Silva Mda P, Magalhaes MC, Gonzales Gil LH, Freese de Carvalho EM, Braga-Neto UM, Bertani GR, Marques ET, Jr, Cordeiro MT. Description of a prospective 17DD yellow fever vaccine cohort in Recife, Brazil. Am J Trop Med Hyg. 2011;85:739–747.

de Souza RP, Foster PG, Sallum MA, Coimbra TL, Maeda AY, Silveira VR, et al. Detection of a new yellow fever virus lineage within the South American genotype I in Brazil. J Med Virol. 2010; 82(1): 175-85.

Facincani T, Guimarães MNC, De Souza Dos Santos S. Yellow fever vaccination status and safety in hemodialysis patients. International Journal of Infectious Diseases 2017 Jul; 48: 91-5.

Febre amarela. 2018. Disponível em: https://saude.es.gov.br/febre-amarela. Acesso em 09 de agosto de 2018.

Febre amarela: Espírito Santo mantém vacinação contra a doença. 2018. Disponível em: https://www.es.gov.br/Noticia/febre-amarela-espirito-santo-mantem-vacinacao-contra-a-doenca. Acesso em novembro de 2018.

Galler R, Pugachev KV, Santos CL, Ocran SW, Jabor AV, Rodrigues SG, et al. Phenotypic and molecular analyses of yellow fever 17DD vaccine viruses associated with serious adverse events in Brazil. Virology. 2001 Nov 25; 290(2):309- 192

Gómez, MM et al. “Genomic and structural features of the yellow fever virus from the 2016-2017 Brazilian outbreak.” The Journal of General virology 2018 Apri; 99 (4): 536-548.

Gómez SY, Ocazionez RE. Anticuerpos neutralizantes contra el virus de la fiebre amarilla 17 D en colombianos vacunados y no vacunados con inmunidad a dengue [Yellow fever virus 17D neutralising antibodies in vaccinated Colombian people and unvaccinated ones having immunity against dengue]. Rev Salud Publica (Bogota). 2008 Nov-Dec;10(5):796-807.

Gotuzzo E, Yactayo S, Córdova E. Efficacy and duration of immunity after yellow fever vaccination: systematic review on the need for a booster every 10 years. Am J Trop Med Hyg. 2013 Sep; 89(3):434-44.

Guidelines for Vaccinating Kidney Dialysis Patients with Chronic Kidney Disease December 2012. Last review jul 2015.

Hombach J, Solomon T, Kurane I, Jacobson J, Wood D. Report on a WHO consultation on immunological endpoints for evaluation of new Japanese encephalitis vaccines, WHO, Geneva, 2–3 September, 2004. *Vaccine.* 2005;23:5205–5211

Janus N, Vacher LV, Karie S, Ledneva E, Deray G. Vaccination and chronic kidney disease. Nephrology Dialysis Transplantation 2008 March: 23 (3): 800-807.

Julander JG, Trent DW, Monath TP. Immune correlates of protection against yellow fever determined by passive immunization and challenge in the hamster model. Vaccine. 2011; 29:6008–6016.

Kato S, Chmielewski M, Honda H, Pecoits-Filho R, Matsuo S, Yuzawa Y, et al. Aspects of immune dysfunction in end-stage renal disease. Clin J Am Soc Nephrol 2008; 3:1526–33.

Lee E, Lobigs M. E protein domain III determinants of yellow fever virus 17D vaccine strain enhance binding to glycosaminoglycans, impede virus spread, and attenuate virulence. J Virol. 2008 Jun; 82(12):6024-33.

Lindenbach BD & Rice CM. Flaviviridae: the viruses and their replication. In: Knipe DM & Howley PM, editors. Virology. 4nd. ed. Philadelphia: Lippincott Willians & Wilkins; 2001. p.991-1041.

Lower doses of yellow fever vaccine could be used in emergencies.2016. Disponível em:https://www.who.int/news/item/17-06-2016--lower-doses-of-yellow-fever-vaccine-could-be-used-in-emergencies. Acesso em janeiro de 2021.

Martins RM, Leal MLF, Homma A. Serious adverse events associated with yellow fever vaccine. Hum Vaccin Immunother 2015; 11:2183- 7

Ministério da Saúde. Manual de Vigilância Epidemiológica de Eventos Adversos Pós-Vacinação, 4. ed. - Brasília: Ministério da Saúde, 2021.

Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Febre amarela: guia para profissionais de saúde, 1. ed. – Brasília: Ministério da Saúde, 2017.

Ministério da Saúde do Brasil. Yellow fever vaccine for all Brazilians. Brasília, DF; c2018. about 15 screens [Online]. Disponível em: http://portalarquivos2.saude.gov.br/images/pdf/2018/marco/20/Ampliacao-Febre-Amarela.pdf e http://portalms.saude.gov.br/o-ministro/920-saude-de-a-a-z/febre-amarela/10771-vacinacao-febre-amarela. Acesso em 21/03/19.

Monath TP, Arroyo J, Levenbook I, Zhang ZX, Catalan J, Draper K, et al. Single mutation in the flavivirus envelope protein hinge region increases neurovirulence for mice and monkeys but decreases viscerotropism for monkeys: relevance to development and safety testing of live, attenuated vaccines. J Virol. 2002 Feb;76(4):1932-43.

Monath TP, Cetron MS, Teuwen DE. Yellow Fever Vaccine. In: Elsevier S, editor. Vaccines 2008. p. 959 - 1056.

Monath TP. Yellow fever vaccine. In: Plotkin S, Orenstein WA, editors. Vaccines. 4nd. ed. Phildelphia: Elsevier; 2004. p.1095-1176.

Mota LMH, Oliveira ACV, Lima RAC, dos Santos-Neto LL, Tauil PL. Vacinação contra febre amarela em pacientes com diagnósticos de doenças reumáticas, em uso de imunossupressores. Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical. 2009. 42 (1): 23-27.

Noronha TGC, Camacho LAB. Controvérsias sobre a ampliação das áreas com vacinação de rotina contra a febre amarela no Brasil. Cadernos de Saúde Pública. 2017. 33 (10).

Nickells J, Cannella M, Droll DA, Liang Y, Wold WS, Chambers TJ. Neuroadapted yellow fever virus strain 17D: a charged locus in domain III of the E protein governs heparin binding activity and neuroinvasiveness in the SCID mouse model. J Virol. 2008 Dec;82(24):12510-9.

Niedrig M, Lademann M, Emmerich P, Lafrenz M. Assessment of IgG antibodies against yellow fever virus after vaccination with 17D by different assays: neutralization test, haemagglutination inhibition test, immunofluorescence assay and ELISA. Trop Med Int Health. 1999; 4: 867–871.

Nunes MR, Palacios G, Cardoso JF, Martins LC, Sousa Jr EC, de Lima CP, et al. Genomic and phylogenetic characterization of Brazilian yellow fever virus strains. J Virol. 2012; 86(24): 13263-71.

Padrões de consumo de álcool. Disponível em: http://www.cisa.org.br/artigo/4405/padroes-consumo-alcool.php. Acesso em: novembro de 2018.

Petruccelli JL e Saboia AJ. Características Étnico-raciais da População. Brasil: Ministério do Planejamento, Orçamento e Gestão, Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística - IBGE, 2013.

Poland JD, Calisher CH, Monath TP, Downs WG, Murphy K. Persistence of neutralizing antibody 30–35 year(s) after immunization with 17D yellow fever vaccine. Bull World Health Organ. 1981; 59: 895–900.

Prata A. Yellow fever. Mem Inst Oswaldo Cruz 2000; 95 (supl 1):183-187.

Pulendran B. Learning immunology from the yellow fever vaccine: innate immunity to systems vaccinology. Nat Rev Immunol. 2009 Oct;9(10):741-7.

Rosenzweig EC, Babione RW, Wisseman CL Jr. Immunological studies with group B arthropod-borne viruses. IV. Persistence of yellow fever antibodies following

vaccination with 17D strain yellow fever vaccine. Am J Trop Med Hyg 1963 12: 230–235

Rice CM, Lenches EM, Eddy SR, Shin SH & Strauss JH. Nucleotide sequence of yellow fever virus: implications for flavivirus gene expression and evolution. Science 1985; 229(4715):726-33.

Sacchetto L, Drumond BP, Han BA, Nogueira ML, Vasilakis N. Re-emergence of yellow fever in the neotropics - quo vadis?. Emerg Top Life Sci. 2020;4(4):399-410.

Schoub BD & Blackburn NK. Flaviviruses. In: Zuckerman AJ, Banatvala JE & Pattison JR, editors. Principles and practice of clinical virology. 3nd. ed. Jonh Wiley & Sons Ltd; 1995.

Secretaria de Vigilância em Saúde, Ministério da Saúde. Reemergência da febre amarela silvestre no Brasil, 2014/2015: situação epidemiológica e a importância da vacinação preventiva e da vigilância intensificada no período sazonal. Boletim Epidemiológico 2015; 46(29).

Secretaria de Vigilância em Saúde, Ministério da Saúde. Aspectos epidemiológicos da febre amarela silvestre e a vigilância intensificada durante período de monitoramento, Brasil, 2012/2013. Boletim Epidemiológico 2014; 45(7).

Sidibe M, Yactayo S, Kalle A, Sall AA, Sow S, Ndoutabe M, Perea W, Avokey F, Lewis RF, Veit O. Immunogenicity and safety of yellow fever vaccine among 115 HIV-infected patients after a preventive immunisation campaign in Mali. Trans R Soc Trop Med Hyg. 2012 Jul;106(7):437-44.

Takeuchi, O. & Akira, S. Innate immunity to virus infection. Immunol. Rev. 2009; 227: 75–86.

Valim V, Machado KLLL, Miyamoto ST, Pinto AD, Rocha PCM, Serrano EV, Dinis VG, Gouvêa SA, Dias JGF, Campi-Azevedo AC, Teixeira-Carvalho A, Peruhype-

Magalhães V, Costa-Rocha IA, Lima SMB, Miranda EH, Trindade GF, Maia MLS, Gavi MBRO, Silva LB, Duque RH, Gianordoli APE, Casagrande TZ, Oliveira KG, Moura BCM, Nicole-Batista F, Rodrigues LC, Clemente TB, Magalhães ES, Bissoli MF, Gouvea MPG, Pinto-Neto LFS, Costa CZ, Giovelli RA, Brandão LR, Polito ETL, Koehlert IO, Borjaille BP, Pereira DB, Dias LH, Merlo DL, Genelhu LFF, Pretti FZ, Giacomin MS, Burian APN, Fantinato FFST, Pileggi GS, Mota LMH and Martins-Filho AO. Planned Yellow Fever Primary Vaccination Is Safe and Immunogenic in Patients With Autoimmune Diseases: A Prospective Non-interventional Study. Front. Immunol. 2020; 11:1382.

Vasconcelos PFC. Febre amarela. Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical. 2003; 36:275-293.

Vasconcelos PF, Monath TP. Yellow fever remains a potential threat to public health. Vector Borne Zoonotic Dis. 2016; 16(8): 566-67.

Vazquez S, Valdes O, Pupo M, Delgado I, Alvarez M, Pelegrino JL, Guzmán MG. MAC-ELISA and ELISA inhibition methods for detection of antibodies after yellow fever vaccination. J Virol Meth 2003; 110: 179-184.

Veras MA, Flannery B, de Moraes JC, da Silva Teixeira AM, Luna EJ; Vaccine Coverage Survey 2007 Group. Yellow fever vaccination coverage among children in Brazilian capitals. Vaccine 2010; 28:6478-82.

Woodall JP, Yuill TM. Why is the yellow fever outbreak in Angola a 'threat to the entire world'? Int J Infect Dis. 2016; 48:96-7.

Wieten RW, Jonker EF, van Leeuwen EM, Remmerswaal EB, Ten Berge IJ, de Visser AW, van Genderen PJ, Goorhuis A, Visser LG, Grobusch MP, de Bree GJ. A Single 17D Yellow Fever Vaccination Provides Lifelong Immunity; Characterization of Yellow-Fever-Specific Neutralizing Antibody and T-Cell Responses after Vaccination. PLoS One. 2016 Mar 15;11(3):e0149871 (a)

Wieten RW, Jonker EF, Pieren DK, Hodiamont CJ, van Thiel PP, van Gorp EC, de Visser AW, Grobusch MP, Visser LG, Goorhuis A. Comparison of the PRNT and an immune fluorescence assay in yellow fever vaccinees receiving immunosuppressive medication. Vaccine. 2016 Mar 4;34(10):1247-51 (b)

World Health Organization. Vaccines and vaccination against yellow fever: WHO Position Paper, June 2013—recommendations. Vaccine 2015; 33:76–7.

8. ANEXOS

8.1 Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE)

O(A) Sr.(a) _____foi convidado (a) a participar da pesquisa intitulada "**Segurança e imunogenicidade da vacina contra a febre amarela em pacientes com doença renal crônica dialítica",** sob a responsabilidade da pesquisadora JESIREE IGLÉSIAS QUADROS DISTENHREFT.

Esta pesquisa busca avaliar se a vacina contra a febre amarela é segura em pacientes que fazem diálise, ou seja, se o risco de reações graves, tais como alergias graves, quadros neurológicos ou adquirir sintomas compatíveis com a febre amarela após a vacina é igual ao do restante da população. Além disso, será avaliada se a resposta vacinal de produção de anticorpos ocorre em níveis adequados para proteção contra a doença. O prazo para o término está previsto para julho de 2021.

Será aplicado um questionário, durante o seu turno na clínica de diálise, onde o sr.(a) será perguntado sobre seus dados (nome, idade, cor, peso), informações sobre a doença renal (início da diálise, sorologias de HIV, hepatite B e C – consultadas em seu prontuário, transplante renal, medicações em uso), vacinação contra a febre amarela (conferida no cartão de vacinação) e se houve algum sintoma após a vacinação. No mesmo dia da coleta mensal de sangue do seu serviço de diálise, também será coletada uma amostra de sangue, que será enviada à Fundação Oswaldo Cruz (Fiocruz), localizada no Rio de Janeiro-RJ, para avaliar se a vacina foi eficiente para proteger o senhor contra a febre amarela.

Os possíveis riscos e danos envolvidos nesta pesquisa são: divulgação de dados confidenciais, o desconforto para responder a perguntas, tempo necessário para responder ao questionário, uso da amostra de sangue para outras pesquisas sem autorização prévia. No entanto, ressaltamos que os dados do sr.(a) serão

guardados com a pesquisadora, e apenas terão acesso os outros pesquisadores envolvidos, que se comprometem a utilizá-los apenas nesta pesquisa. As perguntas serão feitas de maneira objetiva, e o sr. (a) pode responder apenas às perguntas com as quais se sinta confortável. Os pesquisadores ainda se comprometem a utilizar a amostra de sangue apenas nesta pesquisa.

Por meio desta pesquisa, o sr. (a) irá contribuir para esclarecermos se os pacientes em diálise podem ser vacinados contra a febre amarela de forma segura. É importante que se garanta uma proteção adequada contra esta doença, pois quando uma pessoa recebe um transplante renal ela não pode mais ser vacinada contra a febre amarela por estar usando medicações que diminui a imunidade. Assim, se os resultados identificarem que a vacina é segura, os participantes que não desenvolveram proteção com a vacina serão orientados a aplicar uma nova dose da vacina.

Não haverá nenhum custo para a participação desta pesquisa, visto que o senhor já estará na clínica, não sendo necessário se deslocar. O teste sanguíneo também será custeado pelos pesquisadores. A participação deste estudo é voluntária, e o sr.(a) pode responder apenas às perguntas com as quais se sinta à vontade, e ainda pode retirar o seu consentimento em qualquer momento.

Em caso de dúvidas sobre a pesquisa ou para relatar algum problema, o(a) sr.(a) pode contatar a pesquisadora JESIREE IGLÉSIAS QUADROS DISTENHREFT no telefone (27) 3533-7904 ou no endereço Rua Resplendor, 158 – Nova Carapina I, Serra – ES, CEP 29170-052. O(A) sr.(a) também pode contatar o Comitê de Ética em Pesquisa do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal do Espírito Santo (CEP/CCS/UFES) através do telefone (27) 3335-7211, e-mail cep.ufes@hotmail.com ou correio: Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos, Prédio Administrativo

do CCS, Av. Marechal Campos, 1468, Maruípe, CEP 29.040-090, Vitória - ES, Brasil. O CEP/CCS/UFES tem a função de analisar projetos de pesquisa visando à proteção dos participantes dentro de padrões éticos nacionais e internacionais. Seu horário de funcionamento é de segunda a sexta-feira, das 8h às 14h.

Declaro que fui verbalmente informado e esclarecido sobre o presente documento, entendendo todos os termos acima expostos, e que voluntariamente aceito participar deste estudo. Também declaro ter recebido uma via deste Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, de igual teor, assinada pelo(a) pesquisador(a) principal ou seu representante, rubricada em todas as páginas.

_____

LOCAL, DATA

_____

Participante da pesquisa/Responsável legal

Na qualidade de pesquisadora responsável pela pesquisa "**Segurança e imunogenicidade da vacina contra a febre amarela em pacientes com doença renal crônica dialítica**", eu, JESIREE IGLÉSIAS QUADROS DISTENHREFT, declaro ter cumprido as exigências do(s) item(s) IV.3 e IV.4 (se pertinente), da Resolução CNS 466/12, a qual estabelece diretrizes e normas regulamentadoras de pesquisas envolvendo seres humanos.

_____

Pesquisadora

8.2 Questionário

Nome:_____

Sexo: ( ) Feminino ( ) Masculino Idade:_____

Raça: ( ) Branco ( ) Negro ( ) Pardo ( ) Amarelo ( ) Indígena

Transplante renal prévio: ( ) Sim Ano:_____( ) Não

Terapia dialítica: ( ) Hemodiálise ( ) Diálise peritoneal

Ano de início da terapia dialítica:_____

Sorologias (reagente ou não reagente): HIV:_____Vírus B_____Vírus C _____

Consumo de álcool (>15 doses/semana no sexo masculino ou >10 doses/semana no sexo feminino):

( ) Sim ( ) Não

Tabagista (atual ou passado): ( ) Sim___anos/maço ( ) Não

Etiologia da doença renal:

( ) Glomerulopatias

( ) Diabetes mellitus

( ) Hipertensão arterial

( ) Doença cística

( ) Doença congênita

( ) Outras

( ) Desconhecida

Comorbidades: ( ) HAS ( ) DM ( ) Neoplasias _____(especificar qual neoplasia, QT, data) ( ) Doenças reumatológicas ( ) Insuficiência cardíaca ( ) Outras_____

Drogas imunossupressoras em uso:_____

Data da vacinação VFA:____/____/____ TGP: _____

Observação: à frente de cada manifestação assinalada, descrever o tempo entre a vacinação e o aparecimento do EAPV.

Manifestações locais:

( ) Dor _____

( ) Lesões extensas com limitação de movimento_____

( ) Edema e vermelhidão _____

( ) Abcesso _____

Manifestações sistêmicas:

1) Manifestações gerais:

( ) Febre _____

( ) Cefaleia _____

( ) Mialgia _____

2) Reações adversas graves:

Hipersensibilidade:

( ) Rash _____

( ) Sibilos _____

( ) Laringoespasmo _____

( ) Edema de lábios _____

( ) Choque anafilático _____

Doença neurológica:

( ) Cefaleia intensa e prolongada_____

( ) Alterações do nível de consciência _____

( ) Rigidez de nuca_____

( ) Convulsões _____

( ) Desordens motoras (hemiplegia, ataxia)_____

( ) Síndrome de Guillain-Barré _____

Doença viscerotrópica aguda:

( ) Sintomas inespecíficos (febre, cefaleia, astenia, mialgia, artralgia, náusea, vômito, diarreia e dor abdominal)_____

( ) Icterícia _____

( ) Hemorragia_____

Conduta tomada em relação ao (s) sintoma (s) assinalados acima:

( ) sintomáticos/ expectante

( ) internação em enfermaria

( ) internação em terapia intensiva

( ) vacinação contra-indicada

( ) notificação

8.3 Critérios específicos para a classificação da doença neurológica aguda associada à VFA (DNA/VFA) (OMS, 2008)

Nível 1 Doença neurológica	Um ou mais dos seguintes sinais ou sintomas: • Febre (Tax >38 °C, por mais de 24 horas) e cefaleia (duração superior a 24 horas). • Sintoma neurológico focal (inclusive ataxia, afasia e paresia) e sinais meníngeos. • Alterações do nível de consciência (confusão mental, letargia ou alterações de personalidade com duração superior a 24 horas). • Convulsões de início recente ou recorrência de doença convulsiva previamente controlada. • Pleocitose (>5 células/mm3, considerar a faixa etária do paciente). Elevação da proteína liquórica (acima de 1,5 vezes o valor normal).
Nível 2 Doença neurotrópica (invasão direta do vírus vacinal)	Presença de doença neurológica (Nível 1) com pelo menos um dos seguintes sinais: • Alterações de neuroimagem compatíveis com doença inflamatória de natureza não desmielinizante. • Achados eletroencefalográficos compatíveis com encefalopatia.

Nível 2b Doença neurológica autoimune com acometimento central	Presença de doença neurológica (Nível 1) e: • Alterações de neuroimagem compatíveis com doença desmielinizante disseminada ou multifocal.
Nível 2c Doença neurológica autoimune com acometimento periférico	Presença de doença neurológica (Nível 1 – sem necessariamente apresentar alguma alteração do nível de consciência ou convulsões) e com pelo menos dois ou mais dos seguintes sinais ou sintomas: • Fraqueza nos membros com arreflexia. • Alterações nos nervos cranianos. • Disautonomias (inclusive hipotensão postural, arritmias, sudorese anormal, alterações na motilidade gástrica). • Dormência ou parestesias das extremidades. • Achados eletromiográficos compatíveis com a síndrome de Guillain-Barré.

8.4 Critérios específicos para a classificação da doença viscerotrópica aguda associada à VFA (DVA/VFA) (OMS, 2008)

Nível 1 Doença viscerotrópica (para vigilância)	Febre (Tax>38°C, por mais de 24 horas) e um ou mais dos seguintes sinais ou sintomas: • Náusea e vómitos. • Dor abdominal. • Astenia (duração >72 horas). • Mialgia (duração >24 horas). • Artralgia (duração >24 horas). • Dispneia.
Nível 2ª Doença viscerotrópica	Presença de doença viscerotrópica (Nível 1) e um ou mais dos seguintes sinais: • Icterícia (bilirrubinas total elevada >1,5 vezes o valor normal). • Disfunção hepática (elevação de AST e ALT três vezes acima do normal). • Insuficiência renal (diminuição da taxa de filtração glomerular, medida por elevação da ureia e creatinina acima de 1,5 vezes do valor normal sem história de doença renal prévia). • Taquicardia (frequência cardíaca >100 bpm) ou bradicardia (5 vezes acima do valor normal). • Dificuldade respiratória (dispneia, insuficiência da ventilação ou da oxigenação).

	• Trombocitopenia (plaquetas < 100.000/ µl). • Hipotensão (pressão sistólica <90 mmHg em adultos ou menor que percentil 50 por idade para crianças com idade <16 anos; queda da pressão diastólica ≥15 mmHg comparando a posição deitada e sentada – hipotensão ortostática). • Miocardite (anormalidades compatíveis, incluindo ECG, ECO, ou alterações de enzimas cardíacas, ou evidência de inflamação em biópsia de tecido). • Coagulação intravascular disseminada (elevação de tempo de protrombina ou do tempo de tromboplastina parcial ativada com elevação de produtos de degradação do fibrinogênio). • Hemorragia.