

UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
FACULDADE DE MEDICINA

ANA CRISTINA VANDERLEY OLIVEIRA

**SOROPROTEÇÃO DE PACIENTES COM DOENÇAS REUMÁTICAS
AUTOIMUNES EM USO DE IMUNOMODULADORES OU
IMUNOSSUPRESSORES INADVERTIDAMENTE REVACINADOS
CONTRA A FEBRE AMARELA**

Brasília

2014

UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
FACULDADE DE MEDICINA

ANA CRISTINA VANDERLEY OLIVEIRA

**SOROPROTEÇÃO DE PACIENTES COM DOENÇAS REUMÁTICAS
AUTOIMUNES EM USO DE IMUNOMODULADORES OU
IMUNOSSUPRESSORES INADVERTIDAMENTE REVACINADOS
CONTRA A FEBRE AMARELA**

Tese de Doutorado apresentada ao Programa de
Pós Graduação em Ciências Médicas da Faculdade
de Medicina da Universidade de Brasília

Orientadora:

Profa. Dra Licia Maria Henrique da Mota

Co-orientador

Prof. Dr. Pedro Luiz Tauil

Brasília

2014

PREFÁCIO

A febre amarela chegou ao Brasil em 1685, no Recife, espalhando-se em seguida pelo país (1). Embora não se conhecesse sua causa, estava claro que a mesma devia ser evitada. A doença foi usada por Américo Elísio, pseudônimo de José Bonifácio e Silva, em autocrítica na qual compara seus versos a algo que do qual se deve fugir de qualquer forma, já em 1825.

“Quem folgar de Marinismos e Gongorismos, ou de Pedrinhas no fundo do ribeiro, dos versistas nacionais de freiras e casquilhos, fuja dessa minguada rapsódia, como de febre amarela.”

Já em 1850, uma grande epidemia afetou o Rio de Janeiro. A doença acometeu pessoas de todas as classes sociais. Estima-se que tenha atingido 90.558 indivíduos da população de 266 mil habitantes (2). Também causou grande prejuízo econômico, pois prejudicou a troca de mercadorias em portos e debilitou a saúde da mão de obra. O trecho, fictício e extraído da obra *Lucíola*, do escritor José de Alencar, ilustra a devastação que a doença causou nesse ano.

“Foi um ano terrível. Meu pai, minha mãe, meus manos, todos caíram doentes: só havia em pé minha tia e eu. Uma vizinha que viera acudir-nos, adoecera à noite e não amanheceu. Ninguém mais se animou a fazer-nos companhia” (3).

A febre amarela também mudou costumes seculares. Até a metade do século XIX, os membros da Corte tinham o costume de enterrar os familiares próximos ou mesmo no interior das Igrejas. A epidemia de febre amarela teve tamanha amplitude, que mudou os costumes da época quanto aos rituais funerários. Depois da epidemia, os mortos passaram a ser enterrados em terrenos mais isolados, como forma de conter a enfermidade (2).

Nessa época, alguns estudiosos acreditavam que os miasmas eram os causadores da febre amarela. Estes seriam originados dos dejetos dos infectados ou mesmo decorrentes do clima. Outros atribuíam aos “pecados” e “vícios da população”. Tamanha divergência se devia muito a dissociação da pesquisa e da prática clínica que havia na época (4).

Enquanto não se encontravam formas de combater a doença, a cidade do Rio de Janeiro seguia tal qual descrita por Casimiro de Abreu:

" (...) *Pinta este Rio num quadro:*

As letras falsas dum lado

As discussões do Senado

As quebras, os trambolhões

Mascates roubando moças,

E lá no fundo da tela

Desenha febre amarela

Vida e morte aos cachações" (5)

O quadro permaneceu até que no início do século XX, Oswaldo Cruz empreendeu com sucesso uma campanha contra a febre amarela (6). Com o tempo e a redução dos novos casos, o combate à doença foi se tornando falho. Talvez em função disso, ocorreu, na década de 20, um retorno da doença, em sua forma silvestre (1). Os danos irreparáveis consternaram inclusive aqueles que criticavam aquilo que consideravam um combate excessivo à doença, e costumavam, anteriormente ao surto, minimizar seus riscos, como o escritor Rubem Braga. Este escreveu sobre a doença.

"A febre amarela é o assunto triste sobre o qual eu desejava, há algum tempo, perpetrar algumas ironias. Eu queria contar qualquer anedota surrada sobre o mal e encerrar profligando a campanha terrorista de certos jornais cariocas (...) o tempo –ou a sua ausência – não o permitiu. Pois foi com esse mesmo tempo que mudei de ideia e por uma razão bárbara, morreu-me um companheiro – como eu, moço, forte e estudante – atacado pela terrível febre" (7).

A partir de 1937, o combate à doença fortaleceu-se com o surgimento da vacina antiamarílica. Desde então, muitas mortes foram evitadas.

Aos pacientes reumáticos em uso de imunossupressores essa opção não é oferecida, baseando-se em princípios teóricos. A busca de resultados práticos deve ser perseguida para que esses pacientes possam também ser protegidos da "terrível febre".

Referências

- 1) Franco O. História da febre amarela no Brasil. Rio de Janeiro: Ministério da Saúde; 1969.
2. Rodrigues C. A cidade e a morte: a febre amarela e seu impacto sobre os costumes fúnebres no Rio do Janeiro (1848-1950). História, Ciências, Saúde-Manguinhos. 1999;VI(1):53-80.
3. Alencar Jd. Lucíola. Edição renovada ed. FTD, editor. São Paulo: FTD; 2011.
4. Bastos FK, M. Pesquisas sobre a febre amarela (1881-1903): uma reflexão visando contribuir para o ensino de ciências. Ciência & Educação. 2004;10(3):417-42.
5. Abreu CJMd. Obras de Casimiro de Abreu. Nacional CE, editor. São Paulo: Companhia Editora Nacional; 1940. 456 p.
6. Neto HF. Oswaldo Cruz e a febre amarela no Pará. 2 ed. Chagas IE, editor. Ananindeua Pará: Instituto Evandro Chagas; 2012. 172 p.
7. Carvaho MAd. Rubem Braga: um cigano fazendeiro do ar. 1 ed. Globo, editor. São Paulo: Globo; 2007. 434 p.

AGRADECIMENTOS

O trabalho apresentado aqui foi fruto da participação e colaboração de muitas pessoas especiais a quem desejo expressar meus sinceros agradecimentos.

À minha orientadora Dra Lícia Maria Henrique da Mota por ter me incentivado e me guiado desde a minha faculdade, por sua disponibilidade e generosidade reveladas ao longo destes anos de convivência, eu dedico os meus mais profundos agradecimentos.

Ao meu co-orientador Pedro Luiz Tauil, sempre atencioso e prestativo, por ter enriquecido este trabalho com suas preciosas observações e conhecimento ímpar.

Ao Dr. Leopoldo Luiz dos Santos Neto por ter me encorajado a seguir a vida acadêmica e por sua preciosa orientação.

Ao serviço de Reumatologia que me recebeu e me acolhe com carinho, representado pelo Dr Francisco Aires Corrêa Lima , Dr. Rodrigo Aires Corrêa Lima, Professor Cezar Kozak Simaan, Dr José Antônio Braga da Silva, Dr. Hermes Matos Filho, Dr Leandro Crispim de Oliveira Lacerda e Dr. Cleandro Pires de Albuquerque.

Aos doutores Nizio Antônio da Silva, Gustavo Romero, Ana Patrícia de Paula Costa e Angélica Amorim Amato por terem participado da banca de qualificação e contribuído com preciosas sugestões.

À equipe da FIOCRUZ, sem a qual esse trabalho não seria possível. Em especial à Marisol Simões, Dr Anna Yoshida, Dr Olindo Assis Martins Filho e Dra Iramaya Rodrigues Caldas.

Às técnicas do laboratório do HUB, Wilma Maria de Ávila Godinho e Eliane da Silva Miranda.

Aos pacientes que confiaram e acreditaram nesse projeto de pesquisa.

Aos meus amados pais Maria da Glória Coelho Vanderley e Raimundo Ribeiro Oliveira, meu infinito agradecimento todo o amor, apoio e incentivo ao longo de toda minha vida.

Ao meu irmão Daniel Vanderley Oliveira por seu carinho e sua ajuda.

Ao Julio Cesar Albernaz Guimarães por seu companheirismo e apoio.

À amiga Clarissa de Castro Ferreira por ter participado da pesquisa e por ter sido tão presente e prestativa sempre.

À todos aqueles amigos e família que me apoiaram nessa trajetória: Larissa de Souza Costa, Carolina Helena C. Antunes, Aline M. Thomé Arruda, Renata, Fernanda, Fernando, Lysbeth, José, Marcia Thomé, Marcus Vinícius, Guilherme, Danilo, Terezinha de Jesus, Denise, Amanda, Artur, Aura, Semíramis, Antonino e Arlene.

Por último, agradeço a Deus pelas bênçãos recebidas em minha jornada.

“O saber contra a ignorância, a saúde contra a doença, a vida contra a morte... Mil reflexos da batalha permanente em que estamos todos envolvidos...”

Oswaldo Cruz
(1872-1917)

RESUMO

Introdução: O Brasil possui a maior área endêmica de febre amarela (FA) do mundo. A doença é produzida por vírus de RNA transmitido pela picada de insetos hematófagos culicídeos. Trata-se de doença com significativa morbidade e letalidade e os casos suspeitos devem ser notificados em 24 horas às autoridades sanitárias, tamanha é seu potencial endêmico. O quadro clínico varia de formas assintomáticas até a chamada forma hemorrágica, com letalidade em torno de 50%. Não há tratamento específico e a vacina é forma mais eficaz e segura de prevenção. Esta é constituída a partir de vírus vivo atenuado. No entanto, uma forma rara de febre amarela provocada pelo vírus vacinal tem sido descrita e está provavelmente relacionada a características do hospedeiro, como o seu status imunológico. Por isso, a vacina 17D é contraindicada em pacientes com doenças reumáticas em uso de medicamentos imunomoduladores ou imunossupressores. Não se conhece a resposta imune à vacinação nesse grupo. Não há estudos nessa população que avaliem a resposta humoral pelo padrão ouro, que é a produção de anticorpos neutralizantes.

Objetivos: Avaliar a resposta imune protetora, por meio de anticorpos neutralizantes e eventos adversos em pacientes com doenças reumáticas, em uso de imunomoduladores ou imunossupressores, que foram inadvertidamente revacinados contra a FA.

Casuística e Métodos: Realizado estudo descritivo, do tipo série de casos de pacientes portadores de doenças reumáticas autoimunes, em uso de medicamentos imunomoduladores ou imunossupressores, inadvertidamente revacinados contra a FA, para avaliação da presença de anticorpos neutralizantes em níveis protetores e ocorrência de eventos adversos. Os pacientes foram selecionados nos ambulatórios de hospital terciário e clínicas particulares de região endêmica. Foram registrados dados como idade, data da vacinação, diagnóstico, medicações e eventos adversos possivelmente relacionados à vacinação. A análise de anticorpos neutralizantes foi

feita pelo método padrão ouro, o PRNT (Teste de Neutralização por Redução de Placas). Valores acima de 794 mUI/mL (1:50) foram considerados positivos.

Resultados: Seleccionados 31 pacientes, todas do sexo feminino, com doenças reumáticas, 20 (64,5%) deles no serviço público e 11 (35,5%) em clínicas particulares. Diagnósticos: artrite reumatoide (23), lúpus eritematoso sistêmico (5), esclerose sistêmica (2) e espondilite anquilosante (1). A média de idade na revacinação foi 46,77 (DP =12,72) anos. O intervalo médio entre a imunização e a coleta foi de 39,61 (DP= 8,51) meses. Os títulos de anticorpos neutralizantes variaram de 221 a maior que 15.680 (mediana de 2159 mUI/mL). Quatro apresentaram eventos adversos leves, 24 negaram e 3 não se recordaram. A média geométrica de anticorpos neutralizantes naqueles que apresentaram eventos adversos foi de 2082,25 (Mediana= 2.229) e de 3395,02 (Mediana= 2145,50) mUI/ml nos assintomáticos, não sendo demonstrada correlação entre os resultados e a ocorrência de eventos adversos para a amostra estudada. (Pearson = -0,19)

Conclusões: Os eventos adversos e títulos protetores foram semelhantes ao esperado para a população em geral, não sendo demonstrada correlação entre os anticorpos neutralizantes e ocorrência de eventos adversos. Este é o primeiro estudo que avalia a resposta imune protetora à vacina antiamarílica em pacientes com doenças reumáticas autoimunes, em uso de medicamentos imunomoduladores ou imunossupressores.

Palavras-chaves: febre amarela, doenças autoimunes reumáticas, imunossupressão; proteção vacinal; anticorpos; eventos adversos.

ABSTRACT

Introduction: Brazil has the largest endemic area for yellow fever (YF) in the world. RNA virus transmitted by hematophagous insects of *Culicidae* family causes the disease. YF has significant morbidity and lethality. Three suspected cases should be reported in 24 hours to health authorities, such is its gravity. The clinical picture varies from asymptomatic forms until the so-called hemorrhagic form, with lethality in 50 percent. There is no specific treatment and vaccine is the safest and the most effective form of prevention. This is made from live attenuated virus. However, a rare form of yellow fever caused by the vaccine virus has been described and is related to characteristics of the host, such as the immune status. Thus, the 17D vaccine is contraindicated for patients with rheumatic disease who are using immunosuppressants. There are no studies on this population to assess the humoral response by the gold standard. Therefore, no previous studies have assessed the humoral response and adverse reactions in this group.

Objectives: To assess the protective immune response, based on neutralizing antibody (NAb) titers and adverse events (AEs), in patients with rheumatic disease who were using immunomodulators or immunosuppressants and inadvertently revaccinated against YF.

Methods: We conducted a descriptive study of a number of cases of rheumatic disease to assess the protective levels of NAb and the occurrence of ARs. Epidemiological, medication, and AR data were recorded. The NAb analysis was conducted by using the plaque reduction neutralization test method, with a titer greater than 794 mIU/mL (1:50).

Results: Thirty-one patients were selected, 23 with rheumatoid arthritis, 5 with lupus, 2 with systemic sclerosis, and 1 with ankylosing spondylitis. The mean (SD) age at revaccination was 46.77 (12.72) years. The mean (SD) interval between the immunization and sample collection was 39.61 (8.51) months. The NAb titer varied between 221 mIU/mL and 15,680 (median, 2,159 mIU/mL). Four patients presented with mild ARs. The geometric mean (SD) NAb titers were 2,082.25 (Median= 2,229)

and 3,395.02 (Median= 2,145.50) mIU/mL in the patients with ARs and in asymptomatic patients, respectively. No correlation was found between the results and the occurrence of adverse events in all the study groups (Pearson, -0.19).

Findings: The AEs and protective titers were similar to those expected for the overall population, and no correlation was found between the NAb titers and the occurrence of AE. This is the first study to assess the protective immune response to the yellow fever vaccine in patients with rheumatic disease.

Keywords: yellow fever, rheumatic autoimmune disease, immunosuppression, vaccine protection, antibodies, adverse events.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

- Figura 1.** Vírions da febre amarela e sua representação esquemática. Adaptado de Gardner (2010)..... 27
- Figura 2.** Áreas com risco de transmissão do vírus da febre amarela na América do Sul. Adaptado de Jentes (2010)..... 30
- Figura 3.** Resposta imune após a vacinação antiamarílica. Modificado de Pulendran (2009) 37
- Figura 4.** Distribuição de anticorpos neutralizantes avaliada pelo método PRNT nos pacientes com doenças reumáticas em uso de imunossupressores ou imunomoduladores 70
- Figura 5.** Anticorpos neutralizantes na artrite reumatoide e no lúpus eritematoso sistêmico..... 71
- Figura 6.** Diagrama de dispersão entre os títulos de anticorpos e a idade de vacinação (A) e o tempo de diagnóstico na data da vacina (B) 72

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1.** Frequência absoluta e relativa de casos selecionados quanto à presença de doenças reumáticas no momento da coleta 67
- Tabela 2.** Características dos pacientes com doenças reumáticas vacinados inadvertidamente 68
- Tabela 3.** Distribuição dos títulos de anticorpos neutralizantes 69
- Tabela 4.** Características dos pacientes com diagnósticos de doenças reumáticas, inadvertidamente revacinados contra a febre amarela, em uso de medicações imunomoduladoras e imunossupressoras 73

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AR - artrite reumatoide

ARILVAX – marca de vacina antiamarílica feita com vírus (cepa Asabi) obtido após 89 a 114 passagens do vírus vacinal em embriões de frango

BCL-2 – célula B de linfoma 2 (*B-cell lymphoma 2*)

C1q – subcomponente do complexo C1 do complemento

C3 – componente C3 do sistema complemento

CCR – Receptor de quimiocina

CD – grupamento de diferenciação (cluster of differentiation)

CF - ciclofosfamida

CSF – fator estimulador de colônias

CTLA4 - *Cytotoxic T-Lymphocyte-Associated protein 4*

CXCR – receptor de quimiocinas

DC – célula dendrítica

DP – desvio padrão

DNA – ácido desoxirribonucleico (*desoxirribonucleic acid*)

ELISA – Ensaio imunosolvente ligado à enzima (*enzyme-linked immunosorbent assay*)

EA – espondilite anquilosante

ES – esclerose sistêmica

FA – febre amarela

FIOCRUZ – Fundação Oswaldo Cruz

Flv – gene autossômico que codifica a 2'-5'-oligoadenilato- sintetase 1b

H1N1 – subtipo de influenza A

HCQ - hidroxicloroquina

HIV – vírus da imunodeficiência humana

HLA – antígenos leucocitários humanos

IC – intervalo de confiança

Ig - imunoglobulina

IHR – *International Health Regulations*

IL - interleucina

IFN – interferon

IFX - infliximabe

Ki67 – marcador de proliferação celular

KIR – *killer cell immunoglobulin like receptors*

LES – lupus eritematoso sistêmico

LFN - leflunomida

MARCO - receptor de macrófago com estrutura de colágeno (*Expression of macrophage receptor with collagen structure*)

MHC – complexo principal de histocompatibilidade

MLD - dose de partículas virais letal média para 50% de um lote de camundongos

MPT – teste de proteção em ratos (*mouse protection test*)

MSZ – mesalazina

MTX - metotrexate

NF-κB – fator nuclear kappa B

NK – *natural killer*

Oas – 2'-5'oligoadenilato-sintetase

OMS – Organização Mundial de Saúde

PCR – reação em cadeia de polimerase

PRED - prednisona

PRNT - teste de neutralização por redução de placas (*plaque reduction neutralization test*)

PRNT₅₀ – teste de neutralização por redução de placas baseado no end-point com redução da infeciosidade viral de 50%

RTX - rituximabe

RNA - ácido ribonucleico (*ribonucleic acid*)

SAGE – *Strategic Advisory Group of Experts*

SERPING1 – gene inibidor de C1 esterase

SIRS – síndrome da resposta inflamatória sistêmica

SSZ - sulfassalazina

SUS – Sistema Único de Saúde

TGF – fator de crescimento transformador

Th – resposta T auxiliar (*T helper*)

TLR – receptor toll like

TNF – fator de necrose tumoral

UI – unidade internacional

USAMRIID - *United States Army Medical Research Institute of Infectious Diseases*

VAERS – *Vaccine Adverse Event Reporting System*

YEL-AND – doença neurotrópica associada à vacina contra a febre amarela (*yellow fever vaccine-associated neurotropic disease*)

YEL-AVD - doença viscerotrópica associada à vacina contra a febre amarela (*yellow fever vaccine-associated viscerotropic disease*)

YF – *yellow fever*

YF-VAX – marca de vacina antiamarílica (17D-204)

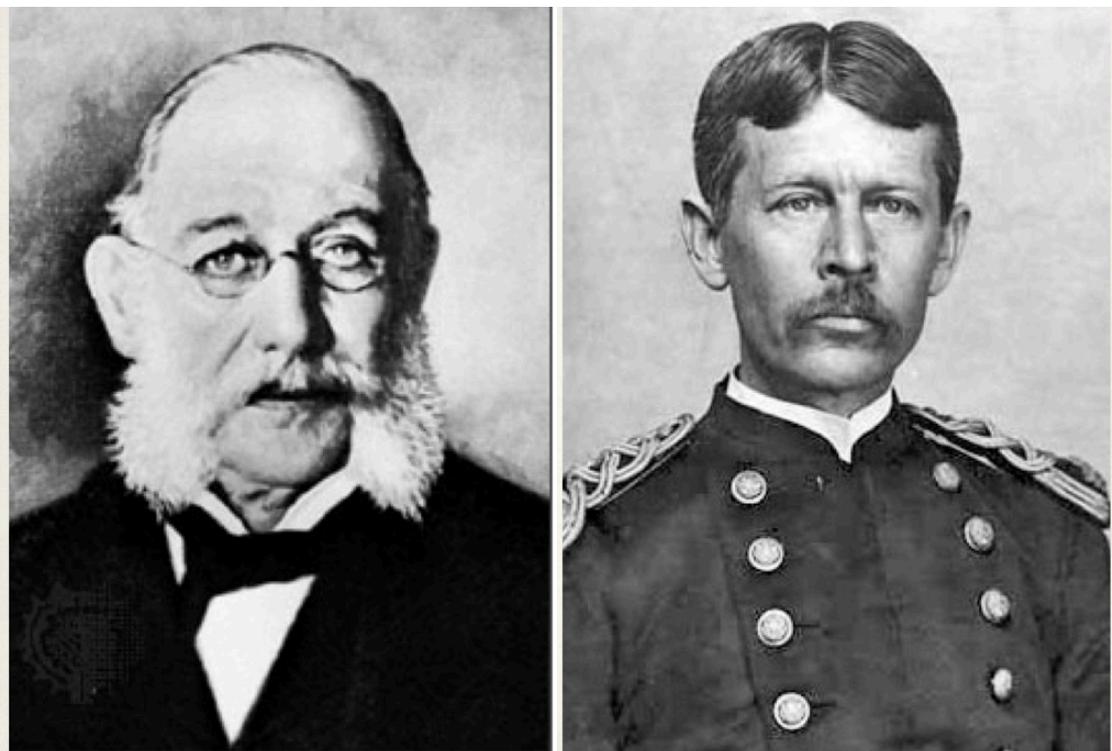
SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	21
1.1. FEBRE AMARELA	22
1.1.1. Febre amarela no Brasil.....	23
1.1.2. O vírus antiamarílico	26
1.1.3. Epidemiologia.....	27
1.2. VACINA ANTIAMARÍLICA.....	33
1.2.1. Efetividade da vacina	37
1.2.2. Duração da imunidade	40
1.2.3. Resposta imune pós vacinal	34
1.2.4. Segurança vacinal.....	41
1.2.5. Risco benefício.....	45
1.2.6. Uso em imunossuprimidos.....	46
1.3. PACIENTES COM DIAGNÓSTICO DE DOENÇAS REUMÁTICAS, EM USO DE MEDICAMENTOS IMUNOMODULADORES, IMUNOSSUPRESSORES E A VACINA ANTI-AMARÍLICA.....	49
2. JUSTIFICATIVA	55
3. OBJETIVOS.....	57
3.1. OBJETIVO GERAL	58
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	58
4. PACIENTES E MÉTODOS	59
4.1. PACIENTES.....	60
4.2. LOCAL DO ESTUDO	60
4.3. CRITÉRIOS DE INCLUSÃO	61

4.4. CRITÉRIOS DE EXCLUSÃO.....	61
4.5. DADOS CLÍNICOS	61
4.6. DADOS LABORATORIAIS	62
4.6.1. Coleta das amostras e extração do soro	62
4.6.2. Teste de neutralização por redução de placas (<i>PRNT - Plaque reduction neutralization test</i>).....	62
4.7. ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	64
4.8. ASPECTOS ÉTICOS	64
5. RESULTADOS	66
5.1. CARACTERÍSTICAS DA POPULAÇÃO ESTUDADA.....	67
5.2. ANTICORPOS NEUTRALIZANTES.....	69
5.3. ANÁLISE DE CORRELAÇÃO ENTRE ANTICORPOS NEUTRALIZANTES E VARIÁVEIS CLÍNICAS.....	71
5.4. SEGURANÇA DA VACINA ANTIAMARÍLICA	72
6. DISCUSSÃO.....	75
6.1. IMPORTÂNCIA DA VACINAÇÃO.....	76
6.2 EFICÁCIA	76
6.3 SEGURANÇA	78
6.4 USO DA VACINA EM PACIENTES COM DOENÇAS REUMÁTICAS E IMUNOSSUPRIMIDOS	78
6.5 POSSÍVEIS FONTES DE DESVIO.....	80
7. CONCLUSÕES.....	84
8. ARTIGOS PUBLICADOS. COMUNICAÇÃO EM CONGRESSOS E PREMIAÇÃO	86
9. PERSPECTIVAS	88
10. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	90
11. ANEXOS	101

ANEXO A – APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA	102
12. APÊNDICES	103
APÊNDICE A – FICHA DE COLETA DE DADOS	104
APÊNDICE B – TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO (COLETA DE SANGUE).....	107
APÊNDICE C – ARTIGO DE REVISÃO PUBLICADO NA REVISTA BRASILEIRA DE REUMATOLOGIA.....	109
APÊNDICE D – ARTIGO SUBMETIDO À REVISTA ARTHRITIS AND RHEUMATOLOGY	114
APÊNDICE E – ARTIGO SUBMETIDO À REVISTA AUTOIMMUNE DISEASES	120

1. INTRODUÇÃO



Carlos Finlay e Walter Reed – suas descobertas permitiram a identificação do vírus amarelo e seu vetor.

Enciclopaedia Britanica

1.1. FEBRE AMARELA

A febre amarela é uma doença viral febril icterica, hemorrágica, infecciosa, não-contagiosa, endêmica em regiões da África e da América do Sul, produzida por um vírus da família *Flaviviridae* (1).

Há controvérsias quanto ao primeiro relato de doença semelhante à febre amarela. Existem referências de uma epidemia em 1495, onde atualmente se localizam o Haiti e a República Dominicana, com sintomas e letalidade compatíveis com a febre amarela. Em 1635, na Ilha de Guadalupe, há descrição de doença relacionada à dor lombar, icterícia, vômitos negros e óbito no 5º dia (2, 3).

Segundo Ferreira e colaboradores, a primeira descrição data de 1648, no México (4). Esta tem sido a mais aceita pela comunidade científica (2). Um manuscrito maia registrou: “Ocorreu vômito de sangue começando a morte para nosso povo em 1648”. O historiador Cogolludo descreveu uma doença que começava com “uma gravíssima e intensa dor de cabeça em todos os ossos de corpo”. Descreveu ainda que alguns apresentaram calor intenso, delírios e vômitos como de “sangue podre”, restando poucos sobreviventes (3). A doença era relacionada a portos e navios em quarentena oriundos de áreas com a febre amarela. Desta forma, embora a Microbiologia estivesse em seus primórdios, a ideia de um “germe” que pudesse ser transportado de uma região a outra era presumida (5).

Ainda assim, a forma de disseminação da doença permaneceu incerta por muitos anos, até que, em 1900, uma comissão foi formada com o objetivo de estudar melhor a doença (6). Carlos Finlay, um cientista cubano, demonstrou que a transmissão era feita por mosquitos no final do século XIX (7). Inicialmente desacreditado, Finlay conseguiu convencer 102 pessoas a deixarem-se picar por mosquitos alimentados com sangue contaminado para comprovar sua teoria (3). Mas foi o grupo liderado por Walter Reed que provou que a doença era transmitida pelo mosquito *Aedes aegypti*. O exército americano sofria constante perda de soldados por causa da febre amarela. Por isso, o Serviço de Saúde do Exército

Americano criou uma comissão com foco na etiologia e prevenção da enfermidade. Após insucessos, a participação de Finlay foi requisitada por Reed e foi fundamental para a descoberta da forma de transmissão.

Reed realizou experimentos nos quais procurava descobrir como a doença era transmitida. Em um deles, soldados dormiram por 20 dias em roupas de cama sujas com secreções e excretas de pacientes amarílicos. Estes não apresentaram os sintomas da doença, indicando que o contato com as secreções não era determinante para a transmissão (3). Reed, então, a exemplo de Carlos Finlay, expôs voluntários a picada de mosquitos. Em seus experimentos, 42 voluntários foram expostos às picadas. Destes, 8 ficaram doentes e 3 faleceram (5). Em 1915, a Fundação Rockefeller, de posse das informações obtidas pela comissão, liderou o combate ao vetor, mostrando eficácia no combate à doença. No entanto, a doença amarílica manteve-se prevalente em algumas áreas. Essa persistência foi então atribuída aos reservatórios naturais, os primatas (6).

A equipe de Reed também observou que o agente produtor da enfermidade era capaz de passar por filtros resistentes a bactérias. O vírus amarílico foi o primeiro agente a se mostrar ultrafiltrável, ou seja, capaz de passar por filtro resistente a bactérias. Ainda assim, houve resistência da comunidade científica da época ao aceitar sua natureza. A confirmação veio por meio da infecção de macacos com sangue de humanos com febre amarela, em 1927 (6).

1.1.1. Febre amarela no Brasil

A primeira epidemia de febre amarela no Brasil ocorreu em 1685 no Recife (3, 8). Uma das possíveis explicações sobre a procedência do vírus é atribuída a uma nau francesa chamada *Oriflamme*. Esta mesma nau também teria levado o vírus amarílico às Antilhas. A epidemia foi tão grave que em cerca de 15 dias, seiscentas pessoas faleceram em decorrência dessa enfermidade, incluindo o único médico que havia no Recife nessa época (3). A doença chegou à Bahia no ano seguinte. Em 1692, chegou ao fim com 25.000 doentes e 900 mortos. Nesta época predominava a ideia da transmissão miasmática e portanto eram estimuladas medidas de restrição e isolamento dos indivíduos (8). Em 1849, o vírus chega

novamente a cidade, desta vez transportado por um navio americano chamado “*Brazil*”. Embora 2 tripulantes houvessem falecido por causa da febre amarela na viagem, a entrada do navio foi permitida. Em 3 dias, três pessoas haviam morrido e, em um mês, a epidemia se espalhou em Salvador. Em 1923, houve um possível caso em navio que esteve na Bahia. No entanto, de 1849 até 1861, a doença se propagou no restante do país, seguindo os trajetos dos portos (3).

Como medida de contenção da doença, em 1850 foi instituído o “Regulamento Sanitário”. Este tratava de medidas de higiene, como desinfecção e novas normas no cuidado com cadáveres, bem como isolamento e quarentena (8).

Em 1901, Emílio Ribas publicou o primeiro trabalho brasileiro (“O mosquito considerado agente da propagação da febre-amarela”) sobre a doença, inspirado nos achados de Walter Reed e seus colaboradores. Relacionou algumas medidas importantes para o combate a doença, entre elas evitar o acúmulo de água parada e uso de inseticidas. O sanitarista Oswaldo Cruz também concentrou esforços na luta contra a doença amarílica, sendo decisivo no término da epidemia que ocorreu no Rio de Janeiro no início do século XX (3). O Serviço de Profilaxia da Febre Amarela foi criado em 1903 com objetivo de exterminar a febre amarela do Rio de Janeiro . Este implementou medidas de vigilância como a notificação compulsória de casos suspeitos, o combate ao vetor, a organização dos serviços de saúde e elaboração de estatísticas (8).

Após seu sucesso na contenção da febre amarela no Rio de Janeiro, o “benemérito debellador da febre amarela” Oswaldo Cruz encaminhou-se para o norte do país para ampliar a defesa sanitária dos portos marítimos e fluviais. Mesmo enfermo, prestou assistência aos doentes e realizou autópsias diárias. Ao término de suas observações elaborou medidas profiláticas, estabeleceu punições àqueles que não cumprissem tais medidas e formou uma comissão com fins de controle da epidemia (9).

A Fundação Rockefeller iniciou os trabalhos no Brasil em 1923, convidada pelo governo brasileiro (3). Trouxe novos conhecimentos como o descobrimento do ciclo da febre amarela silvestre após pesquisas no estado do Espírito Santo. Executou trabalhos de campo que resultaram em mapas e imagens que foram úteis no combate ao mosquito *Aedes aegypti* e outras medidas profiláticas, como a

vacina. A Fundação Rockefeller participou da campanha contra a febre amarela até 1940. Neste ano, foi criado o Serviço Nacional da Febre Amarela (8).

O Brasil foi ainda o primeiro país a receber a vacina 17D, em 1937, quando inicialmente cerca de 200 pessoas receberam a vacina (3). Foi testada em larga escala no município de Varginha (Minas Gerais) e posteriormente em outros municípios (8). O combate intensivo à febre amarela permitiu que, em 1942, fossem notificados os últimos casos da febre amarela urbana no Brasil. Em 1958, o Brasil foi declarado livre do *Aedes aegypti*. Entretanto, na década de 1970, o mosquito voltou a infestar as cidades, espalhando-se na década de 80, aumentando o risco do reaparecimento da doença (10).

Nesse período em que o vetor se espalhava, houve o reaparecimento dos surtos de febre amarela silvestre. Em 1972, foi descrito um surto grave em Goiás. Em 1974, casos foram relatados em Minas Gerais e Mato Grosso. Em 1980, um novo surto em Goiás causou 5 mortes. Em 1981, então, o Ministério da Saúde lançou uma campanha de vacinação contra a febre amarela com o objetivo de prevenir febre amarela silvestre na região amazônica e no Centro Oeste (11).

Em 1997, foram notificados 3 casos de febre amarela silvestre. Houve um crescimento com 34 casos em 1998, 76 casos em 1999 e 83 casos em 2000. O ano 2000, foi também o ano em que o primeiro caso autóctone foi registrado no Distrito Federal (11).

Em 2004 e 2005, os casos confirmados estavam restritos a região amazônica. Em 2008, foram confirmados casos no Goiás, Mato Grosso do Sul, Distrito Federal, Mato Grosso e Paraná (12).

De setembro de 2008 a junho de 2009, 2 surtos ocorreram em populações não vacinadas. Nesse período 270 casos foram considerados suspeitos. No Rio Grande do Sul foram confirmados 21 casos (9 óbitos – 43% de letalidade) e em São Paulo, 28 casos (11 óbitos – 39%). Nessa ocasião foram distribuídas mais de 5.500.000 doses da vacina nas áreas mais afetadas (13).

A ampliação das áreas de vacinação e a vigilância epidemiológica tem reduzido os casos da doença no país (12).

1.1.2. O vírus amarelo

O vírus amarelo é originário da África e compõe-se por RNA de fita simples, não segmentado (14).

Apresenta apenas um subtipo com variações genéticas na África e América do Sul. Tais variações não se encontram relacionadas à atividade de doença (4).

Seu genoma é constituído de 10.862 nucleotídeos, que codificam 3.411 aminoácidos. Apresenta uma única região codificante, que é responsável pela formação das inúmeras proteínas virais. Duas regiões não-codificantes são também encontradas e embora não contribuam com formação de proteínas, têm o seu papel na regulação e expressão viral, como replicação virulência e patogenicidade.

Três proteínas estruturais são dignas de nota: proteína M, E e C. Essas codificam o precursor da proteína de membrana (M), o envelope (E) e o capsídeo viral (C). Os vírions da febre amarela, e sua representação esquemática, são apresentados na Figura 1. Durante uma infecção em organismo humano, a resposta imune dirige-se a essas proteínas (7). Há outras 7 proteínas não estruturais: NS1, NS2A, NS2B, NS3, NS4A, NS4B e NS5 (15). Esta classe de proteínas está relacionada com a replicação viral (16).

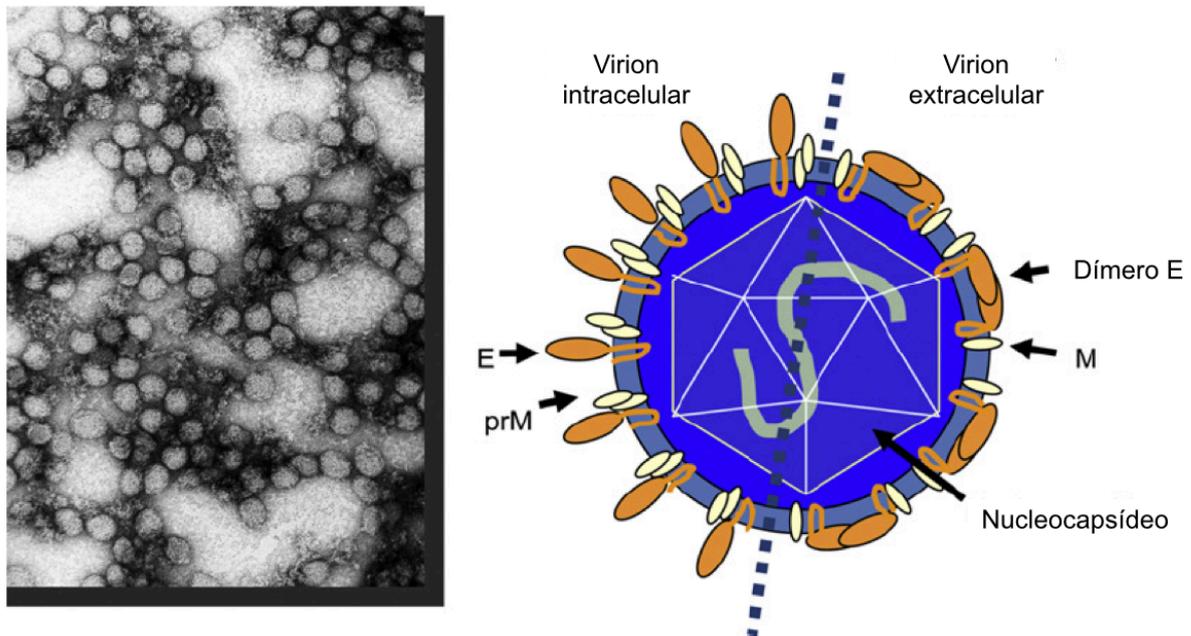


Figura 1. Vírions da febre amarela e sua representação esquemática. Adaptado de Gardner (2010)

O vírus interage com a célula do hospedeiro por meio de receptores de superfície e é internalizado por endocitose. O baixo pH do endossomo é fator facilitador para a liberação do nucleocapsídeo no citoplasma. A partir daí se dá a translação do genoma viral (7).

1.1.3. Epidemiologia

A febre amarela é transmitida mediante a picada de insetos hematófagos da família *Culicidae*, em especial dos gêneros *Aedes*, *Sabethes* e *Haemagogus* (1, 17, 18).

Do ponto de vista epidemiológico, os ciclos de transmissão podem ser diferenciados em urbano, silvestre e intermediário. No primeiro, tem-se uma antroponose e portanto, não há fontes de infecção não-humanas envolvidas na transmissão (17). O homem infectado é quem amplifica e dissemina o vírus na área afetada. No segundo, tem-se uma zoonose, cujas fontes de infecção são principalmente primatas não-humanos, e transmitida por mosquitos silvestres. No último, há um vetor de ligação entre os sítios (1).

O Brasil possui a maior área endêmica da febre amarela silvestre do mundo (18). O vírus está presente principalmente região Norte, Centro Oeste e parte do Maranhão. Novos surtos da doença têm ocorrido na região Sul e Sudeste como resultado de uma combinação de fatores como condições climáticas, tráfego de pessoas e animais, levando à expansão da área de transmissão (19). Cerca de 30 milhões de pessoas encontram-se atualmente expostas à infecção em território brasileiro (4).

Aproximadamente 200.000 casos de febre amarela ocorrem anualmente no mundo. Cerca de 90% dos casos da doença ocorrem na África (20). A transmissão na América do Sul é menor porque a cobertura vacinal é maior nessa região (7). Os números anteriormente apresentados são provavelmente subestimados por conta das infecções não diagnosticadas ou diagnosticadas erroneamente (21). Estima-se que, em epidemias, a incidência de infecção possa atingir entre 20 e 40% da população não imunizada e que 1 entre 7 pessoas infectadas desenvolva a doença (22).

O risco de infecção de viajantes não vacinados que visitam a África durante períodos de atividade epidêmica chega a 1:267 e o risco de morte a 1:1.333, sendo menor em períodos não epidêmicos. Na América do Sul, o risco é dez vezes menor porque a transmissão pelo ciclo silvestre é menos frequente (23).

Alguns fatores interferem no risco para o viajante, entre eles o período do ano, o itinerário de viagem, as atividades desenvolvidas, a densidade da população de vetores e a circulação do vírus amarelíco (23).

O número de casos de febre amarela tem aumentado por causa da redução dos cuidados preventivos como vacinação e dificuldade de controle do vetor bem como migrações e aumento de áreas urbanizadas (7, 24). Os países nos quais há vetores e hospedeiros primatas não humanos são vulneráveis a introdução do vírus, ainda que a doença não seja endêmica. O risco é maior em regiões densamente infestadas com o *Aedes aegypti*, como Ásia, Caribe, América Central e costa da América do Sul (23).

Atualmente 44 países são afetados pela doença, correspondendo a mais de 970.000.000 pessoas vivendo em áreas de risco, cerca de 15% da população mundial. São estimadas entre 675 a 30.000 mortes ao ano. Estima-se que 1 a 2 %

dos sintomáticos apresentem sequelas secundárias à doença, já que muitos pacientes necessitam de cuidados intensivos e intervenções em unidades de terapia intensiva (24).

Países considerados sem risco são aqueles que não tem evidência passada ou presente de circulação do vírus da febre amarela ou não são ecologicamente propícios à infecção. Dois parâmetros ecológicos são úteis para se determinar áreas de risco: a vegetação e a altitude. Não há relatos de casos ocorridos acima de 2.300 metros de altura (21). Na África, áreas do deserto do Saara não oferecem risco de transmissão por não permitirem o desenvolvimento de larvas dos mosquitos vetores (23).

Desde a metade do século 20, mapas das áreas de risco tem sido criados para orientar os viajantes. Os critérios para inclusão ou exclusão dessas áreas deve obedecer as orientações estabelecidas pela Organização Mundial de Saúde (OMS) em 2010 (23). A figura 2 ilustra as áreas de risco para a transmissão da febre amarela na América do Sul.



Figura 2. Áreas com risco de transmissão do vírus da febre amarela na América do Sul (Adaptado de Jentes,2010)

As áreas endêmicas são aquelas em que há transmissão enzoótica por um longo período de tempo e onde infecções são reportadas em humanos e/ou primatas não humanos repetidas vezes. Áreas em que casos da doença eram frequentes antes da imunização também são consideradas endêmicas. Nessas regiões o risco é considerado alto e vacinação é recomendada para viajantes maiores de 9 meses. As áreas transicionais são regiões em que casos são relatados em situações de expansão epizootica ou epidemias. A recomendação vacinal é idêntica às endêmicas (23).

Em publicação recente, elaborada por causa do grande número de turistas esperados durante a Copa do Mundo de 2014, as áreas com recomendação de vacina são: toda a região Norte e Centro-oeste, o estado do Maranhão, Minas Gerais. Alguns municípios do Piauí, o oeste e noroeste da Bahia, norte do Espírito Santo, noroeste de São Paulo e Oeste da Região Sul (25).

O tempo de trânsito de 12 horas ou mais em aeroporto internacional, independente da classificação de risco do país onde este está localizado, é considerado situação de risco para transmissão de febre amarela (23).

Por causa da ausência de tratamento específico, a prevenção por meio de proteção pessoal ou vacinação é crucial para redução do risco de doença e sua mortalidade (23, 26).

A suscetibilidade à doença é geral e irrestrita (1). O quadro clínico varia desde um quadro febril leve à infecção grave, podendo levar ao óbito. Diferenças entre as cepas virais, bem como fatores relativos ao hospedeiros são os responsáveis pelo largo espectro dos sintomas clínicos (7). Exposição a outros arbovírus, transmissão transplacentária de anticorpos IgG e vacinação prévia tem sido descritos (2, 18). O pico de viremia ocorre entre 2 e 3 dias após o início dos sintomas, sendo maior nos casos em que há evolução para o óbito (7). No entanto, um dia antes já há viremia e possibilidade de transmissão (18). O período de incubação varia entre 3 e 6 dias, em média, mas pode chegar a 10 dias (1).

A febre amarela pode ser assintomática ou se apresentar nas formas leve, moderada ou grave. Nas formas leve e moderada, os sintomas são inespecíficos, podendo confundir-se com outras doenças (1, 18). Acredita-se que haja 1 caso

grave para cada 8 infecções brandas ou assintomáticas. A avaliação de casos de febre amarela ocorridos entre 1969 e 2011, na África e América do Sul, indicou que a probabilidade de casos serem assintomáticos foi de 0,55 (IC_{95%} 0,37-0,74), casos leves 0,33 (IC_{95%} 0,13-0,52) e grave 0,12 (IC_{95%} 0,2-0,12%) (27).

O quadro clássico da doença se estabelece em 3 fases. A primeira ocorre no período de viremia e apresenta-se com febre, mal estar, náuseas, vômitos, irritabilidade, mialgia generalizada, tontura e toxemia (1, 20). Exames laboratoriais, nessa fase, podem mostrar aumento de transaminases e leucopenia. Pode ocorrer um dos sinais clássicos da doença, o sinal de Faget (bradicardia na vigência de febre) (1). A segunda fase corresponde a um período de melhora e remissão da febre que pode durar até 48 horas. Essa melhora corresponde ao clareamento viral provocada pela resposta celular e produção de anticorpos (18). A última e terceira fase caracteriza-se por retorno dos sintomas, icterícia associada à diátese hemorrágica, com coagulação intravascular disseminada e falência multiorgânica (20).

Nos casos leves, os sintomas correspondem às fases 1 e 2. Na forma moderada, o quadro clínico é mais arrastado. Nos casos graves, aqueles que desenvolvem a terceira fase, também conhecidos como a forma hemorrágica da doença, a evolução pode levar à falência renal e hepática, dano cardíaco, hemorragia, choque e óbito (24, 28). Os aumentos de transaminases mostram-se diretamente proporcionais à gravidade da doença (1, 20). A hiperbilirrubinemia é principalmente à custa da fração direta e confere a coloração típica desta enfermidade (1).

Há evidência que a resposta inflamatória sistêmica (SIRS) contribua para os eventos terminais e óbito. Já os sintomas iniciais seriam decorrentes da resposta imune inata, incluindo interferon-gama (IFN- γ), fator de necrose tumoral alfa (TNF- α) e outros reagentes de fase aguda (29). Estima-se que apenas 10-15% do total de casos corresponda a formas graves, associadas à elevada letalidade, variando de 20 a 50% dos casos. Durante os surtos, a idade média dos pacientes varia entre 20 e 30 anos (24, 30).

Os pacientes acometidos podem se beneficiar do tratamento em unidades de terapia intensiva. Não existe medicamento antiviral contra a doença. A imunização

passiva, testada em macaco *rhesus*, falhou como alternativa de tratamento. O uso de IFN- α foi capaz de reduzir o pico de viremia quando iniciado logo no início da infecção (29). A ribavirina foi testada em hamsters e inibiu a proliferação viral quando usada em até 72 horas do agravo infeccioso. Este estudo, de 2007, é o mais recente sobre o uso de ribavirina no tratamento da febre amarela (31).

Embora as alternativas terapêuticas se mostrem eficientes em animais no início da infecção, seu uso na prática clínica é dificultado porque o diagnóstico deve ser feito nas primeiras horas para que haja tempo hábil de tratamento (29).

Não há tratamento específico para a doença e a vacina é a forma mais segura de prevenção (1, 30).

1.2. VACINA ANTIAMARÍLICA

O desenvolvimento da vacina iniciou-se com a identificação do mosquito como transmissor da doença por Walter Reed e sua equipe (5). As tentativas iniciais de imunização consistiam de 1 a 4 picadas de mosquitos infectados em indivíduos sãos. Muitas outras vacinas foram testadas até que a vacina 17D fosse desenvolvida por Max Theiler em 1937 (5, 6).

Theiler descobriu que o vírus podia ser propagado por passagens no cérebro de ratos, com diminuição do tempo de propagação e patogenicidade. Ao lado de Eugen Haagen, demonstrou que o vírus pós passagem em ratos era capaz de adaptar-se a culturas de frangos embrionários. No entanto, o vírus obtido não era seguro o suficiente porque apresentava um neurotropismo elevado. O problema foi resolvido com a passagem da cepa Asabi (isolada do sangue de um africano de 28 anos, que foi afetado pela febre amarela e sobreviveu) por diversas vezes em tecido embrionário de frango. Entre a 89^a e 114^a passagem, o vírus perdeu significativamente suas propriedades neurotrópicas e viscerotrópicas (6). A vacinação iniciou-se pelo Brasil em 1937 e em 1 ano, 59.000 pessoas foram vacinadas, sem complicações graves. Contudo, com o uso da vacina, foram observados casos de icterícia tardia, atribuídos ao solvente (5).

A vacina era inicialmente formulada a partir de soro humano porque o vírus era instável em água ou solução salina. Eram necessários 8 a 10 litros de soro humano a cada semana para produção vacinal. Este era obtido de estudantes e funcionários do *John Hopkins School of Hygiene and Public Health*. Por isso, houve alguns casos de “icterícia” pós imunização antiamarílica. Posteriormente, atribuiu-se à hepatite B (16). Com a substituição do soro em 1942, não houve mais casos de hepatite B relacionados à vacina (5, 16).

Max Theiler desenvolveu uma vacina eficaz e segura (6). Desde então, a vacina de vírus vivo atenuado tem protegido aproximadamente 400 milhões de pessoas (32). A vacina oferece proteção por pelo menos 10 anos, e talvez até mesmo para a vida toda. Mais de 90% dos vacinados desenvolvem anticorpos protetores contra a febre amarela (33).

Dois tipos de cepas são usados na fabricação de vacinas, a 17D e a 17DD, correspondem ao nível de passagem 235-240 e 286-287, respectivamente. Atualmente há 10 produtores de vacinas contra a febre amarela, mas apenas 3 (Biomanguinhos no Brasil; Sanofi-Pasteur na França e Instituto Pasteur em Dakar no Senegal) são pré-qualificadas pela Organização Mundial de Saúde (OMS) e que fornecem vacinas a agências internacionais (34).

Todas as vacinas 17D são fabricadas a partir de cepas cujo potencial de mutações é minimizado. Entretanto, as vacinas não são clonais e constituem variações genéticas de subpopulações de vírions com diferentes sequências genômicas e características fenotípicas (35).

A vacina antiamarílica é indicada para pessoas que vivem em áreas endêmicas, para aqueles que viajam para essas áreas e trabalhadores de laboratórios que entrem em contato com o vírus (35).

1.2.1. Imunogenicidade pós vacinal

A vacinação antiamarílica provoca uma infecção viral aguda. O vírus é capaz de replicar-se 24 horas após a sua entrada (36). Já o pico de viremia ocorre entre 3 e 7 dias da vacinação (37).

A resposta imune pós vacinal no organismo não é compreendida completamente, mas acredita-se que o processo de ativação/modulação seja bastante complexo e envolva padrão misto de citocinas (38).

A resposta inata é um determinante crítico da resposta vacinal contra a febre amarela (36). A cepa vacinal 17DD desencadeia a imunidade inata, especialmente devido à interleucina (IL)-12 em neutrófilos e monócitos e fator de necrose tumoral alfa (TNF- α) em neutrófilos (39). Observou-se *upregulation* do CD28 e CD23 dessas células, indicando, portanto, ativação (40). A expressão aumentada de receptores *toll-like* (TLR) 3 e 9, que estão associados à ativação de células NK (*natural killer*) é observada. Estas são linfócitos com capacidade citolítica, derivados da medula óssea, ativados por citocinas, substâncias derivadas de patógenos ou células alvo que expressam seus ligantes. O aumento desses receptores comprova a participação da resposta não adaptativa (36, 39). No entanto, há uma redução das células NK ativadas circulantes no dia 7, seguida de uma resposta compensatória no dia 15, demonstrada pelo aumento de frequência das células pré-NK (CD3⁻CD16⁺CD56⁻) e diminuição das células maduras (40). A elevação de IFN- γ é evidente no 15^o dia pós vacinal (39). Os componentes do sistema do complemento C1QA, C1QB, C3AR1 e SERPING1 encontram-se aumentados nos 7 primeiros dias após a vacinação (37).

As células NK atuam na fase inicial limitando o alastramento do patógeno. Estudos indicam que essas células parecem capazes de escolher as DC (células dendríticas) apropriadas para apresentação aos linfócitos T em compartimentos linfoides. As células NK também promovem a maturação das DC e produção de citocinas. Células dendríticas incubadas com o vírus *in vitro* demonstram aumento marcante de IL-1 β . Genes relacionados a macrófagos e a DC foram induzidos de forma significativa pela vacina, entre eles CD8, CSF1R, MARCO e IF116 (37). Tal ativação parece estar relacionada ao desenvolvimento de memória imunitária contra o vírus amarelo (39).

O vírus 17 D ativa as DC mieloides e plasmocitoides via TLR2, TLR 2, TLR8 e TLR9, levando a produção de citocinas pró inflamatórias potentes, incluindo IFN- α (41). Dessa forma, a resposta inata modula a qualidade e quantidade das células T e B (36).

A expressão aumentada de IL-10R pela maioria das células da imunidade inata ocorre em maior intensidade no décimo quinto dia pós vacinal. *Up-regulation* do CD16 em neutrófilos (dia 7) e CD32 em monócitos (dia 7, 15 e 30) revelam a presença de padrão imunomodulatório na resposta ao vírus vacinal (40).

A vacina antiamarílica possui uma resposta T mais ampla, por ser fabricada a partir de vírus vivo atenuado (42). Acredita-se que a ativação das células TCD8 ocorra por volta do sétimo dia pós-vacinal. Tal hipótese é suportada pelo perfil de expressão de moléculas de adesão que ocorre nesse período, compondo-se de uma porcentagem reduzida de células CD8⁺CD62L⁺ (41). Observa-se um pico de TCD8, no décimo quinto dia (42).

São observadas distintas cinéticas de ativação nos linfócitos TCD4 e CD8. Observou-se, no dia 7, aumento da proporção de células TCD8 com marcadores de ativação inicial (CD69) e de TCD4 com marcadores de ativação tardia (HLA-DR⁺), a comparar-se com o dia 0 (41). Outras características de ativação como o aumento de CD38 e Ki67 e redução do BCL-2 também ocorrem (15). A transição das células TCD8 efetoras para célula T de memória ocorre de forma gradual, perdurando por várias semanas (42). Observa-se *up-regulation* de marcadores relacionados a resposta tipo 1 (CXCR3) no 15^o dia (41). Também no 15^o dia ocorre o pico da resposta TCD8, quando 4-13% dessas células expressam CD38 e HLA-DR (15). Entretanto, o receptor que melhor se correlaciona com a ativação das células CD4 e CD8 no 30^o dia, é o CCR2, tipo 0 (41).

As células B sofrem um processo de ativação e modulação após a primovacinação. Há baixa frequência de células CD19⁺ circulantes no dia 7. No entanto, no 15^o dia, é observado aumento de características fenotípicas de ativação e modulação. A ativação é percebida pelo aumento da porcentagem de células CD19⁺CD69⁺ enquanto a modulação pelo aumento da expressão de CD32 e redução das células CD19⁺CD23⁺ associada a falhas distintas da resposta imune mediada por citocinas (36, 41). Nesse caso, a falha se dá no perfil inflamatório da imunidade inata, notadamente de IL-12 e IFN- γ derivada de neutrófilos e monócitos. Há deficiência IL-1 e IL-2 produzidas pelas células TCD4⁺ e IL-4 produzidas por células TCD8⁺. A revacinação é capaz de corrigir a falha em pacientes inicialmente soronegativos. Em crianças primovacinas, o perfil de citocina após a vacina 17D

inclui as citocinas seguintes em ordem crescente: IL-10, IL-5, IFN- γ , IL-4, TNF- α , e IL-12 (39).

A vacina 17D induz a produção de anticorpos neutralizantes da subclasse IgM após 7 dias da vacinação, com pico em 2 semanas. Nas primeiras 4-6 semanas, os títulos de IgM são mais altos do que a subclasse IgG, podendo persistir por até 18 meses. Já os anticorpos IgG podem persistir por mais de 40 anos (15). A resposta imune após a vacinação antiamarílica é representada na Figura 3.

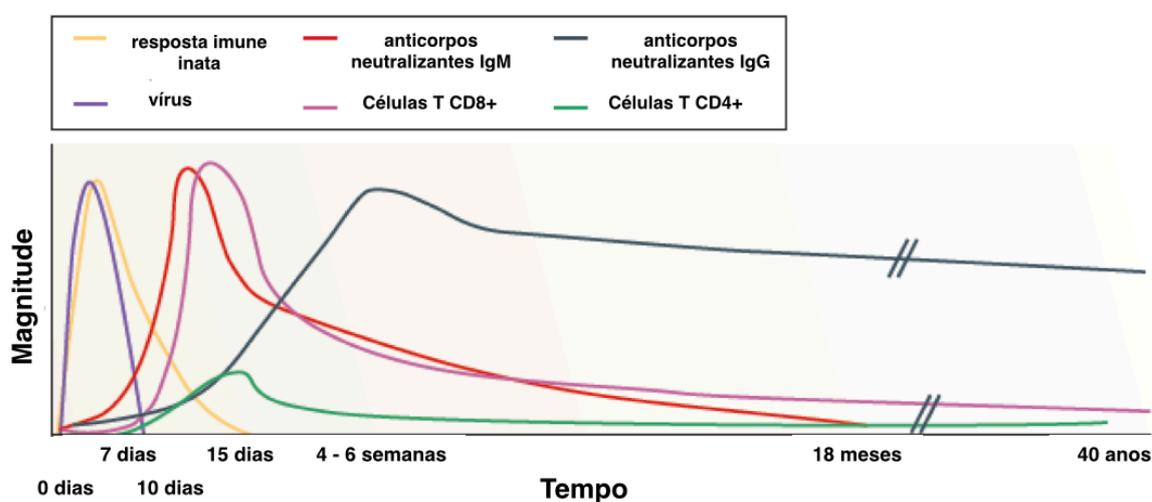


Figura 3. Resposta imune após a vacinação antiamarílica. Modificado de Pulendran (2009)

Portanto, tendo como base o padrão de marcadores e citocinas já estudados, acredita-se que a resposta imune após a primovacinação é de padrão misto, com relevância da imunidade inata e adaptativa (39, 41).

1.2.2. Efetividade da vacina

A habilidade da vacina antiamarílica de promover proteção é baseada em inferências (43). Os títulos mínimos de anticorpos neutralizantes considerados em níveis protetores foram estimados a partir de estudos de dose e resposta em macacos *Rhesus*, expostos ao vírus ativo. Não há estudos em humanos pois a

exposição intencional fere princípios éticos (26). Outras inferências são: a redução de novos casos nos países onde há vacinação e a capacidade de estimular a produção de anticorpos neutralizantes. Em casos de imunização passiva, estes são capazes de proteger contra a doença em (43).

Testes imunológicos facilmente executáveis permitem o mapeamento de áreas endêmicas e ajudam a decidir as medidas de controle necessárias. Por isso, o desenvolvimento de diferentes técnicas tem sido constante. Os testes de proteção em ratos (*mouse protection tests*) foram descritos em 1931. Consistiam na inoculação de soro ou vírus na cavidade peritoneal desses animais. Aqueles que sobrevivessem eram considerados imunes (44).

Após o surgimento da vacina em 1937, outras técnicas para avaliar a resposta imune protetora também foram desenvolvidas. O teste de imunofluorescência, o ELISA e o teste de inibição da hemoaglutinação e o teste de neutralização por redução em placas (PRNT) são ensaios que podem aferir a imunidade contra a febre amarela (45).

O PRNT, inicialmente descrito em 1969, é considerado o padrão ouro (45). O PRNT mede a habilidade do soro em neutralizar o vírus amarelíco. A técnica emprega cultura de células em monocamada. A atividade neutralizante é determinada a partir de diluições seriadas do vírus 17D (16). Embora o PRNT seja o método padrão ouro para determinação de anticorpos neutralizantes, há diferenças metodológicas entre os laboratórios que podem tornar as comparações difíceis. Por isso, há necessidade do uso de controles positivos e negativos para melhor controle de qualidade (45, 46). O uso de unidades internacionais como unidade de medida tem sido recomendado (46).

Poland comparou o método *mouse protection test* (MPT) com o PRNT. Avaliou 39 soros sem anticorpos pelo método PRNT e observou que 38 também foram negativos pelo MPT. Portanto, os dados obtidos por esse autor apontaram maior especificidade do PRNT. Também analisou 48 soros cujo resultado se mostrou negativo pelo método MPT. Destes, apenas 38 foram negativos pelo PRNT, indicando maior sensibilidade deste último método (47).

Niedrig avaliou 209 voluntários e não encontrou relação consistente entre os resultados do PRNT e de outros ensaios. O teste de imunofluorescência apresentou

baixa sensibilidade. Apenas para valores maiores do que 1:50 foram observados aumentos nos resultados desse método. O ELISA se mostrou com alta sensibilidade, mas sem correlação com os resultados do PRNT (45).

Um outro estudo, de Camacho e colaboradores, avaliou a vacinação de 1.087 pacientes, no Brasil, apontou mais de 98% de soroconversão (48).

Quando a primovacinação é efetiva, a revacinação não parece trazer benefícios adicionais (26). Reinhardt e colegas avaliaram a resposta à vacinação em 17 indivíduos saudáveis. Cinco deles haviam vacinado há pelo menos 10 anos e 12 nunca haviam vacinado. Entre os primovacinados observou-se o surgimento de anticorpos neutralizantes a partir do sexto dia em 25% da amostra e de 100% após duas semanas. Sete primovacinados foram reavaliados após 7 meses e mantiveram os anticorpos. Todos 5 previamente vacinados apresentavam títulos positivos apesar da vacinação ter ocorrido a mais de dez anos (título médio 1:72). A revacinação provocou um aumento transitório dos títulos, correspondendo a um título médio de 1:169 e 1:126 em 2 e 4 semanas, respectivamente. No entanto, após 7 meses, a média do título de anticorpos neutralizantes foi semelhante ao encontrado previamente à revacinação (49).

Quando a resposta sorológica à primovacinação é negativa ou baixa, a revacinação é eficaz (26). A análise retrospectiva do soro armazenado pelo Programa de Imunizações do exército americano (*United States Army Medical Research Institute of Infectious Diseases – USAMRIID*) foi feita com objetivo de avaliar o efeito sorológico da revacinação (*booster*). Os anticorpos neutralizantes foram medidos pelo método PRNT e os pacientes foram divididos em 3 grupos de acordo com os títulos que apresentaram antes do *booster*. O grupo 1 (n=829) tinha valores menores que 1:10, o grupo 2 (n=121) tinha valores de 1:20 ou 1:40 e o grupo 3 (n=79) valores maiores do que 1:40. A razão pós/pré booster no grupo 1 foi de 11,1 (IC_{95%}: 10-12,5); no grupo 2, 4,6 (IC_{95%}: 3,7-5,6) e no grupo 3, 1,3 (IC_{95%}: 1,1-1,5). A taxa de reposta (aumento dos títulos maior ou igual a 4 vezes), observou-se 78% no grupo 1, 65% no grupo 2 e 10% no grupo 3. Os dados desse estudo demonstraram que houve aumento mínimo naqueles pacientes que tinham maiores títulos de anticorpos (50).

Outra questão relacionada à eficácia, é relativa à concentração de antígenos presentes. O número mínimo de partículas virais em uma dose de vacina ($3 \log_{10}$ MLD – dose letal média para 50% de um lote de camundongos) foi definido pela Organização Mundial de Saúde mas não há um limite máximo. Um estudo que contou com a participação de 900 voluntários, avaliou a produção de anticorpos neutralizantes em indivíduos submetidos a vacinas com diferentes concentrações de partículas virais. O trabalho demonstrou que a proporção de soroconversão aumenta substancialmente até determinada concentração de partículas virais (para o estudo em questão 587 UI). Em concentrações maiores de vírus, a resposta imune se torna similar. A vantagem, então, do uso de quantidade menor de partículas virais seria o aumento da produção vacinal sem prejuízo da produção de anticorpos neutralizantes (34).

1.2.3. Duração da imunidade

Há evidência de que a imunidade protetora pós vacina antiamarílica perdure por longos períodos (26).

Poland e colaboradores avaliaram, em militares, a persistência de anticorpos por 30 a 35 anos após a vacina 17D. Foram avaliadas 149 amostras por um ou dois dos seguintes métodos: *mouse protection test* (MPT) ou *plaque reduction neutralization test* (PRNT). O grupo de vacinados era composto por 116 pessoas, cujas amostras foram negativas em 21,6% dos casos. Já no grupo de não vacinados, a soronegatividade foi de 81,8% pelo método PRNT (47).

Niedrig avaliou 209 pessoas que receberam a vacina antiamarílica. Estas receberam vacinas de diferentes fabricantes: Robert Koch Institute na Alemanha (153); Glaxo-Wellcome, no Reino Unido (39); Pasteur, na França (4); Connaught, no Canadá (1) e origem desconhecida (13). A idade variou entre 10 e 79 anos, com 25% de mulheres. A análise do soro foi feita pelos métodos: PRNT, imunofluorescência, ELISA e teste de inibição da hemoaglutinação. Os resultados do estudo demonstraram uma queda tempo-dependente dos níveis de anticorpos neutralizantes. Nesse trabalho, a porcentagem de amostras com títulos superiores a

1:10 ("soropositivos") é de 94% após o primeiro ano de vacinação e de 74,5% após dez anos (45).

Martins avaliou o soro de 839 voluntários após a vacinação com diferentes concentrações de partículas virais. Dentre aqueles que apresentaram soroconversão, a queda dos níveis de anticorpos após 10 meses foi semelhante independente da quantidade de partículas virais inoculadas (34).

Groot e Riberiro encontram dados divergentes da maior parte dos trabalhos sobre duração. Realizaram um estudo que analisou amostras de 108 voluntários recrutados em área não endêmica. Todos tiveram o soro coletado previamente a vacinação. Noventa e sete por cento dos vacinados produziram anticorpos neutralizantes após a imunização. Após 17 anos, foram avaliados 53 soros. Os autores observaram que apenas 43% das amostras se encontravam positivas (23/53) (51).

1.2.4. Segurança vacinal

Durante décadas, a vacina 17D contra febre amarela mostrou-se segura, exceto por raros casos de encefalite pós-vacinal que ocorreram principalmente em crianças menores do que 9 meses de idade (52).

Desde 1982, a vacina 17D (derivada da cepa Asabi) tem sido a única utilizada no mundo. A Organização Mundial de Saúde recomenda uma das duas que estão em uso atualmente são derivadas de duas subcepas, a 17DD e a 17D-204, obtidas após 195 e 204 passagens em embriões de frango (5, 26).

O neurotropismo é uma característica inerente ao vírus da febre amarela e que foi atenuada nas cepas vacinais. A neuroinvasão ou as manifestações autoimunes nas quais os anticorpos ou as células T produzidas contra o vírus reagem contra epítomos neuronais causando lesão neural periférica ou central (YEL-AND – *Yellow Fever Associated Neurotropic Disease*) é rara e mais propensa a ocorrer em crianças muito jovens, idosos e imunocomprometidos (23). Esta costuma ser leve e ter prognóstico favorável. Outras formas de acometimento do sistema nervoso tem sido descritas, como Síndrome de Guillain-Barrè e encefalomielite

aguda disseminada. Dados do sistema de vigilância epidemiológico americano *Vaccine Adverse Event Reporting System* (VAERS) indicam predomínio do sexo masculino (6,4:1) e 0,4-0,8 casos a cada 100.000 pessoas, nos Estados Unidos (35).

No entanto, na última década foi reconhecido outro evento adverso grave, a doença multi-sistêmica devida à vacinação antiamarílica (YEL-AVD – *Yellow Fever Associated Viscerotropic Disease*) (1, 33). Descrita inicialmente em 2001, a YEL-AVD tem sido descrita apenas em pessoas vacinadas pela primeira vez (35). Esse tipo de doença é indistinguível da febre amarela selvagem (1, 53). O tempo médio entre a vacinação e o início dos sintomas é de 3,8 dias. Este tempo é semelhante ao período de incubação do próprio vírus selvagem. O quadro clínico progride com febre, disfunção múltipla de órgãos, choque, trombocitopenia e síndrome inflamatória sistêmica. Entre as diferenças, destaca-se que os eventos hemorrágicos são menos proeminentes na YEL-AVD por motivos ainda desconhecidos (35).

O diagnóstico definitivo requer um ou mais dados que indiquem a presença do vírus:

- presença do vírus 17D no sangue 10 dias ou mais após a vacinação;
- presença do RNA viral após 14 dias da vacinação;
- viremia maior do que $3 \log_{10}$ unidades infecciosas;
- vírus em tecidos *pos mortem* ou na histopatologia (35).

A sua patogênese dá-se por replicação do vírus vacinal e danos aos órgãos viscerais em velocidade maior do que o hospedeiro pode combater. A incidência de morte após YEL-AVD é maior do que em outras vacinas de vírus vivo como contra poliomielite, por exemplo (22). As mutações virais não são capazes de explicar a ocorrência da YEL-AVD (35).

Outros eventos adversos relatados podem ser de natureza neurológica (mielite, alteração de status mental, déficits focais, paresias, vertigem, cefaleia), local (dor localizada, endureção, eritema, calor) ou multi-sistêmica (mialgia, artralgia, rabdomiólise, aumento de transaminases, náuseas, vômitos, diarreia). Também podem ser devido a reações de hipersensibilidade como erupção cutânea, urticária, febre, anafilaxia, asma ou angioedema. Esses eventos costumam ocorrer entre 5 e 7

dias da vacinação (1, 33). A reatogenicidade em crianças é semelhante a dos adultos (35).

Alguns grupos são sabidamente mais susceptíveis aos eventos adversos graves: idade maior do que 60 anos, crianças, gestantes portadores de HIV (vírus da imunodeficiência humana) e imunocomprometidos (21, 54). Polimorfismos nos genes da resposta inata estão associados com controle deficiente da infecção pelo vírus 17D e estão envolvidos em eventos adversos viscerotrópicos em alguns indivíduos (35).

Em camundongos, a resistência ou susceptibilidade é controlada por alelos de um gene autossômico (*Fiv*) que codifica a 2'-5'-oligoadenilato- sintetase 1b (*Oas1b*). Em humanos, há quatro genes OAS (*OAS1*, *OAS2*, *OAS3* e *OASL*). A variação no alelo *OAS 1* tem sido associada a susceptibilidade ao flavivírus West Nile. O gene *OAS* foi avaliado em poucos pacientes que apresentaram YEL-AVD. Por isso, embora haja relatos de polimorfismo não há demonstração definitiva dessa associação (35).

De 1973 a março de 2011, foram descritos 65 casos de YEL-AVD. A letalidade descrita varia de acordo com a região geográfica. Na América do sul é 88% (28 casos em 32). Já nos Estados Unidos, Japão, Austrália e China foram 13 óbitos em 33 casos, correspondendo a letalidade de 39%. Atribui-se essa característica a diferenças no suporte médico ou doenças de base. Há ligeira predominância do sexo masculino (1,4:1), mas a letalidade é maior em mulheres (76%) do que em homens (54%) (35).

As contraindicações ao uso da vacina são hipersensibilidade às proteínas do ovo de galinha, gestação (exceto em emergência epidemiológica), doença infecciosa aguda na vigência de febre, imunodepressão e idade menor que 6 meses (18). Dentre os casos de imunossupressão, incluem-se aqueles pacientes com deficiência adquirida, pelos mais diversos motivos (33). Dentre as causas, há contraindicação a imunodeficiência primária, neoplasias, imunossupressores como corticoides, agentes alquilantes, antimetabólicos, inibidores de TNF- α e IL-1 e anticorpos monoclonais contra células B ou T. A imunodeficiência favorece viremia prolongada, com maior risco de invasão de tecidos (35). É ainda contraindicada para nutrízes, porque há o risco teórico de transmissão do vírus vacinal durante a amamentação

(21). Deve haver precaução ainda naqueles maiores de 60 anos porque as doenças de base como diabetes, hipertensão, angiopatia amiloide e outros insultos microvasculares podem comprometer a barreira hematoencefálica. Os idosos também apresentam viremia prolongada e produção de anticorpos retardada em relação à indivíduos mais jovens. Baixas doses de corticoide (até 20 mg de prednisona por dia), uso por menos de 2 semanas, tópicos e intra-articulares não são considerados contraindicação ao uso da vacina (35).

A vacina antiamarílica é a única que pode ser exigida para tráfego internacional segundo o Regulamento Sanitário Internacional (*International Health Regulations* - IHR). A decisão cabe aos países e as restrições podem ocorrer em 3 níveis:

- 1) a vacinação não é exigida de nenhum viajante;
- 2) a vacinação é exigida de todos os viajantes (em geral, maiores de 9 meses de idade) ;
- 3) a vacinação só é requerida daqueles que estiveram em áreas com risco de transmissão da doença (21).

Todo caso suspeito de doença deve ainda ser notificado às autoridades internacionais em até 24 horas do diagnóstico, segundo o mesmo regulamento (18).

Ainda de acordo com o IHR, a vacina deve ser reaplicada a cada 10 anos, embora diversos estudos tenham comprovado que a imunidade pós vacinal pode ser ainda mais duradoura (21). Por isso, a partir de 2016, a proteção oferecida pela vacina será considerada duradoura pelo IHR (55).

O objetivo da vacinação é proteger os viajantes para áreas de risco e prevenir a disseminação internacional, minimizando o risco de importação e translocação do vírus por viajantes virêmicos. A cada ano, aproximadamente 9 milhões de pessoas da Ásia, Europa e América do Norte se deslocam para áreas endêmicas. Aqueles que viajam para regiões em que há circulação do vírus pode chegar a mais de 3 milhões (23).

A vacina antiamarílica causa uma viremia baixa entre 2 e 4 dias após sua aplicação em primovacinados (22). Uma vacina cujos vírus sejam incapazes de replicar-se poderia ser usada nos indivíduos com contraindicações à vacina 17D.

Em 2010, uma nova vacina desenvolvida a partir de vírus inativado foi testada por Monath e colaboradores. É também derivada da cepa 17D cultivada em células Vero. A inativação é feita por solução contendo beta-propiolactona, hidróxido de alumínio e estabilizantes. Além do vírus inativado, outra vantagem apresentada por tal vacina é a ausência do uso de ovos embrionados, possibilitando o uso em pacientes alérgicos à proteínas do ovo (37).

Pesquisas em humanos demonstraram boa capacidade de imunização, embora sejam necessárias duas doses. Foram avaliados, em estudo duplo cego, 60 voluntários entre 18 a 49 anos, com o objetivo de determinar perfil de segurança, eventos adversos e imunogenicidade. Os sujeitos foram divididos em 3 grupos: baixa dose, alta dose e placebo (controle). Foram feitas 2 aplicações em cada grupo, com intervalos de 21 dias entre as doses. Não foram encontrados eventos adversos graves. Os eventos adversos observados foram leves, como dor local mais comum nos grupos que receberam a vacina. Duas doses foram necessárias para a imunização com soropositividade dos anticorpos neutralizantes de 85 a 100% e 68 a 97% para os grupos de alta e baixa dose, respectivamente. Tal vacina pode ser uma alternativa futura para os casos especiais e contraindicações já mencionadas (56).

1.2.5. Risco benefício

Para calcular-se o risco de adquirir-se febre amarela durante uma viagem, deve-se conhecer a parcela da população imunologicamente susceptível (denominador). Por isso, para estimar o risco da febre amarela selvagem na população não imunizada, Monath selecionou regiões dentro das áreas endêmicas, excluindo as regiões transicionais onde a transmissão e a migração são mais variáveis. Para estimar-se o denominador o autor considerou o censo de 2001 a 2010 para estimar a fração da população susceptível (35).

Na primeira (baixa incidência), considerou-se imunidade em 90% da população (cobertura vacinal de 95% x soroconversão 95 % ; $0,95 \times 0,95 = 0,90$). Portanto 10 % da população seria susceptível a infecção. Para encontrar o risco, número de casos foi dividido pelo total dos pacientes não imunes x 100.000 (35).

Na segunda estimativa (alta incidência), considerou-se a população de imigrantes. Destes, 70% vem de áreas não endêmicas, onde a vacinação não é feita periodicamente. Considerou-se que 50% destes imigrantes não seriam vacinados e portanto 35% dos imigrantes não estariam imunizados. Considerando então os dois cenários, o autor encontrou um risco de infecção por febre amarela entre 3 (baixa incidência) e 18 (alta incidência) casos por 100.000 habitantes (35).

A taxa de eventos relacionados a vacina é similar àquela de casos de febre amarela durante os períodos de baixa incidência. No entanto nos períodos de alta incidência, o quadro se inverte (35).

Quanto a áreas não endêmicas, tem-se o exemplo ocorrido no Brasil. Em 2008 e 2009 houve um surto epizootico que acometeu o sul do país, parte do Paraguai e Argentina, com surgimento do primeiro caso em humanos em novembro de 2008. O último registro de circulação do vírus ocorreu há mais de 40 anos e portanto grande parte da população não estava imunizada. Foram 29 casos e 10 óbitos (letalidade 34%). Assumindo que a taxa de infecções é constante durante o período e que a taxa de infecção seja constante no período de 6 meses, o risco de doença (óbito) um viajante que permaneça por 1 mês é de 1,2 a cada 100.000. Já o risco do viajante apresentar efeito adverso grave é de 0,4 por 100.000 para YEL-AVD e 0,8 por 100.000 (total de 1,2 a cada 100.000) (35).

É importante levar em consideração que embora o risco seja semelhante, muitos dados podem ser subestimados e o risco real de infecção pelo vírus selvagem ser maior (35).

1.2.6. Uso em imunossuprimidos

Algumas características do indivíduo estão relacionadas à eficácia vacinal reduzida bem como a preocupações com os eventos adversos. Dentre essas, destaca-se a imunossupressão, por qualquer motivo (26). Dentre as contraindicações a vacina, está o seu uso em indivíduos imunossuprimidos, por causa do risco de doença vacinal (33). Por isso, há pouca evidência que relacione a vacina antiamarilica ao risco de eventos adversos graves nessa população (35).

Em casos de imunossupressão planejada, o período recomendado para a imunização com vacinas de vírus vivo é de 4 semanas antes do uso de imunossupressores. Entretanto, nem sempre isso é possível (57).

Um estudo retrospectivo multicêntrico avaliou a vacinação em indivíduos transplantados. Um questionário foi enviado a 699 médicos da Associação Brasileira de Transplante de Órgãos. Estes médicos foram convidados a aplicar este questionário durante a consulta de rotina. Foi questionado se os pacientes haviam recebido ou não a vacina. Não houve tempo pré-definido entre a vacina e o questionário e as informações foram baseadas apenas nas memórias dos pacientes. Dos 699 médicos, apenas 135 responderam (19,3%) e 12 reportaram 19 casos de vacinação antiamebílica. Dos 19 casos, apenas um teve manifestações locais (dor). Este estava em uso de micofenolato de mofetil 1000 mg e sirolimus 2 mg. Dois pacientes foram vacinados por 2 vezes. Os pacientes estavam em uso combinado das seguintes drogas: azatioprina (7 pacientes), ciclosporina (8), deflazacort (1), micofenolato de mofetil (7), micofenolato de sódio (3), prednisona (11), sirolimus (3) e tacrolimus (4) (58).

Hamsters foram imunossuprimidos com ciclofosfamida (100 mg/kg, intraperitoneal, a cada 4 dias) e posteriormente inoculados com a vacina 17D com o objetivo de avaliar a ocorrência de eventos adversos. Cinquenta por cento (10/20) dos animais desenvolveram sintomas neurológicos como letargia, paralisia, incapacidade de comer ou de beber. Não foram detectados anticorpos neutralizantes no grupo submetido à imunossupressão. A biópsia mostrou alterações neuronais focais, basofilia e infiltração linfocítica perivascular (59).

Os pacientes HIV positivo estão entre os considerados imunossuprimidos. Nesse grupo, a vacina é contraindicada nos indivíduos com CD4 menor do que 200 cels/mm³ (57). É recomendável que viajantes HIV positivos vacinados tenham os seus títulos de anticorpos neutralizantes aferidos e que sejam revacinados em caso de soronegatividade.(35),

Uma revisão sistemática de 2014, identificou 3 estudos de coorte que compreendiam 484 pacientes com HIV. Dois desses estudos demonstraram que aqueles pacientes que tem maior contagem de CD4 e aqueles que tem os níveis de RNA viral (HIV) suprimidos têm a melhor resposta imunológica. Nesse grupo de

pacientes não houve eventos adversos graves, embora haja relato de meningoencefalite atribuída a vacina 17 D em paciente com HIV (60).

Doenças do timo são fator de risco conhecido para eventos adversos graves. Dentre os primeiros 23 casos relatados de YEL-AVD, em 4 (17%) havia história de timoma ou timectomia (35).

Os idosos que são vacinados pela primeira vez são mais expostos aos eventos adversos. A incidência de efeitos adversos graves (YEL-AVD e YEL-AND) é maior nas pessoas maiores de 60 anos quando comparados a indivíduos mais jovens. Estudo comandado por Monath e colaboradores avaliou 2.961 pacientes de diferentes faixas etárias não observou diferença entre os títulos de anticorpos neutralizantes nas diferentes faixas etárias após o uso da vacina 17D. Não foram observados eventos adversos graves relacionados a vacina nessa amostra. Entretanto, observou que a ocorrência de eventos adversos leves foi menor nos indivíduos mais idosos (61).

Um outro estudo, de 2011, comparou a cinética de produção de anticorpos em indivíduos maiores do que 60 anos. Vinte e oito idosos e 30 indivíduos entre 18 e 40 anos foram vacinados e tiveram amostras de sangue colhidas, para dosagem dos anticorpos, nos dias 0, 3, 5, 10, 14 e 28. Não foram encontrados anticorpos em nenhum dos grupos nas avaliações do dia 0 e 3. No dia 10, houve diferença significativa ($p=0,03$) entre os grupos. Apenas 50% (14/28) dos idosos haviam soroconvertido, enquanto no grupo controle 77% (23/30) apresentaram títulos positivos. No 28º dia, não houve diferença significativa entre os grupos. Os resultados desse trabalho sugerem que os idosos têm a produção de anticorpos retardada, quando comparada com indivíduos mais jovens. Esse estudo também demonstrou que o RNA viral foi encontrado mais frequentemente no grupo dos idosos (24/28, 86%) do que no grupo controle (18/30, 60%) (62).

As crianças podem ter a resposta vacinal reduzida ou mesmo perder essa resposta de forma mais rápida, quando comparada a adultos (26). Outra consideração a ser feita em crianças é que o uso combinado de outras vacinas (rubéola e sarampo) pode reduzir a eficácia da vacina anti-amarelão. Os eventos adversos reportados em 23% amostra de 1.729 crianças de, 12 a 23 meses de

idade, foram considerados leves ou moderados. Foram reportados febre (14,2%), vômitos (1,9%), irritabilidade (3,3%), dor (2,8%) e vermelhidão local (1,5%) (63).

1.3. PACIENTES COM DIAGNÓSTICO DE DOENÇAS REUMÁTICAS, EM USO DE MEDICAMENTOS IMUNOMODULADORES, IMUNOSSUPRESSORES E A VACINA ANTI-AMARÍLICA

Os pacientes com diagnósticos de doenças reumáticas apresentam uma maior incidência de doenças infecciosas quando comparados com a população em geral. A letalidade também é aumentada quando comparada àqueles indivíduos hígidos (64). Tal condição decorre dos próprios mecanismos da doença e ao uso de medicação imunossupressora (65). Por isso, a vacinação tem sido cada vez mais recomendada a pacientes portadores de doenças reumáticas (66). Nesse grupo especial de pacientes, ela é uma estratégia para redução da letalidade relacionada à infecção (67, 68).

A imunização com vacinas obtidas a partir de fragmentos de patógenos ou toxinas é amplamente recomendada. Entretanto, esta não é a posição acerca das vacinas feitas a partir de microorganismos vivos. A exceção faz-se à vacina contra herpes-zoster (66). Em relação à vacina antiamarílica, estima-se um risco aumentado de desenvolvimento de febre amarela vacinal nos imunossuprimidos. Por tal razão, há uma carência de estudos a respeito da vacina 17D nessa população (54).

A vacina tem se mostrado segura em indivíduos imunocompetentes, com percentual de eventos adversos leves de aproximadamente 25% (69). Em estudo de série de casos com 70 portadores de doenças reumáticas em uso de imunomoduladores ou imunossupressores, esse percentual foi de 22,5% (16 pacientes), ou seja, semelhante à esperada para não imunossuprimidos. Não foram relatados casos de YEL-AVD ou YEL-AND. Foram encontrados exantema, cefaleia, mialgia, elevação transitória de enzimas hepáticas (70).

Um estudo francês avaliou especificamente a vacinação em uso de corticoides (dose média de 7 mg de prednisona). Trinta e quatro pacientes (9 deles com artrite reumatoide) e 68 controles foram avaliados quanto aos eventos

adversos. Não houve diferença estatística entre os grupos. No entanto, os usuários de corticoides apresentaram mais reações locais consideradas moderadas e graves do que os controles (12% x 2%) (71).

Outra consideração a ser feita em pacientes portadores de doenças reumáticas é quanto à eficácia da imunização. Esta é menor nos casos de imunossupressão mais intensa, mas ainda assim tem se mostrado benéfica (66).

São diversas as drogas imunomoduladoras e imunossupressoras utilizadas bem como o seu mecanismo de ação. O grau de imunossupressão aplicado é proporcional à gravidade da doença a ser tratada.

Dentre as drogas, seguem-se as mais utilizadas:

- Corticoides: capazes de inibir TNF, IL-1, IL-2, IL-3 e IL-6 (72). Tem efeito direto nos linfócitos, diminuindo a função e o número das células T circulantes. Atuam também comprometendo a imunidade inata, afetando a adesão leucocitária e reduzindo o número de neutrófilos (73).
- Metotrexate – inibe as enzimas dependentes de fosfato, inibindo o metabolismo de purinas e pirimidinas. A mais relevante é a diidrofolato redutase, aumentando os níveis de adenosina. O resultado final é a redução da secreção de TNF, IFN- γ e IL-12 bem como a inibição da fagocitose (73).
- Leflunomida – interfere na apresentação de antígenos aos linfócitos T, dessa forma inibindo a via de transdução de sinal que levam a inflamação, anti-apoptose e proliferação, No entanto, seu efeito mais importante consiste na depleção de pirimidinas, bloqueando o ciclo celular. Dessa forma, é capaz de reduzir a resposta inflamatória Th1 (74).
- Sulfassalazina – inibe a transcrição do fator NF- κ B e inibe a adesão e função leucocitária, *in vitro*, é capaz de reduzir os níveis de IL-1 e IL-12 produzidas por monócitos (75).
- Antimaláricos – aumentam o pH dos lisossomos, prejudicando o processamento de proteínas (75).
- Antiproliferativas – as drogas mais relevantes são a azatioprina e ciclofosfamida. A primeira bloqueia a síntese de purinas e o reparo do

DNA. Assim inibe a proliferação de células hematopoiéticas. A segunda é um agente alquilante que reduz as células T e B (73).

- Inibidores de calcineurinas – os representantes desse grupo são a ciclosporina, sirolimus e tacrolimus. Inibem a transcrição de IL-2 (73, 75).
- Biológicos – são proteínas derivadas de sequências genéticas em células vivas. Há drogas capazes de bloquear o TNF (anti-TNF- etanercepte, infliximabe, adalimumabe, certolizumabe e golimumabe), CTLA4 (abatacepte), CD-20 (Rituximabe), IL-6 (tocilizumabe), dentre outros (75).

Tais drogas têm o potencial de alterar a resposta imune adaptativa e não adaptativa. Portanto, há a possibilidade teórica de que possam reduzir a eficácia das imunizações.

Estudos com a vacina contra Influenza A/H1N1 indicam que o aumento da idade, uso de hidroxiquina, sulfassalazina, azatioprina e depletors de células B levam a níveis reduzidos de soroproteção (66, 76). Foi observado que pacientes com artrite reumatoide em uso de rituximabe e com lúpus em uso de azatioprina têm menor probabilidade de serem protegidos após a vacinação contra influenza (66, 77).

Além do uso de imunomoduladores ou imunossupressores, alterações inerentes às doenças de base podem prejudicar o desenvolvimento de resposta imune protetora. Trabalho que analisou a resposta protetora contra influenza A/H1N1 também indicou menor resposta protetora em portadores de lúpus eritematoso sistêmico (LES), artrite reumatoide (AR), doença de Behçet e dermatomiosite, quando comparados ao grupo controle (76).

Dentre as doenças reumáticas autoimunes, destacam-se o lúpus eritematoso sistêmico e a artrite reumatoide. Na primeira, a hipocomplementemia, deficiente atividade celular fagocítica e de células T acrescida de diversas outras falhas no sistema imune inato e adaptativo tornam os pacientes com lúpus vulneráveis a diversos tipos de agentes infecciosos (78). Uma vez que a fagocitose é essencial para a apresentação de antígenos, a falha nesse mecanismo pode ser deletéria para resposta inicial à vacina 17D. Tal hipótese baseia-se na percepção de que falhas na imunidade inata podem prejudicar a conversão pós vacinal (39).

A disfunção e deficiência de células NK estão associadas ao LES. Sua função é mediada pelo balanço entre sinais inibitórios e de ativação. Essas células expressam predominantemente receptores de ativação e citotoxicidade, incluindo NKG2C, NKG2D, NKp30 e NKp46. Dentre os receptores inibitórios há o lecitina-like CD94-NKG2A e KIR (*killer cell immunoglobulin like receptors*). Em pacientes com lúpus há redução da razão NKG2A+/NKG2D, o que demonstra a menor frequência de células NK expressando características de ativação. O uso de imunossupressores (corticoide 1mg/kg/dia, hidroxicloroquina 400 mg/dia e ciclofosfamida 0,4g/semana) mostrou-se capaz de alterar esse perfil com aumento das células NK NKG2C+ em 4 e 12 semanas após o tratamento. As células NK NKp46+ tem seu número reduzido e as células KIR2DL3+ e NKG2A+ tem seu número aumentado com o mesmo tratamento (79). As células NK também são essenciais na resposta vacinal, pois impedem a proliferação viral e promovem a diferenciação das células dendríticas (38). São ativadas inicialmente para que a resposta imune protetora seja eficaz. O uso de imunossupressores induz um perfil de inibição dessas células e, portanto, pode interferir na eficácia da vacina anti-marfílica.

Nos pacientes com lúpus, há aumento das citocinas IFN- α , IL-10, bem como ativação de células TCD4 e B (80). Tais alterações são encontradas em indivíduos hígidos pós a vacina 17D. Não é conhecido se tais alterações influenciam na resposta imune protetora nestes pacientes (39).

Embora o aumento de IFN seja comum tanto no LES quanto na infecção viral, a comparação entre as assinaturas de células IFN I específicas (células TCD4⁺, monócitos inflamatórios CD16⁻ e monócitos CD 16⁺ no lúpus e na infecção/vacinação por vírus 17D), demonstrou diferenças quantitativas e qualitativas. No lúpus, a assinatura é mais complexa e com maior participação de genes e eventos imunorregulatórios envolvidos. Estes últimos podem estar relacionados ao padrão autoimune de produção desta citocina. Nas infecções virais, os monócitos parecem ter papel predominante na produção de IFN (81).

A IL-10 inibe a capacidade de apresentação dos monócitos por meio de inibição da expressão de moléculas de Classe II do MHC e do CD86 (molécula co-estimulatória), a proliferação de células TCD4⁺ e de TNF- α . Entretanto, também é capaz de estimular as células B e por isso participa da patogênese do lúpus (82).

Em crianças primovacinadas que soroconverteram após a vacinação contra a febre amarela é a interleucina que se encontra mais aumentada. O déficit de IL-10 em crianças primovacinadas levou à ausência de soroconversão (39). Não é conhecido se o aumento de produção de IL-10 induzido por resposta vacinal pode levar a descompensação da doença de base ou mesmo se os mecanismos e genes que levam ao aumento de IL-10 são semelhantes.

Na artrite reumatoide, há defeito da resposta imune celular (83). Acredita-se que o processo inflamatório se inicie com o reconhecimento de antígenos artritogênicos pelas células TCD4+, seguido do estímulo de monócitos, macrófagos e fibroblastos (84). IL-1, IL-2, IL-6, IL-10, IFN-gama e TNF-alfa dirigem a inflamação nessa enfermidade. Embora haja produção exagerada de anticorpos, evidente com a produção de fator reumatoide e antipeptídeos citrulinados, o balanço final de citocinas é principalmente Th1 (85). Já a resposta imune produzida pela vacina 17D é multifuncional e estimula tanto a resposta Th1 quanto Th2 (86). Não há estudo que compare as diferenças entre os mecanismos de ativação das vias inflamatórias ao mecanismos pós infecção pelo vírus 17D.

A inflamação produzida pela superprodução e superexpressão do TNF- α contribui para a lesão tecidual observada na artrite reumatoide e por isso seus antagonistas fazem parte do arsenal terapêutico contra essa doença (85, 87). Esta citocina também é encontrada em valores elevados a partir do 7^o dia após a primovacinação 17D em adultos. Tanto o IFN- γ quanto o TNF- α são considerados essenciais para a imunidade protetora pós vacinal (38). Os uso de antagonistas do TNF interferem na resposta imune a vacina porque reduzem a migração e maturação de células dendríticas, inibem a produção de IFN- γ , alteram a arquitetura dos centros germinais e reduzem a sobrevivência de células de memória (87).

O único estudo sobre resposta imune protetora apenas em pacientes com doenças reumáticas avaliou o status pré e pós-vacinal de 17 portadores de artrite reumatoide. Quinze controles também foram avaliados. Essa avaliação foi feita com a dosagem de IgG e IgM específica por imunofluorescência direta. Esse método tem uma correlação de 98,7% com o padrão ouro, que é o *Plaque Reduction Neutralization Test* (PRNT). Todos os pacientes estavam em uso de metotrexate e infliximabe. Esse estudo apontou uma tendência de menores títulos em pacientes quando comparados aos controles. Devido ao reduzido número de voluntários, não

foi possível fazer análise estatística (88).

O bloqueio do TNF em pacientes com espondilite anquilosante é capaz de reduzir a imunidade humoral dependente de células T após a vacinação contra a hepatite, mostrando a importância do TNF na produção de anticorpos (89).

Quanto a vacina 17 D especificamente, não existem dados sobre a resposta humoral ou celular em pacientes com espondilite anquilosante ou esclerose sistêmica.

2. JUSTIFICATIVA



La fiebre amarilla en Valencia (1804)

José Aparicio.

Desde sua descoberta, a vacina contra a febre amarela tem oferecido proteção eficaz e segura contra a febre amarela. A menor ocorrência de casos em regiões com ampla cobertura vacinal demonstra que essa é uma estratégia eficaz de prevenção.

A vacina desencadeia uma resposta imunológica complexa que vai compreender um padrão misto/regulatório de citocinas (representado por IFN- γ , TNF- α +/ Células T CD4+ IL5+, IL-12+/ CD8+ Células T IL-5+ e células B IL-10+) em indivíduos saudáveis. Para esse grupo, acredita-se que a resposta imune humoral, representada por anticorpos neutralizantes seja duradoura. Falhas nos mecanismos da resposta inata e/ou humoral podem determinar a maior ocorrência de eventos adversos e/ou redução da resposta vacinal.

Os pacientes com doenças reumáticas autoimunes em uso de imunomoduladores ou imunossupressores não podem contar com a proteção oferecida pela vacina pois tem risco teórico aumentado de eventos adversos graves.

O Brasil possui a maior área de febre amarela silvestre do mundo e aproximadamente 12 milhões de pacientes portadores de doenças reumáticas, incluindo doenças autoimunes. São pessoas que estão potencialmente expostas à infecção amarílica. Por isso o conhecimento da resposta imune e eventos adversos nessa população traz grandes benefícios.

Há poucos estudos que avaliam a vacinação antiamarílica nesse grupo porque há limitações éticas envolvidas. Quanto à resposta imune protetora, representada pelos anticorpos neutralizantes, não há nenhum estudo voltado para portadores de doenças reumáticas.

Esse cenário traz dificuldades àqueles que lidam com esses pacientes e vivem em área de risco, uma vez que não há evidência científica suficiente para tomada de decisão nesses casos especiais.

O estudo aqui apresentado visa fornecer dados inéditos sobre segurança e eficácia da vacina. Desta forma, os dados podem contribuir para melhor avaliação do risco-benefício em pacientes com doenças reumáticas.

3. OBJETIVOS



Un episodio de la fiebre amarilla en Buenos Aires (1871)

Juan Manuel Blanes

3.1. OBJETIVO GERAL

3.1.1. Avaliar a resposta imune protetora, por meio de anticorpos neutralizantes, e a ocorrência de eventos adversos em pacientes com doenças reumáticas, em uso de medicamentos imunomoduladores ou imunossupressores, que foram inadvertidamente revacinados contra a febre amarela.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

3.2.1 Descrever a população de pacientes com diagnóstico de doenças reumáticas autoimunes inadvertidamente revacinados contra a febre amarela, quanto aos diagnósticos e ao uso de medicamentos

3.2.2. Verificar a possível relação entre títulos de anticorpos e a ocorrência de eventos adversos.

3.2.3. Avaliar a possível correlação entre os títulos de anticorpos e a idade na revacinação.

3.2.4. Avaliar a interferência dos diversos imunossupressores nos títulos de anticorpos neutralizantes.

4. PACIENTES E MÉTODOS



Os experimentos realizados por Walter Reed e sua comissão estão retratos na obra de Dean Cornwell

The conquerors of yellow fever. Dean Cornwell. Sec XVIII.

Trata-se de estudo descritivo, do tipo série de casos de pacientes e da avaliação da imunogenicidade e segurança em pacientes portadores de doenças reumáticas autoimunes, em uso de medicamentos imunomoduladores ou imunossupressores, inadvertidamente revacinados contra a febre amarela. Os pacientes foram selecionados nos ambulatórios de serviço público terciário e clínicas privadas de Reumatologia de região endêmica para a doença.

O estudo foi desenvolvido em 2 etapas. Durante a campanha de vacinação de 2007 e 2008, foram identificados diversos pacientes com doenças reumáticas que se vacinaram sem qualquer orientação médica. Nesse período foi feita a busca por eventos adversos.

Posteriormente, surgiu a oportunidade de avaliar a resposta sorológica à vacinação por meio dos anticorpos neutralizantes. Por esse motivo, a coleta e a análise dos anticorpos neutralizantes foram feitas em um segundo momento.

4.1. PACIENTES

O grupo de estudo foi composto por portadores de doenças reumáticas de caráter autoimune (artrite reumatoide, lúpus eritematoso sistêmico, espondiloartrites, esclerose sistêmica) e usuários de imunomoduladores ou imunossupressores previamente vacinados contra a febre amarela, que foram inadvertidamente revacinados no período entre 2007 e 2008.

4.2. LOCAL DO ESTUDO

Os questionários (apêndice A) foram aplicados no Ambulatório de Reumatologia do Hospital Universitário de Brasília (HUB) e em clínica particular de Reumatologia (Rheuma).

A coleta e centrifugação das amostras foi feita no Laboratório de Reumatologia do HUB.

O teste de neutralização em placas foi executado no Laboratório de Tecnologia Viroológica da Fundação Oswaldo Cruz (FIOCRUZ), unidade de Biomanguinhos, na cidade do Rio de Janeiro.

4.3. CRITÉRIOS DE INCLUSÃO

Os critérios de inclusão foram: i) capacidade de compreensão e preenchimento do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) ii) diagnóstico de doenças reumáticas autoimunes estabelecido por reumatologista; iii) uso de medicamentos imunomoduladores ou imunossupressores (hidroxicloroquina, corticosteroides, metotrexate, leflunomida, ciclosporina, ciclofosfamida, azatioprina, micofenolato de mofetil, infliximabe, etanercepte, adalimumabe, rituximabe, abatacepte, tocilizumabe) para controle da doença reumática de base; iv) revacinação antiamarílica entre 2007 e 2008. v) apresentação do cartão de vacinação contendo os dados da vacina antiamarílica (confirmação da vacinação e data).

4.4. CRITÉRIOS DE EXCLUSÃO

Os critérios de exclusão foram: i) gestantes; ii) pacientes com neoplasias; iii) pacientes com doenças autoimunes de causas não reumáticas; iv) pacientes vacinados há mais de 30 dias (para avaliação de eventos adversos).

4.5. DADOS CLÍNICOS

Foram colhidos os seguintes dados: idade e data de nascimento, sexo, data de vacinação, diagnóstico e tempo de diagnóstico, medicações em uso (no momento da vacinação) e reações adversas ocorridas possivelmente em decorrência da exposição à vacinação antiamarílica (apêndice A).

4.6. DADOS LABORATORIAIS

4.6.1. Coleta das amostras e extração do soro

Foram coletados 5 ml de sangue periférico de cada voluntário. Para obtenção do soro, a amostra foi centrifugada a 2.500 rotações por minuto por 15 minutos. Foram obtidos 2 ml de soro de cada paciente. O material foi conservado em freezer (20 graus negativos, por 5 meses) e posteriormente enviado ao Laboratório de Tecnologia Viroológica da FIOCRUZ.

4.6.2. Teste de neutralização por redução de placas (*PRNT - Plaque reduction neutralization test*)

Dentre os testes sorológicos disponíveis, o teste de neutralização em placas redutoras (PRNT) é o mais sensível. É baseado no princípio de que os vírus infecciosos podem ser neutralizados por antígenos específicos. Para tal, o soro é previamente inativado, sendo mantido a 56°C por 30 minutos.

O título de anticorpos neutralizantes dos voluntários foi determinado pelo teste de neutralização por redução de 50% das placas de lise (PRNT₅₀) em monocamadas de células VERO. Para os testes de neutralização por PRNT, a concentração de anticorpos foi expressa em mili-Unidades Internacionais por mililitro (mUI/mL) de soro.

Foram utilizadas placas de 96 orifícios, suficientes para o teste de 10 soros de voluntários, um soro controle e um controle de vírus.

Foram distribuídos 50mL de meio em toda a placa, exceto nos orifícios H1 a H12. Nos orifícios H1 a H10 foram colocados 80 mL de meio e no orifício H11, 90 mL. Adicionados 20 mL das amostras de soro que foram aos orifícios H1 a H10 e 10 mL do soro padrão no orifício H11.

O soro padrão é proveniente de macaco *Rhesus*, vacinado contra febre amarela, que apresenta alto título de anticorpos contra o vírus, e padronizado frente

a um soro de referência internacional da Organização Mundial de Saúde (OMS). O soro padrão foi repetido a cada dez amostras testadas.

Posteriormente, foi executada a diluição com pipeta multicanal no sentido de H para A da microplaca, (exceto na coluna 12), passando 50 mcL para o orifício seguinte e desprezando 50mcL da última diluição. Foram então adicionados 50 mcL de vírus referência previamente diluído em todos os orifícios da placa. Na etapa de neutralização, o mix (soro + vírus) foi deixado em temperatura ambiente por 1 hora. Após essa incubação, foram colocados 50 mcL da suspensão de células VERO em todos os orifícios da placa, seguindo-se de incubação do material resultante por 3 h a 37°C em incubadora BOD.

Seguiu-se a lavagem manual da placa batendo-a contra a toalha estéril e sendo substituído por 100 mcL de meio com CMC 2,7%. Realizada então nova incubação por 7 dias a 37°C em incubadora com 5% de CO₂.

Após o último período de incubação, adicionou-se 100 mcL de formol 10% em todos os orifícios da placa, assegurando-se que o formol tenha atingido o tapete celular, seguido de repouso por 1 h a temperatura ambiente. Em seguida, o formol foi retirado e as placas foram lavadas com água corrente com cuidado para que o jato de água não bata diretamente na placa e invertendo-a vigorosamente para retirar o excesso. Foram ainda colocados 100mcL de cristal violeta 1% em todos os orifícios da placa por 15 minutos a temperatura ambiente e retirados em seguida por meio de lavagem em água corrente e secagem da placa a 37 graus. Os plaques de todos os orifícios da placa foram então contados, começando pelos orifícios do vírus referência H12 até A12 e continuando sucessivamente até o final da placa. Os resultados das leituras foram transpostos para uma tabela.

Os cálculos do título foram realizados da seguinte forma: 1) Feita a média aritmética do número de plaques referente ao vírus. 2) Calculado o “*endpoint*” do vírus ou 50% do no de plaques do vírus. 3) Montada tabela com o log das diluições do soro padrão e leituras dos plaques de cada placa referentes a cada diluição. Calculada a média do número de plaques de cada diluição. 4) Transportado o valor referente a 50% do número de plaques do vírus (item 2) para a tabela do item 3 e calculada a diluição correspondente através de regressão linear. 5) O fator de correção do título de proteção, foi calculado achando-se o antilog da diluição

correspondente a 50% do número de plaques do vírus encontrado no item 4. Foi necessária a divisão usando 29.200mUI/mL referente ao soro padrão nacional pelo antilog achado e transformar-se o resultado em log. 6) O mesmo valor referente a 50% do número de plaques do vírus foi aplicado na tabela de soros testes e por regressão linear encontrou-se a diluição correspondente. A este valor somou-se o fator de correção do item 5. Este foi o título final do soro teste em log mUI/mL e o seu antilog em mUI/mL. 7) O valor de base foi o valor achado no item 5 em antilog, multiplicado por 2 em mUI/mL. Os valores acima de 794 mUI/mL (1:50) foram considerados positivos e portanto, protetores.

4.7. ANÁLISE ESTATÍSTICA

Foi feita análise descritiva dos dados obtidos. A correlação entre o nível de anticorpos neutralizantes e a presença de eventos adversos foi analisada por meio do Coeficiente não paramétrico de Spearman. A análise estatística foi realizada com auxílio do programa IBM SPSS 20 (*Statistical Package for Social Sciences*).

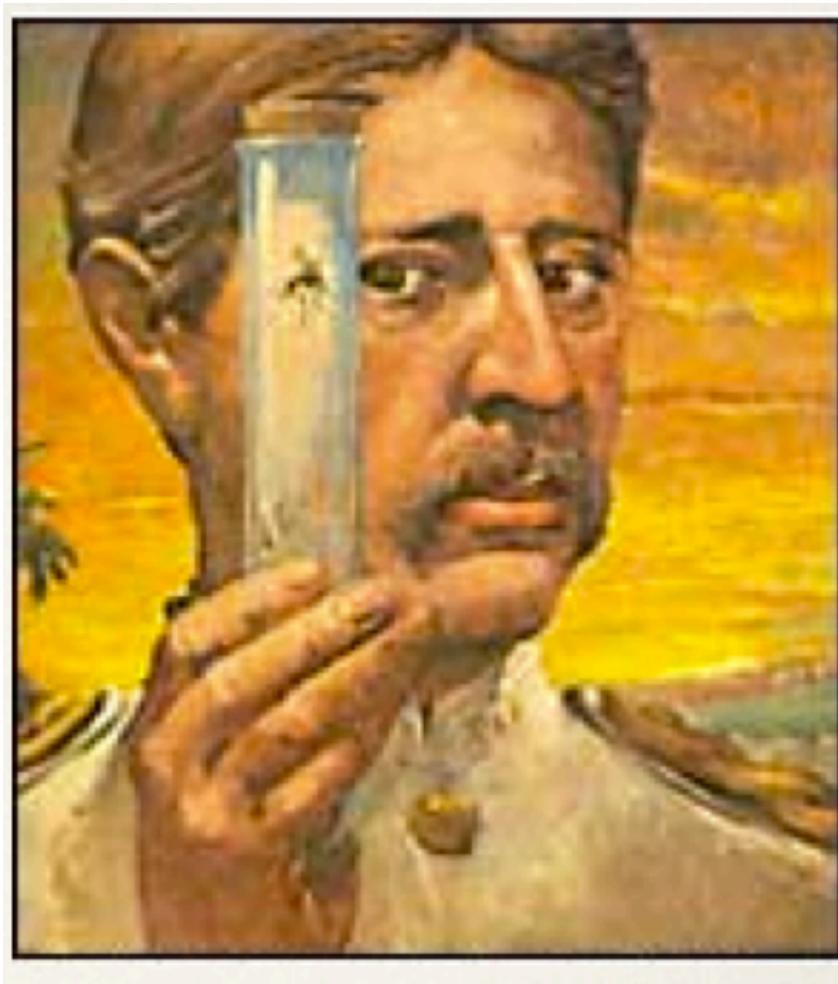
4.8. ASPECTOS ÉTICOS

O estudo foi aprovado por Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Medicina da Universidade de Brasília sob o registro CEP-FM 039/2010. Os princípios da Declaração de Helsinque e do Conselho Nacional de Saúde (Resolução 196/96) foram observados e respeitados.

O Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (apêndice B) foi explicado a todos os participantes, que receberam uma cópia deste documento. Os pacientes foram informados sobre os objetivos, riscos e benefícios e aceitaram participar, de forma voluntária, da pesquisa. Os mesmos tiveram suas identidades preservadas e as amostras colhidas foram utilizadas exclusivamente para análise dos anticorpos neutralizantes. Os trabalhos e produção científica decorrentes deste trabalho preservarão os nomes dos pacientes em sigilo.

O estudo não ofereceu risco à saúde e integridade física dos participantes. No período de inclusão no estudo, uma campanha de vacinação em massa estava em curso. Muitos pacientes foram revacinados de forma inadvertida (isso é, sem conhecimento ou orientação do médico sobre a exposição do paciente à vacina, já que sua doença de base ou o uso de medicação imunossupressora ou imunomoduladora era fator de contraindicação para a vacinação anti-amarelílica). Estes foram, então identificados e os dados foram coletados posteriormente, quando se detectou a vacinação inadvertida. Todos os indivíduos foram orientados sobre o risco da vacinação com vacinas elaboradas a partir de agentes vivos na situação em que se encontravam, e orientados a questionar sempre o médico sobre a indicação e segurança do uso de qualquer vacina, no futuro.

5. RESULTADOS



Walter Reed (1961), pintura em óleo, autor desconhecido

Presente da John Hancock Mutual Life Insurance Co. ao Walter Reed Army Medical Center.

5.1. CARACTERÍSTICAS DA POPULAÇÃO ESTUDADA

Foram selecionados 31 pacientes com doenças reumáticas que se revacinaram inadvertidamente. Vinte (62,5%) deles foram recrutados em serviço público e 11 (35,5%) em clínicas privadas. Os diagnósticos no momento da vacinação foram, em ordem decrescente de frequência, artrite reumatoide (24), lúpus eritematoso sistêmico (4), esclerose sistêmica (2) e espondilite anquilosante (1). Uma das pacientes teve o diagnóstico de artrite reumatoide revisto em 2010 e recebeu o diagnóstico de lúpus eritematoso sistêmico (Tabela 1). A totalidade da amostra era do sexo feminino.

Tabela 1. Frequência absoluta e relativa de casos selecionados quanto à presença de doenças reumáticas no momento da coleta

	Frequência	Porcentagem
Artrite reumatoide	23	74,2
Lúpus eritematoso sistêmico	5	16,1
Esclerose sistêmica	2	6,5
Espondilite anquilosante	1	3,2
TOTAL	31	100

A média de idade no momento da revacinação foi de 46,77 (DP= 12,72) anos. O intervalo médio entre a imunização e a coleta foi de 39,61 (DP= 8,51) meses. Obteve-se o tempo de diagnóstico, no momento da revacinação (média 6,75 anos; DP= 4,13) de 30 pacientes e da coleta (média 9,59 anos; DP=4,14) de 29 pacientes (Tabela 2).

Tabela 2. Características dos pacientes com doenças reumáticas vacinados inadvertidamente

	N	Mínimo	Máximo	Média	Desvio padrão
Idade na revacinação (anos)	31	11	74	46,77	12,72
Intervalo entre a revacinação e coleta (meses)	31	34	64	39,61	8,51
Tempo de diagnóstico na revacinação (anos)	30	1	15	6,75	4,13
Tempo de diagnóstico na coleta (anos)	29	3	18	9,59	4,14

Dentre as pacientes com artrite reumatoide, dezesseis (69,6% - 16/23) estavam em uso de metotrexate (média 13,28 mg/semana, DP = 5,73) e nove (39,1%) em uso de leflunomida 20 mg. Três (13%) estavam em uso de infliximabe (3 mg/kg dose com intervalos infusionais de 8 semanas) e três (13%) em uso de rituximabe (1000 mg em duas infusões com intervalo de 15 dias - todas haviam feito a última dose de rituximabe há menos de 24 semanas, e uma das pacientes havia recebido a medicação 4 meses antes de ter se revacinado inadvertidamente). Uma paciente com esclerose sistêmica estava em uso de 1,2g de ciclofosfamida (Tabela 3).

Quatro pacientes relataram eventos adversos leves no período de 30 dias após a vacinação anti-malar, 24 negaram e 3 não se recordaram da ocorrência de eventos adversos. Uma paciente com espondilite anquilosante em uso de mesalazina (3,2 g) e uma com artrite reumatoide em uso de prednisona (10 mg) evoluíram com mialgia. Uma paciente com esclerose sistêmica usando ciclofosfamida (1,2g) teve febre e rinorreia e outra com artrite reumatoide medicada com metotrexate (20 mg) e sulfassalazina (1,5g) teve artralgia (Tabela 4).

5.2. ANTICORPOS NEUTRALIZANTES

O título mínimo de anticorpos neutralizantes encontrado foi 221 e o valor máximo acima de 15680 mUI/ml, com mediana de 2.865,58 mUI/ml (1º quartil: 1459; 3º quartil: 3162 mUI/ml) (Tabela 3).

Tabela 3. Distribuição dos títulos de anticorpos neutralizantes

	n	Mínimo	Máximo	Mediana	1º quartil	3º quartil
PRNT (mUI/ml)	31	221	> 15.680	1459	2159	3162
PRNT (1:x)	31	1:9	> 1:640	1:88	1:60	1:129

PRNT – *plaque reduction neutralization test*

A distribuição dos títulos mostrou-se positivamente assimétrica (Figura 4).

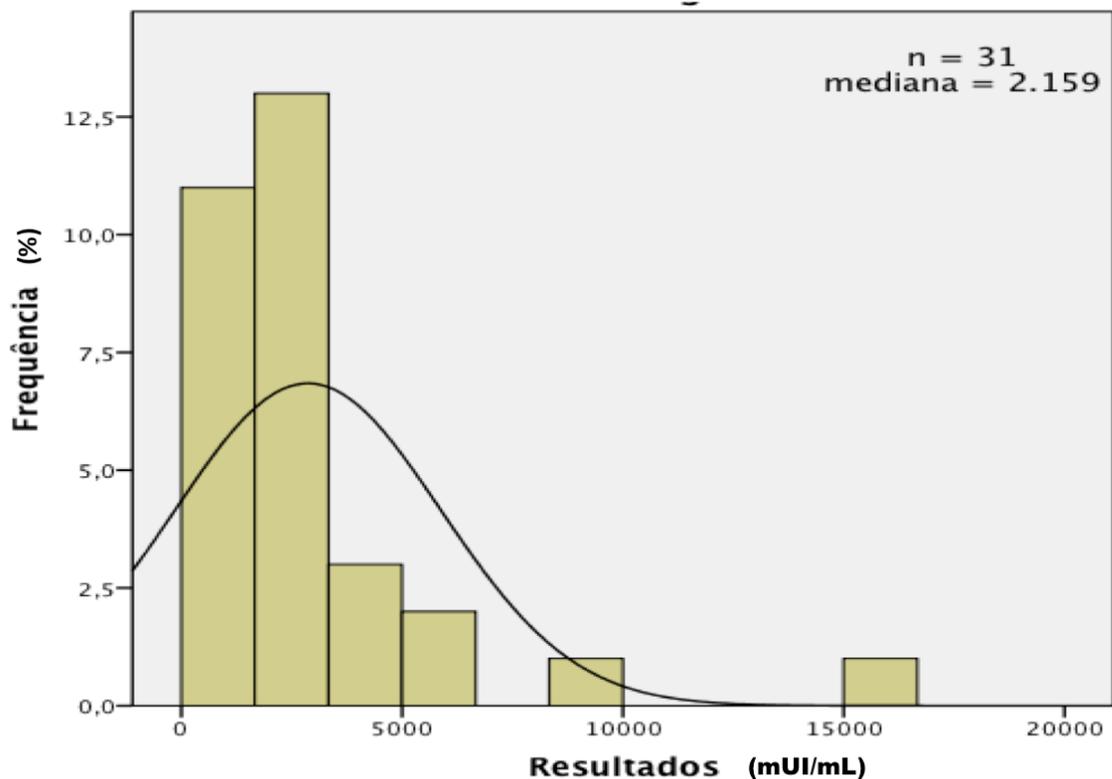


Figura 4. Distribuição de anticorpos neutralizantes avaliada pelo método PRNT nos pacientes com doenças reumáticas em uso de imunossupressores ou imunomoduladores

Dentre os pacientes com doença reumáticas, a soropositividade para anticorpos neutralizantes foi observada em 27 pessoas (87,1%). Quatro pacientes não alcançaram o valor de corte (12,9%) considerado como soropositividade. Todas tinham artrite reumatoide e estavam em uso de metotrexate. Tinham idade entre 39 e 60 anos e os títulos variaram entre 221 e 750 mUI/mL (Tabela 4).

A média geométrica e a mediana dos anticorpos neutralizantes nos pacientes com artrite reumatoide foi, respectivamente, de 1.543,5 e 2.015 mUI/mL (1º quartil: 923; 3º quartil 3353 mUI/mL). Nos pacientes com lúpus, a média geométrica e a mediana foram, respectivamente, 2066 e 1.668 mUI/mL (1º quartil: 1.208,5; 3º quartil 2792,5 mUI/mL) (figura 5).

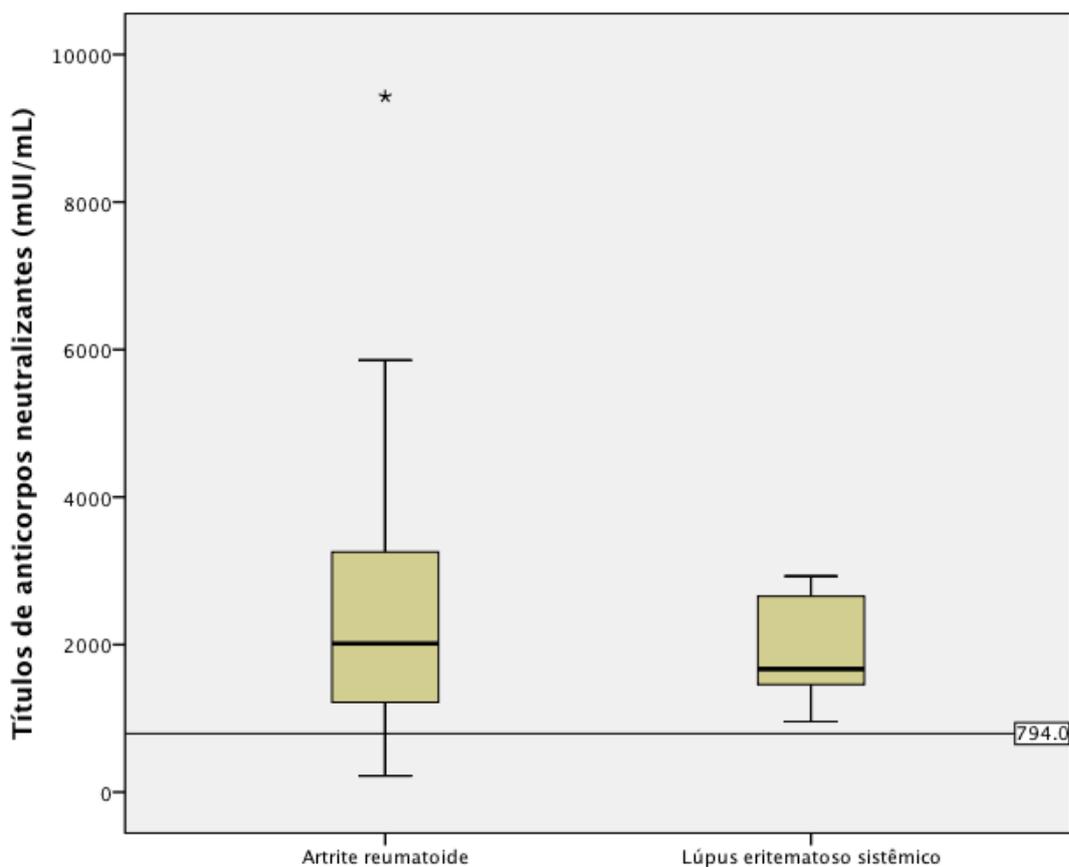


Figura 5. Anticorpos neutralizantes na artrite reumatoide e no lúpus eritematoso sistêmico

5.3. ANÁLISE DE CORRELAÇÃO ENTRE ANTICORPOS NEUTRALIZANTES E VARIÁVEIS CLÍNICAS

Para análise da correlação entre os títulos de anticorpos e a idade foi utilizado o Coeficiente de Spearman (ρ). Não foi demonstrada correlação para idade no momento da revacinação ($\rho = -0,246$) para o grupo estudado (Figura 6). Também não foi observada correlação entre os títulos de anticorpos neutralizantes e o tempo de diagnóstico no momento da revacinação ($\rho = -0,139$) e da coleta ($\rho = -0,18$). É digno de nota que a paciente que apresentou o menor título de anticorpos fez uso de 2 g de rituximabe, aproximadamente 4 meses antes da revacinação antiamarílica.

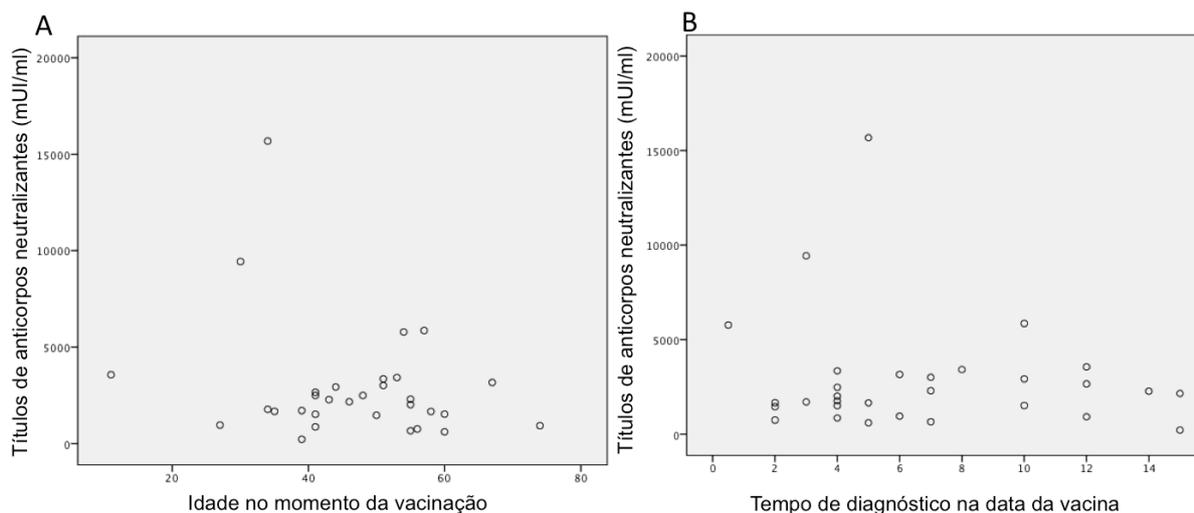


Figura 6. Diagrama de dispersão entre os títulos de anticorpos e a idade de vacinação (A) e o tempo de diagnóstico na data da vacina (B)

5.4. SEGURANÇA DA VACINA ANTIAMARÍLICA

A média geométrica de anticorpos neutralizantes naqueles que apresentaram eventos adversos foi de 2.082,25 (Mediana= 2.229) e de 3.395,02 (Mediana= 2.145,50) mUI/ml naqueles assintomáticos. No entanto, não foi demonstrada correlação ($\rho = -0,19$) entre os resultados e a ocorrência de eventos adversos para a amostra de 28 pacientes.

A tabela 4 sumariza as características dos pacientes com diagnósticos de doenças reumáticas autoimunes, inadvertidamente revacinados contra febre amarela, em uso de medicações imunossupressoras, avaliados nesse estudo.

Tabela 4. Características dos pacientes com diagnósticos de doenças reumáticas, indadvertidamente revacinados contra a febre amarela, em uso de medicações imunomoduladoras e imunossupressoras

	SEXO	IDADE NA REVACINAÇÃO (ANOS)	TEMPO ENTRE REVACINAÇÃO E COLETA (MESES)	SERVIÇO DE ORIGEM	EVENTOS ADVERSOS	DIAGNÓSTICO	IMUNOSSUPRESSOR OU IMUNOMODULADOR (mg)	ANTICORPOS NEUTRALIZANTES (mUI/mL)	TEMPO ENTRE DIAGNÓSTICO E REVACINAÇÃO (ANOS)	ANO DE VACINAÇÃO
1	F	48	34	SUS	NÃO	AR	SSZ 1000, LFN 20	2487	4	2008
2	F	34	35	SUS	MIALGIA	EA	MSZ 3200	>15680	5	2008
3	F	30	38	PART	NÃO	AR	MTX 15, IFX 200	9432	3	2008
4	F	11	34	SUS	NÃO	AR	MTX 12,5; LFN 20	3559	12	2008
5	F	56	34	SUS	NÃO	AR	MTX 20, LFN 20	750	2	2008
6	F	60	39	PART	NÃO	AR	MTX 20	1522	10	2008
7	F	55	35	PART	NÃO	AR	MTX 7,5	660	7	2008
8	F	41	51	SUS	NÃO	AR	LFN 20	2487	DADO NÃO DISPONÍVEL	2008
9	F	39	34	PART	ARTRALGIA	AR	MTX 20, SSZ 1500	1707	3	2008
10	F	41	39	SUS	NÃO	AR	MTX 25, LFN 20, IFX 100	1513	1	2007
11	F	35	62	PART	NÃO	LES	HCQ 400	1668	3	2007
12	F	55	34	SUS	NÃO	AR	MTX 10, IFX 200	2015	5	2008
13	F	60	34	SUS	NÃO	AR	MTX 5	606	5	2008
14	F	50	58	SUS	NÃO SABE INFORMAR	LES	HCQ 400	1459	2	2008

16	F	46	34	SUS	FEBRE, RINORREIA	ES	CF 1200	2159	15	2008
17	F	51	39	PART	NÃO	AR	MTX 10, HCQ 400	3353	4	2008
18	F	57	35	SUS	NÃO	AR	MTX 5, PRED 10, LFN 20	5856	10	2008
19	F	58	34	PART	NÃO	AR	MTX 15, SSZ 1500, HCQ 400	1661	5	2008
20	F	74	64	PART	NÃO	AR	RTX	923	9	2007
21	F	53	39	SUS	NÃO	AR	MTX 10	3419	2	2008
22	F	34	34	SUS	NÃO	AR	MTX 15, LFN 20	1767	4	2008
23	F	67	39	SUS	NÃO	AR	MTX 10	3162	6	2008
24	F	43	39	SUS	NÃO	AR	MTX 7,5, LFN 20	2276	14	2008
25	F	41	34	PART	NÃO SABE INFORMAR	LES	MTX 15	2657	12	2008
26	F	44	37	SUS	NÃO	LES	HCQ 400	2928	10	2008
27	F	41	38	SUS	NÃO	AR	RTX 2000	863	4	2008
28	F	54	38	SUS	NÃO	AR	MTX 15, HQ 400	5777	1	2008
29	F	51	53	PART	NÃO	ES	MTX 12,5	3009	7	2008
30	F	39	39	PART	NÃO SABE INFORMAR	AR	RTX 2000, MTX 10	221	15	2007
31	F	27	36	SUS	NÃO	LES*	LFN 20	958	6	2008

SUS– Sistema Único de Saúde; PART– Clínicas particulares; AR- artrite reumatoide; LES– lúpus eritematoso sistêmico; ES– esclerose sistêmica; EA– espondilite anquilosante; SSZ – sulfasalazina; LFN- leflunomida; MSZ – mesalazina; MTX – metotrexate; IFX – infliximabe; HCQ- hidroxiquina; PRED- prednisona; CF- ciclofosfamida; RTX- rituximabe

* Inicialmente diagnosticada e tratada como portadora de artrite reumatoide, a paciente teve seu diagnóstico reavaliado em 2010, recebendo o diagnóstico de lúpus eritematoso sistêmico.

6. DISCUSSÃO



The conquest of yellow fever (1963).

Robert Thom.

6.1. IMPORTÂNCIA DA VACINAÇÃO

A febre amarela é uma doença grave e tem alta letalidade. Em áreas endêmicas, surtos tem ocorrido entre 5 e 7 anos (19). A área endêmica da doença expandiu-se e no período de 2000 a 2008, com aumento das áreas de circulação do vírus. Por tal motivo, o Ministério da Saúde ampliou a área com recomendação de vacina. A imunização é recomendada aos habitantes dessas regiões, como forma eficaz de prevenção (90). No entanto, os pacientes com doenças reumáticas em uso de imunomoduladores ou imunossupressores tem contraindicação à vacinação, mesmo quando expostos ao risco de infecção pelo vírus amarílico. Esta recomendação é baseada no racional teórico que esses pacientes podem desenvolver doença secundária ao vírus vacinal. Por questões éticas, há poucos estudos que avaliem essa situação específica.

Desde 1965, a Organização Mundial de Saúde (OMS) recomenda a vacinação a cada 10 anos (46). No entanto, estudos já citados sugerem que a vacina possa fornecer proteção por períodos tão longos como 30 a 35 anos, ou até mesmo por toda a vida (26, 47). A revisão sistemática de Gotuzzo e colaboradores, levantou evidências que há proteção por toda a vida em indivíduos saudáveis. Os autores encontraram taxas de soroconversão maiores de 90% em 9 de 10 estudos (26). Então, em maio de 2013, por causa da evidência de imunidade duradoura em pessoas híidas e dos estoques limitados de vacina antiamarílica, a OMS e o *Strategic Advisory Group of Experts* (SAGE) postularam que não há necessidade de revacinação após 10 anos de imunização antiamarílica (46).

Uma das críticas à nova recomendação deve-se ao fato de a imunidade protetora estar relacionada aos níveis de anticorpos neutralizantes. Entretanto, embora seja o método padrão ouro, o uso de diferentes técnicas e valores de corte no método PRNT dificulta a padronização e análise dos dados de forma uniforme. A grande quantidade de casos subnotificados e a possibilidade de reação cruzada com outras arboviroses também prejudicam as análises de eficácia (46).

6.2 EFICÁCIA

Não há nenhum estudo anterior de eficácia da vacina antiamarílica, avaliada por PRNT, voltado para pessoas com doenças reumáticas. No estudo de Kerneis o uso de corticoides não interferiu na resposta protetora nos pacientes com diversas doenças (71). Esse estudo considerou o uso de baixas doses de prednisona (7 mg). Os pacientes em tratamento de doenças reumatológicas são, em geral, submetidos a imunossupressão mais intensa do que a proporcionada por tal dose de corticoide. O imunossupressor e sua potência podem alterar a eficácia da resposta imune por esta ser dependente da medicação usada (91). Além disso, as alterações imunológicas de cada doença reumatológica são capazes de interferir na resposta vacinal (68).

No único estudo sobre resposta imune protetora em pacientes com doenças reumáticas foi possível avaliar o status pré e pós vacinal de 15 pacientes com artrite reumatoide em uso de biológicos, comparando-os com quinze indivíduos saudáveis. Essa avaliação foi feita com a dosagem de IgG e IgM específica por imunofluorescência direta. Esse método tem uma correlação de 98,7% com o padrão ouro, que é o PRNT. Todos os pacientes estavam em uso de metotrexate e infliximabe. Esse estudo apontou uma tendência de menores títulos em pacientes quando comparados aos controles, mas apresentou um erro do tipo II (ou beta) (88).

Os dados aqui apresentados são os únicos dados disponíveis sobre a imunidade protetora à revacinação com a vacina antiamarílica em pacientes com doenças reumáticas, avaliada por um método considerado padrão ouro. Houve soroproteção em 87,1% dos pacientes estudados, com um tempo médio de 39,61 meses após a vacina. Os resultados são compatíveis com os dados já existentes na literatura para a vacinação na população em geral, indicando que houve a soroconversão e que esta resposta foi mantida a despeito do uso de imunossupressores. Tavares-Neto avaliou 190 pessoas e encontrou 91,3% (mulheres) e 93,3% (homens) com títulos positivos (92). Camacho e colaboradores encontraram soroconversão em 97% dos 1.087 voluntários pesquisados (93). Já Monath refere níveis protetores em 90% e 99% com 10 e 30 dias pós-vacinais, respectivamente (94). O mesmo autor, ao avaliar 1.440 adultos saudáveis, encontrou soroconversão em 98,6 a 99,3% dos indivíduos saudáveis (52). Em crianças, a vacina também se mostrou eficaz e conferiu proteção 94,9% (619 de 652) dos vacinados com ARILVAX e 90,6% (298 de 329) com YF-VAX (95).

6.3 SEGURANÇA

Poucos estudos avaliaram a segurança. Há apenas 3 estudos de pacientes vacinados contra a febre amarela na vigência de imunomoduladores ou imunossupressores. O primeiro avaliou esquemas e doenças diversas reumatológicas (n=70) indicando eventos adversos considerados leves em 22,5% (70). O segundo, de Kerneis e colaboradores, avaliou o uso de corticoides em pacientes com diversas doenças e encontrou apenas eventos adversos não graves que foram, no entanto, considerados mais comuns do que nos controles (71). O terceiro avaliou a vacinação em pacientes transplantados em uso de diversos imunossupressores. Nesse último estudo não houve relatos de eventos adversos graves relacionados à vacina. Entretanto, os dados da vacinação não foram confirmados e as informações foram obtidas exclusivamente de relatos baseados na memória dos pacientes (58).

No trabalho aqui apresentado, houve o cuidado de confirmar a data da vacinação em cartão de vacina e de respeitar o prazo de até 30 dias entre a vacina e a coleta das informações sobre eventos adversos. Dessa forma, as informações, que dependem da memória, se tornam mais confiáveis. Entre os pacientes participantes de nosso trabalho, houve 4 relatos de eventos adversos leves (12,9%). O valor percentual encontrado foi inferior ao relatado na literatura para indivíduos hígidos. Essa diferença pode ser explicada pelo número reduzido de pacientes. Não foi possível estabelecer correlação estatística entre os títulos de anticorpos e a ocorrência de eventos adversos.

6.4 USO DA VACINA EM PACIENTES COM DOENÇAS REUMÁTICAS E IMUNOSSUPRIMIDOS

Não há dados sobre a interferência de doenças reumatológicas ou as drogas utilizadas para o tratamento na duração da imunidade protetora amarílica. Ainda assim, a vacinação prescrita antes do início da terapia, traz benefícios em relação à

segurança e pode proteger o paciente por longos períodos. Recomenda-se que seja respeitado um prazo mínimo de 4 semanas entre a vacinação e a imunossupressão (96). Esta é a melhor estratégia para a proteção dos pacientes com doenças reumáticas em uso de imunossupressores ou imunomoduladores.

No lúpus, por exemplo, o desbalanço e as alterações das células NK NKp46+ e NKG2A+ estão relacionados ao lúpus em atividade. Após a vacina 17D não há alteração no número de células NK NKp46+, embora haja um perfil de ativação das células NK até o 7º dia pós imunização (36, 41). Portanto, há o risco teórico que a vacina possa induzir atividade de doença, uma vez que as células NK são ativadas. O uso de medicamentos imunossupressores, frequentemente utilizados no tratamento desta doença, é capaz de mudar o perfil das células NK, levando ao aumento de células com receptores inibitórios como aumento de KIR2DL3+ e NKG2A+ (79). Uma vez que a ativação das células NK é parte fundamental da resposta imune a vacina anti-amarilica, o uso dessas drogas é capaz de interferir no sucesso da imunização.

Embora o IFN esteja aumentado tanto em indivíduos hígidos vacinados com a vacina 17D quanto em indivíduos com lúpus, os mecanismos que levam a esse resultado são diferentes. Na doença, múltiplos mecanismos regulatórios são ativados com a maior participação de genes envolvidos (81). A IL-10 também se encontra aumentada em ambas as situações. (39, 82). Nesse caso, não há estudo comparativo entre os indivíduos com lúpus e os vacinados mas é possível que vias distintas estejam envolvidas.

Na artrite reumatoide tem-se o TNF- α como um dos principais responsáveis pela imunopatogenia da doença (10, 85). O TNF- α é essencial para uma resposta imune eficaz contra o vírus amarelo (38). O uso de antagonistas do TNF está relacionado à redução da imunogenicidade pós vacinal (10). Em nosso estudo não foi possível demonstrar relação entre o uso dessa droga e os títulos de anticorpos neutralizantes devido ao reduzido número de pacientes.

Estudos avaliando a soroproteção com a vacina contra Influenza A/H1N1 indicam que o envelhecimento, uso de hidroxiquina, sulfasalazina, azatioprina e depletors de células B levam a níveis reduzidos de soroproteção (66, 76). Foi observado que as pacientes com artrite reumatoide em uso de rituximabe e as

pacientes com lúpus em uso de azatioprina têm menor probabilidade de serem protegidos após a vacinação contra influenza (66, 77).

No presente estudo, o menor título de anticorpo neutralizante foi encontrado em soro de paciente com artrite reumatoide que havia usado rituximabe 4 meses antes da vacinação. O rituximabe parece prejudicar a eficácia da vacina em outras doenças. Em pacientes com trombocitopenia imune, a resposta vacinal é reduzida. Pacientes em uso de rituximabe tiveram seus resultados comparados a pacientes em uso de placebo após a vacinação contra pneumococo: o aumento de anticorpos em 4 vezes ocorreu em 3 de 14 (21%) e 4 de 6 (67%), respectivamente. Após a vacina contra *Haemophilus influenzae* (Hib), esse aumento ocorreu em 4 de 14 (29%) e 5 de 6 (83%). A droga também foi capaz de reduzir a capacidade bactericida contra o Hib, depletar células de memória por pelo menos 1 ano e prejudicar a função de células T, mesmo naqueles em que houve aumento de anticorpos (97). Nos resultados apresentados aqui, o menor título de anticorpos neutralizantes foi encontrado em paciente que havia usado rituximabe 4 meses antes da vacina antiamarílica.

Revisão recente sobre biológicos e vacinação, aponta que os resultados após imunização contra influenza são conflitantes em usuários de rituximabe, possivelmente por causa de diferentes datas de vacinação após o uso da droga. Até o momento, não há dados apresentados que associem o uso do rituximabe a eficácia e a segurança após a vacina 17D (96).

A eficácia vacinal deve-se ao estabelecimento de uma resposta imune complexa, envolvendo elementos da imunidade inata e adaptativa humoral e celular. Nesse contexto, a integridade do sistema imune dos indivíduos vacinados tem sido considerada como peça fundamental na manutenção do estado de imunidade protetora antiamarílica. Diversos estudos têm demonstrado que distúrbios nos eixos da imunidade inata e adaptativa são responsáveis pela ocorrência de eventos adversos associados com a perda de imunidade protetora (41).

6.5 POSSÍVEIS FONTES DE DESVIO

O presente trabalho pode apresentar viés centrípeto pois 64,5% dos pacientes foram selecionados em hospital terciário, onde são tratados os casos mais graves. Tais doentes são submetidos a imunossupressão mais intensa, o que poderia interferir nos resultados dos anticorpos neutralizantes. Entretanto, estes são os pacientes que mais se beneficiariam do estudo porque são aqueles que estão mais susceptíveis a infecção e com menor potencial de resposta imune protetora satisfatória. Como forma de diminuir esse viés, foram recrutados pacientes em clínicas particulares.

Também em relação aos pacientes, a maior parte da amostra é composta por pacientes com artrite reumatoide (74,2%). Estes foram selecionados nos ambulatórios em 2007 e 2008, para avaliação dos eventos adversos. Todos aqueles que se vacinaram há menos de 30 dias foram convidados a participar da pesquisa em sua fase inicial. Essas pacientes foram reavaliadas posteriormente quanto à imunidade humoral. Não foi possível a seleção randomizada dos pacientes. Outro viés a ser considerado reside no fato da totalidade da amostra ser do sexo feminino. Portanto, a distribuição das diferentes doenças reumáticas apresentada aqui pode ser diferente da real.

Entretanto, esse estudo surgiu da oportunidade de identificar os pacientes que se vacinaram de forma inadvertida contra a febre amarela e essa era a melhor forma de selecionar os pacientes. A randomização poderia reduzir ainda mais o número de pacientes e comprometer os dados aqui apresentados.

A variedade das doenças e, principalmente, de esquemas terapêuticos dificultou a análise. Questões éticas foram respeitadas e nenhum dos deles foi vacinado com conhecimento médico, uma vez que se encontravam no grupo de risco para doença vacinal, considerando os conhecimentos até agora existentes. Por isso, apenas aqueles que se revacinaram inadvertidamente foram selecionados.

Para garantir os dados sobre a data da vacinação, o registro por escrito foi exigido dos participantes. Isto dificultou o recrutamento porque a ausência do cartão de vacina ou do registro vacinal prévio dos pacientes foi frequente. Em áreas de risco, a maior parte da população é vacinada em grandes campanhas, quando comprovantes avulsos são recebidos. Estes, em geral, são mais facilmente perdidos.

Como consequência da falta de comprovantes e impossibilidade de programar-se a vacinação nos usuários de imunomoduladores ou imunossupressores, não há registros do *status* sorológico prévio desses pacientes.

A coleta prévia à imunização traria infrações éticas porque estaria ligada ao conhecimento da exposição ao vírus vacinal por essa população susceptível à doença viscerotrópica. Por este motivo, não houve a análise dos anticorpos neutralizantes antes da revacinação dos pacientes, fato que traz restrições à análise dos dados. Na ocasião do recrutamento de pacientes, aqueles que não haviam se vacinado foram orientados a não fazê-lo. Dessa forma o princípio da não maleficência foi respeitado. Por isso foi considerada a resposta imune à revacinação já que os pacientes que participaram do estudo vivem em área endêmica, onde a vacinação em massa é feita a cada 8-10 anos.

A revacinação é, em geral, acompanhada de menor frequência de eventos adversos (98). Não há casos de doença vacinal associada a vacina 17D em indivíduos revacinados. Este pode ter sido um dos motivos pelos quais não houve eventos adversos graves na amostra estudada. O número reduzido de pacientes pode ser outro fator. Entretanto, a total falta de conhecimento sobre os efeitos da vacina 17D em pacientes com doenças reumáticas em uso de imunomoduladores ou imunossupressores torna os dados aqui apresentados inéditos e de grande relevância.

Outra questão digna de nota é que grande parte dos pacientes de regiões endêmicas primovacinar-se antes do estabelecimento da doença autoimune, uma vez que a primeira vacinação, em geral, é feita nos primeiros anos de vida, e a revacinação indicada a cada 8-10 anos. A avaliação de epidemias ocorridas entre 1969 e 2011 mostrou que, na maior parte delas, há uma campanha de vacinação concomitante ou em seguida (27). Portanto, a maioria das pessoas com doenças reumáticas que residem em áreas endêmicas já se vacinaram anteriormente, assim como nossa amostra. Portanto, acreditamos que os dados relacionados aos eventos adversos possam ter validade externa.

Há limitações em relação aos dados publicados sobre os surtos de febre amarela, como pequena quantidade de estudos, amostras pequenas e heterogeneidade entre as áreas afetadas. As condições individuais como

desnutrição ou imunossupressão por HIV podem influenciar na forma como a doença se apresenta e por isso uma larga variação entre a incidência das diferentes apresentações clínicas (leve, moderada e grave) (27). Portanto, é possível que alguns dos pacientes avaliados nesse estudo possam ter entrado em contato com o vírus selvagem em algum momento de suas vidas. A erradicação da febre amarela urbana em 1942 é um fator que diminui o risco de transmissão. Por motivos éticos, já citados anteriormente, não foi possível a avaliação sorológica prévia.

Este trabalho traz dados inéditos sobre resposta imune protetora em pacientes com doenças reumáticas, em uso de imunomoduladores ou imunossupressores, que foram inadvertidamente revacinados contra a febre amarela. Até então, não há outro trabalho que avalie a resposta protetora em pacientes com diversas doenças reumáticas por meio do método padrão ouro (PRNT). Também não se conhecia a porcentagem de soroconversão à revacinação nesses pacientes. Dessa forma, aqueles que moram em áreas endêmicas encontram-se expostos à doença e são privados da forma mais eficaz de prevenção por causa do risco teórico.

Estima-se que, em epidemias, a incidência de infecção possa atingir entre 20 e 40% da população e que 1 entre 7 pessoas infectadas desenvolva a doença (22). A situação única identificada nesse trabalho, em que pacientes reumáticos em uso de imunomoduladores ou imunossupressores foram inadvertidamente revacinados contra a febre amarela, permitiu que dados relevantes sobre segurança e eficácia da vacinação fossem obtidos de forma ética, sem oferecer riscos de forma intencional aos pacientes. Foi possível observar que mesmo os pacientes imunossuprimidos apresentaram resposta imune protetora em porcentagem próxima dos dados da literatura para a população hígida, com poucos eventos adversos. Esta é uma oportunidade inédita que pode fornecer conhecimentos úteis e com aplicabilidade prática, bem como embasar estudos futuros.

7. CONCLUSÕES



Charge que representa o combate de Oswaldo Cruz contra a Febre Amarela. Abaixo foi publicado o texto:

Oswaldo – Comigo é isto, hein? Você há de sair por esse UMARIZAL até VER O PESO da minha força... Comigo ninguém pode!...

Lemos e Zé – Ahí,, seu Oswaldo! Faça azular essa Amarela por esses verdes afora...

Ela – Cruzes, Oswaldo!... Cruzes!...

Reproduzido do livro “Oswaldo Cruz e a febre amarela no Pará” (p. 56)

1. Esse foi o primeiro estudo que avaliou a resposta imune protetora da revacinação contra a febre amarela, representada pelos anticorpos neutralizantes, e eventos adversos nos pacientes reumáticos em uso de imunomoduladores ou imunossupressores.

2. A porcentagem de pacientes com doenças reumáticas em uso de imunomoduladores ou imunossupressores que apresentou anticorpos neutralizantes após a revacinação foi semelhante aos dados existentes na literatura considerando indivíduos não imunossuprimidos.

3. Não houve eventos adversos graves na amostra estudada.

4. Não houve correlação de títulos de anticorpos e a ocorrência de eventos adversos na amostra estudada.

5. Não houve correlação entre os títulos de anticorpos e a idade na revacinação na amostra estudada.

8. ARTIGOS PUBLICADOS. COMUNICAÇÃO EM CONGRESSOS E PREMIAÇÃO



Observations sur la fièvre jaune,

Lasteyrie, 1919

1) Artigo publicado: "O que o reumatologista deve saber sobre a vacina contra a febre amarela." *Revista Brasileira de Reumatologia* 2013; 53 (2) 206-210 (apêndice C).

2) Artigo original aceito pela revista *Arthritis and Rheumatology* (2014). "Seroconversion in patients with rheumatic diseases treated with immunomodulators or immunosuppressants inadvertently revaccinated against yellow fever" (apêndice D).

3) Artigo publicado: "Occurrence of autoimmune diseases related to the vaccine against yellow fever." *Autoimmune Diseases* (Volume 2014 (2014), Article ID 473170) (apêndice E)

4) Apresentação do tema livre "Verificação da capacidade de soroconversão de paciente com doenças reumáticas em uso de imunossupressores que, inadvertidamente, se revacinaram contra a febre amarela." no XXX Congresso Brasileiro de Reumatologia (2013).

5) Vencedora do Prêmio Panlar (*Panamerican League Against Rheumatism*) em 2013 com o trabalho "Immune response to revaccination with the vaccine 17 d in patients with autoimmune diseases who have inadvertently vaccinated against yellow fever. "

9. PERSPECTIVAS

O MALHO 25-6-1910

CRUZADA OSWALDO: OS MICROBIOS QUE ESCAPAM

Está o viajante para adormecer no Rio de Janeiro, que acorda ao voltar para o Brasil a casa da Sra. D. de Paula Machado e Maravilha, bem dentro o paraíso do Pará.

(M. J. J. J.)



Charge d'O Malho ilustrando a cruzada de Oswaldo Cruz no Pará.

Reproduzido do livro "Oswaldo Cruz e a febre amarela no Pará" (p. 32)

Os resultados desse estudo trazem questões que podem ser esclarecidas em estudos futuros.

- Este trabalho é o estudo piloto de um projeto maior que visa avaliar não só a resposta imune humoral mas também a imunidade celular dos pacientes com diferentes doenças reumáticas em uso de imunossuppressores. Os imunossuppressores permitem a supressão seletiva de citocinas ou células do sistema imune. A análise confecção do perfil de citocinas e a comparação com pessoas híginas pode auxiliar na elucidação da importância e mecanismos de ação dos diferentes componentes da resposta imune. Dessa forma o estudo dos pacientes que são submetidos a tais drogas pode contribuir para elucidar o diferente papel dessas citocinas e células.

- O acompanhamento a longo prazo dos pacientes, com dosagens seriadas de anticorpos neutralizantes permitiria acompanhar se há ou não redução dos níveis de anticorpos neutralizantes e se a proteção conferida pela vacina seria menos duradoura nesse grupo de pacientes.

- Novos dados obtidos sobre a vacina antiamarílica são também úteis para o estudo de outros flavivírus como o West Nile e o vírus da dengue. A vacina 17 D tem sido usada com veículo e modelo para o desenvolvimento de outras vacinas.

10. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS



Charge d'O Malho induzindo a revolta da população contra a vacinação obrigatória contra a varíola.

Reproduzido do livro "Oswaldo Cruz e a febre amarela no Pará" (p. 35)

1. Vasconcelos PF. [Yellow Fever]. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*. 2003;36(2):275-93.
2. Coura JR. *Dinâmica das doenças infecciosas e parasitárias*. 1st ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2005.
3. Franco O. *História da febre amarela no Brasil*. Rio de Janeiro: Ministério da Saúde; 1969.
4. Ferreira KV, Rocha KC, Caputto LC, Fonseca ALA, Fonseca FLA. Historical of yellow fever in Brazil and the importance of vaccination. *Arq Bras Cien Saude*. 2011;36(1):40-7.
5. Frierson JG. The yellow fever vaccine: a history. *The Yale journal of biology and medicine*. 2010;83(2):77-85.
6. Norrby E. Yellow fever and Max Theiler: the only Nobel Prize for a virus vaccine. *The Journal of experimental medicine*. 2007;204(12):2779-84.
7. Gardner CL, Ryman KD. Yellow fever: a reemerging threat. *Clinics in laboratory medicine*. 2010;30(1):237-60.
8. Costa ZGAR, A.P.M.; Elkhoury, A.N.M; Flannery, B.F. Evolução histórica da vigilância epidemiológica e do controle da febre amarela no Brasil. *Revista Pan Amazônica de Saúde*. 2011;2(1):11-26.
9. Neto HF. *Oswaldo Cruz e a febre amarela no Pará*. 2 ed. Chagas IE, editor. Ananindeua Pará: Instituto Evandro Chagas; 2012. 172 p.
10. Ferreira KVR, K.C; Caputto, L.C.; Fonseca, A.L.A.; Fonseca, F.L.A. Historical of yellow fever in Brazil and the importance of vaccination. *Arq Bras Cien Saude*. 2011;36(1):40-7.
11. Benchimol JL. *Febre amarela: a doença e a vacina, uma história inacabada*. Rio de Janeiro: Editora FIOCRUZ; 2001. 470 p.
12. Ribeiro M, Antunes CM. [Yellow fever: study of an outbreak]. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*. 2009;42(5):523-31.
13. Romano AP, Costa ZG, Ramos DG, Andrade MA, Jayme Vde S, Almeida MA, et al. Yellow Fever outbreaks in unvaccinated populations, Brazil, 2008-2009. *PLoS neglected tropical diseases*. 2014;8(3):e2740.

14. Staples JE, Monath TP. Yellow fever: 100 years of discovery. *JAMA : the journal of the American Medical Association*. 2008;300(8):960-2.
15. Pulendran B. Learning immunology from the yellow fever vaccine: innate immunity to systems vaccinology. *Nat Rev Immunol*. 2009;9(10):741-7.
16. Jonker EF, Visser LG, Roukens AH. Advances and controversies in yellow fever vaccination. *Ther Adv Vaccines*. 2013;1(4):144-52.
17. Tauil PL. Critical aspects of yellow fever control in Brazil. *Revista de saude publica*. 2010;44(3):555-8.
18. Lopes AC. *Tratado de Clínica Médica*. 2nd ed. São Paulo: Roca; 2009. 3861-86 p.
19. Vasconcelos PF. Yellow fever in Brazil: thoughts and hypotheses on the emergence in previously free areas. *Revista de saude publica*. 2010;44(6):1144-9.
20. Barnett ED. Yellow fever: epidemiology and prevention. *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America*. 2007;44(6):850-6.
21. Hill DR. Mapping the risk of yellow Fever infection. *Current infectious disease reports*. 2012;14(3):246-55.
22. Monath TP, Lee CK, Julander JG, Brown A, Beasley DW, Watts DM, et al. Inactivated yellow fever 17D vaccine: development and nonclinical safety, immunogenicity and protective activity. *Vaccine*. 2010;28(22):3827-40.
23. Jentes ES, Pomeroy G, Gershman MD, Hill DR, Lemarchand J, Lewis RF, et al. The revised global yellow fever risk map and recommendations for vaccination, 2010: consensus of the Informal WHO Working Group on Geographic Risk for Yellow Fever. *The Lancet infectious diseases*. 2011;11(8):622-32.
24. Labeaud AD, Bashir F, King CH. Measuring the burden of arboviral diseases: the spectrum of morbidity and mortality from four prevalent infections. *Population health metrics*. 2011;9(1):1.
25. Gallego V, Berberian G, Lloveras S, Verbanaz S, Chaves TS, Orduna T, et al. The 2014 FIFA World Cup: communicable disease risks and advice for visitors to Brazil--a review from the Latin American Society for Travel Medicine (SLAMVI). *Travel Med Infect Dis*. 2014;12(3):208-18.

26. Gotuzzo E, Yactayo S, Cordova E. Efficacy and duration of immunity after yellow fever vaccination: systematic review on the need for a booster every 10 years. *The American journal of tropical medicine and hygiene*. 2013;89(3):434-44.
27. Johansson MA, Vasconcelos PF, Staples JE. The whole iceberg: estimating the incidence of yellow fever virus infection from the number of severe cases. *Trans R Soc Trop Med Hyg*. 2014.
28. Vellozzi C, Mitchell T, Miller E, Casey CG, Eidex RB, Hayes EB. Yellow fever vaccine-associated viscerotropic disease (YEL-AVD) and corticosteroid therapy: eleven United States cases, 1996-2004. *The American journal of tropical medicine and hygiene*. 2006;75(2):333-6.
29. Monath TP. Treatment of yellow fever. *Antiviral Res*. 2008;78(1):116-24.
30. Lown BA, Chen LH, Wilson ME, Sisson E, Gershman M, Yanni E, et al. Vaccine administration decision making: the case of yellow Fever vaccine. *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America*. 2012;55(6):837-43.
31. Julander JG, Shafer K, Smee DF, Morrey JD, Furuta Y. Activity of T-705 in a hamster model of yellow fever virus infection in comparison with that of a chemically related compound, T-1106. *Antimicrob Agents Chemother*. 2009;53(1):202-9.
32. Belsher JL, Gay P, Brinton M, DellaValla J, Ridenour R, Lanciotti R, et al. Fatal multiorgan failure due to yellow fever vaccine-associated viscerotropic disease. *Vaccine*. 2007;25(50):8480-5.
33. Hayes EB. Is it time for a new yellow fever vaccine? *Vaccine*. 2010;28(51):8073-6.
34. Martins RM, Maia Mde L, Farias RH, Camacho LA, Freire MS, Galler R, et al. 17DD yellow fever vaccine: a double blind, randomized clinical trial of immunogenicity and safety on a dose-response study. *Hum Vaccin Immunother*. 2013;9(4):879-88.
35. Monath TP. Review of the risks and benefits of yellow fever vaccination including some new analyses. *Expert review of vaccines*. 2012;11(4):427-48.
36. Neves PC, Matos DC, Marcovistz R, Galler R. TLR expression and NK cell activation after human yellow fever vaccination. *Vaccine*. 2009;27(41):5543-9.

37. Gaucher D, Therrien R, Kettaf N, Angermann BR, Boucher G, Filali-Mouhim A, et al. Yellow fever vaccine induces integrated multilineage and polyfunctional immune responses. *The Journal of experimental medicine*. 2008;205(13):3119-31.
38. Silva ML, Martins MA, Espirito-Santo LR, Campi-Azevedo AC, Silveira-Lemos D, Ribeiro JG, et al. Characterization of main cytokine sources from the innate and adaptive immune responses following primary 17DD yellow fever vaccination in adults. *Vaccine*. 2011;29(3):583-92.
39. Campi-Azevedo AC, de Araujo-Porto LP, Luiza-Silva M, Batista MA, Martins MA, Sathler-Avelar R, et al. 17DD and 17D-213/77 yellow fever substrains trigger a balanced cytokine profile in primary vaccinated children. *PloS one*. 2012;7(12):e49828.
40. Martins MA, Silva ML, Eloi-Santos SM, Ribeiro JG, Peruhype-Magalhaes V, Marciano AP, et al. Innate immunity phenotypic features point toward simultaneous raise of activation and modulation events following 17DD live attenuated yellow fever first-time vaccination. *Vaccine*. 2008;26(9):1173-84.
41. Martins MA, Silva ML, Marciano AP, Peruhype-Magalhaes V, Eloi-Santos SM, Ribeiro JG, et al. Activation/modulation of adaptive immunity emerges simultaneously after 17DD yellow fever first-time vaccination: is this the key to prevent severe adverse reactions following immunization? *Clinical and experimental immunology*. 2007;148(1):90-100.
42. Wrammert J, Miller J, Akondy R, Ahmed R. Human immune memory to yellow fever and smallpox vaccination. *Journal of clinical immunology*. 2009;29(2):151-7.
43. Monath TP. 17D Yellow Fever Virus Vaccine. *The American journal of tropical medicine and hygiene*. 2013;89(6):1225.
44. Sawyer WA, Lloyd W. The Use of Mice in Tests of Immunity against Yellow Fever. *J Exp Med*. 1931;54(4):533-55.
45. 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. *Tropical medicine & international health : TM & IH*. 1999;4(12):867-71.
46. Grobusch MP, Goorhuis A, Wieten RW, Verberk JD, Jonker EF, van Genderen PJ, et al. Yellow fever revaccination guidelines change - a decision too

feverish? *Clinical microbiology and infection : the official publication of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*. 2013;19(10):885-6.

47. Poland JD, Calisher CH, Monath TP, Downs WG, Murphy K. Persistence of neutralizing antibody 30-35 years after immunization with 17D yellow fever vaccine. *Bulletin of the World Health Organization*. 1981;59(6):895-900.

48. Camacho LA, de Aguiar SG, Freire Mda S, Leal Mda L, do Nascimento JP, Iguchi T, et al. Reactogenicity of yellow fever vaccines in a randomized, placebo-controlled trial. *Rev Saude Publica*. 2005;39(3):413-20.

49. Reinhardt B, Jaspert R, Niedrig M, Kostner C, L'Age-Stehr J. Development of viremia and humoral and cellular parameters of immune activation after vaccination with yellow fever virus strain 17D: a model of human flavivirus infection. *Journal of medical virology*. 1998;56(2):159-67.

50. Hepburn MJ, Kortepeter MG, Pittman PR, Boudreau EF, Mangiafico JA, Buck PA, et al. Neutralizing antibody response to booster vaccination with the 17d yellow fever vaccine. *Vaccine*. 2006;24(15):2843-9.

51. Groot H, Riberiro RB. Neutralizing and haemagglutination-inhibiting antibodies to yellow fever 17 years after vaccination with 17D vaccine. *Bull World Health Organ*. 1962;27:699-707.

52. Monath TP, Nichols R, Archambault WT, Moore L, Marchesani R, Tian J, et al. Comparative safety and immunogenicity of two yellow fever 17D vaccines (ARILVAX and YF-VAX) in a phase III multicenter, double-blind clinical trial. *The American journal of tropical medicine and hygiene*. 2002;66(5):533-41.

53. Vasconcelos PF, Luna EJ, Galler R, Silva LJ, Coimbra TL, Barros VL, et al. Serious adverse events associated with yellow fever 17DD vaccine in Brazil: a report of two cases. *Lancet*. 2001;358(9276):91-7.

54. Barrett AD, Teuwen DE. Yellow fever vaccine - how does it work and why do rare cases of serious adverse events take place? *Current opinion in immunology*. 2009;21(3):308-13.

55. Organization WH. World – Yellow fever vaccination booster 2014 [cited 2014 1 nov 2014]. Available from: <http://www.who.int/ith/updates/20140605/en/>.

56. Monath TP, Fowler E, Johnson CT, Balser J, Morin MJ, Sisti M, et al. An inactivated cell-culture vaccine against yellow fever. *The New England journal of medicine*. 2011;364(14):1326-33.
57. Rubin LG, Levin MJ, Ljungman P, Davies EG, Avery R, Tomblyn M, et al. 2013 IDSA clinical practice guideline for vaccination of the immunocompromised host. *Clin Infect Dis*. 2014;58(3):309-18.
58. Azevedo LS, Lasmar EP, Contieri FL, Boin I, Percegon L, Saber LT, et al. Yellow fever vaccination in organ transplanted patients: is it safe? A multicenter study. *Transpl Infect Dis*. 2012;14(3):237-41.
59. Mateo RI, Xiao SY, Travassos da Rosa AP, Lei H, Guzman H, Lu L, et al. Yellow fever 17-D vaccine is neurotropic and produces encephalitis in immunosuppressed hamsters. *Am J Trop Med Hyg*. 2007;77(5):919-24.
60. Barte H, Horvath TH, Rutherford GW. Yellow fever vaccine for patients with HIV infection. *Cochrane Database Syst Rev*. 2014;1:CD010929.
61. Monath TP, Cetron MS, McCarthy K, Nichols R, Archambault WT, Weld L, et al. Yellow fever 17D vaccine safety and immunogenicity in the elderly. *Hum Vaccin*. 2005;1(5):207-14.
62. Roukens AH, Soonawala D, Joosten SA, de Visser AW, Jiang X, Dirksen K, et al. Elderly subjects have a delayed antibody response and prolonged viraemia following yellow fever vaccination: a prospective controlled cohort study. *PLoS One*. 2011;6(12):e27753.
63. Nascimento Silva JR, Camacho LA, Siqueira MM, Freire Mde S, Castro YP, Maia Mde L, et al. Mutual interference on the immune response to yellow fever vaccine and a combined vaccine against measles, mumps and rubella. *Vaccine*. 2011;29(37):6327-34.
64. Toledano E, Candelas G, Rosales Z, Martinez Prada C, Leon L, Abasolo L, et al. A meta-analysis of mortality in rheumatic diseases. *Reumatologia clinica*. 2012.
65. Luz KR, Souza DCC, Ciconelli RM. Vaccination for immunocompromised patients and patients with autoimmune rheumatic diseases. *Rev Bras Reum*. 2007;47(2):106-13.
66. van Assen S, Agmon-Levin N, Elkayam O, Cervera R, Doran MF, Dougados M, et al. EULAR recommendations for vaccination in adult patients with autoimmune

inflammatory rheumatic diseases. *Annals of the rheumatic diseases*. 2011;70(3):414-22.

67. Silva CAA, Terreri MTRA. Consenso de imunização para crianças e adolescentes com doenças reumatológicas. *Rev Bras Reum*. 2009;49(5):562-69.

68. Kavanaugh A. Infection prophylaxis in antirheumatic therapy: emphasis on vaccination. *Current opinion in rheumatology*. 2009;21(4):419-24.

69. Lindsey NP, Schroeder BA, Miller ER, Braun MM, Hinckley AF, Marano N, et al. Adverse event reports following yellow fever vaccination. *Vaccine*. 2008;26(48):6077-82.

70. Mota LM, Oliveira AC, Lima RA, Santos-Neto LL, Tauil PL. [Vaccination against yellow fever among patients on immunosuppressors with diagnoses of rheumatic diseases]. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*. 2009;42(1):23-7.

71. Kerneis S, Launay O, Ancelle T, Iordache L, Naneix-Laroche V, Mechai F, et al. Safety and immunogenicity of yellow fever 17D vaccine in adults receiving systemic corticosteroid therapy: An observational cohort study. *Arthritis Care Res (Hoboken)*. 2013.

72. Vandevyver S, Dejager L, Tuckermann J, Libert C. New insights into the anti-inflammatory mechanisms of glucocorticoids: an emerging role for glucocorticoid-receptor-mediated transactivation. *Endocrinology*. 2013;154(3):993-1007.

73. Hochberg MC. *Rheumatology*. 5th ed. Philadelphia, PA: Mosby/Elsevier; 2011.

74. Behrens F, Koehm M, Burkhardt H. Update 2011: leflunomide in rheumatoid arthritis - strengths and weaknesses. *Current opinion in rheumatology*. 2011;23(3):282-7.

75. Miller AV, Ranatunga SK. Immunotherapies in rheumatologic disorders. *The Medical clinics of North America*. 2012;96(3):475-96, ix-x.

76. Touma Z, Gladman DD, Urowitz MB. Vaccination and auto-immune rheumatic diseases: lessons learnt from the 2009 H1N1 influenza virus vaccination campaign. *Current opinion in rheumatology*. 2013;25(2):164-70.

77. Rahier JF, Moutschen M, Van Gompel A, Van Ranst M, Louis E, Segaert S, et al. Vaccinations in patients with immune-mediated inflammatory diseases. *Rheumatology (Oxford)*. 2010;49(10):1815-27.
78. Barber C, Gold WL, Fortin PR. Infections in the lupus patient: perspectives on prevention. *Current opinion in rheumatology*. 2011;23(4):358-65.
79. Ma H, Zhao L, Jiang Z, Jiang Y, Feng L, Ye Z. Dynamic changes in the numbers of different subsets of peripheral blood NK cells in patients with systemic lupus erythematosus following classic therapy. *Clin Rheumatol*. 2014.
80. Fairhurst AM, Wandstrat AE, Wakeland EK. Systemic lupus erythematosus: multiple immunological phenotypes in a complex genetic disease. *Advances in immunology*. 2006;92:1-69.
81. Kyogoku C, Smiljanovic B, Grun JR, Biesen R, Schulte-Wrede U, Haupl T, et al. Cell-specific type I IFN signatures in autoimmunity and viral infection: what makes the difference? *PLoS One*. 2013;8(12):e83776.
82. McCarthy EM, Smith S, Lee RZ, Cunnane G, Doran MF, Donnelly S, et al. The association of cytokines with disease activity and damage scores in systemic lupus erythematosus patients. *Rheumatology (Oxford)*. 2014.
83. Keyser FD. Choice of Biologic Therapy for Patients with Rheumatoid Arthritis: The Infection Perspective. *Current rheumatology reviews*. 2011;7(1):77-87.
84. Doan T, Massarotti E. Rheumatoid arthritis: an overview of new and emerging therapies. *Journal of clinical pharmacology*. 2005;45(7):751-62.
85. Scott DL, Wolfe F, Huizinga TW. Rheumatoid arthritis. *Lancet*. 2010;376(9746):1094-108.
86. James EA, LaFond RE, Gates TJ, Mai DT, Malhotra U, Kwok WW. Yellow fever vaccination elicits broad functional CD4+ T cell responses that recognize structural and nonstructural proteins. *J Virol*. 2013;87(23):12794-804.
87. Visser LG. TNF-alpha Antagonists and Immunization. *Current infectious disease reports*. 2011;13(3):243-7.
88. Scheinberg M, Guedes-Barbosa LS, Manguiera C, Rosseto EA, Mota L, Oliveira AC, et al. Yellow fever revaccination during infliximab therapy. *Arthritis care & research*. 2010;62(6):896-8.

89. Salinas GF, De Rycke L, Barendregt B, Paramarta JE, Hreggvidstottir H, Cantaert T, et al. Anti-TNF treatment blocks the induction of T cell-dependent humoral responses. *Ann Rheum Dis*. 2013;72(6):1037-43.
90. Saúde Md. Doenças infecciosas e parasitárias : guia de bolso. 8a ed. Brasília: Ministério da Saúde; 2010.
91. Bijl M, Agmon-Levin N, Dayer JM, Israeli E, Gatto M, Shoenfeld Y. Vaccination of patients with auto-immune inflammatory rheumatic diseases requires careful benefit-risk assessment. *Autoimmunity reviews*. 2012;11(8):572-6.
92. Tavares-Neto J, Freitas-Carvalho J, Nunes MR, Rocha G, Rodrigues SG, Damasceno E, et al. [Serologic survey for yellow fever and other arboviruses among inhabitants of Rio Branco, Brazil, before and three months after receiving the yellow fever 17D vaccine]. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*. 2004;37(1):1-6.
93. Camacho LA, Freire Mda S, Leal Mda L, Aguiar SG, Nascimento JP, Iguchi T, et al. Immunogenicity of WHO-17D and Brazilian 17DD yellow fever vaccines: a randomized trial. *Revista de saude publica*. 2004;38(5):671-8.
94. Monath TP. Yellow fever: an update. *The Lancet infectious diseases*. 2001;1(1):11-20.
95. Belmusto-Worn VE, Sanchez JL, McCarthy K, Nichols R, Bautista CT, Magill AJ, et al. Randomized, double-blind, phase III, pivotal field trial of the comparative immunogenicity, safety, and tolerability of two yellow fever 17D vaccines (Arlvax and YF-VAX) in healthy infants and children in Peru. *The American journal of tropical medicine and hygiene*. 2005;72(2):189-97.
96. Ferreira I, Isenberg D. Vaccines and biologics. *Ann Rheum Dis*. 2014;73(8):1446-54.
97. Nazi I, Kelton JG, Larche M, Snider DP, Heddle NM, Crowther MA, et al. The effect of rituximab on vaccine responses in patients with immune thrombocytopenia. *Blood*. 2013;122(11):1946-53.
98. Paulo SdEdSdS. Informe técnico vacina contra febre amarela. In: VRANJAC CdVEPA, editor. São Paulo: Governo do Estado de São Paulo; 2011. p. 6.

11. ANEXOS



Charles Willson Peale (1741-1827) retratou a epidemia de febre amarela de 1793, ocorrida na Filadélfia, Estados Unidos

ANEXO A – APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA



UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
FACULDADE DE MEDICINA
Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos

CEP - FM
Nº 602
<i>[Signature]</i>

ANÁLISE DE PROJETO DE PESQUISA

Recebemos
EM 21 / 03 / 2011

Registro de Projeto: CEP-FM 039/2010.

Título: “Vacinação para febre amarela em pacientes com diagnóstico de doenças reumáticas e em uso de imunossupressores”.

Pesquisador Responsável: Ana Cristina Vanderley Oliveira.

Documentos analisados: Folha de rosto, carta de encaminhamento, declaração de responsabilidade, protocolo de pesquisa, termo de consentimento livre e esclarecido, cronograma, bibliografia pertinente e currículo (s) de pesquisador (es).

Data de entrega: 03/05/2010.

Parecer do (a) relator (a)

Aprovação

Não aprovação.

Data da primeira análise pelo CEP-FM/UNB: 04/06/2010.

Data do parecer final do projeto pelo CEP-FM/UNB: 19/07/2010.

PARECER

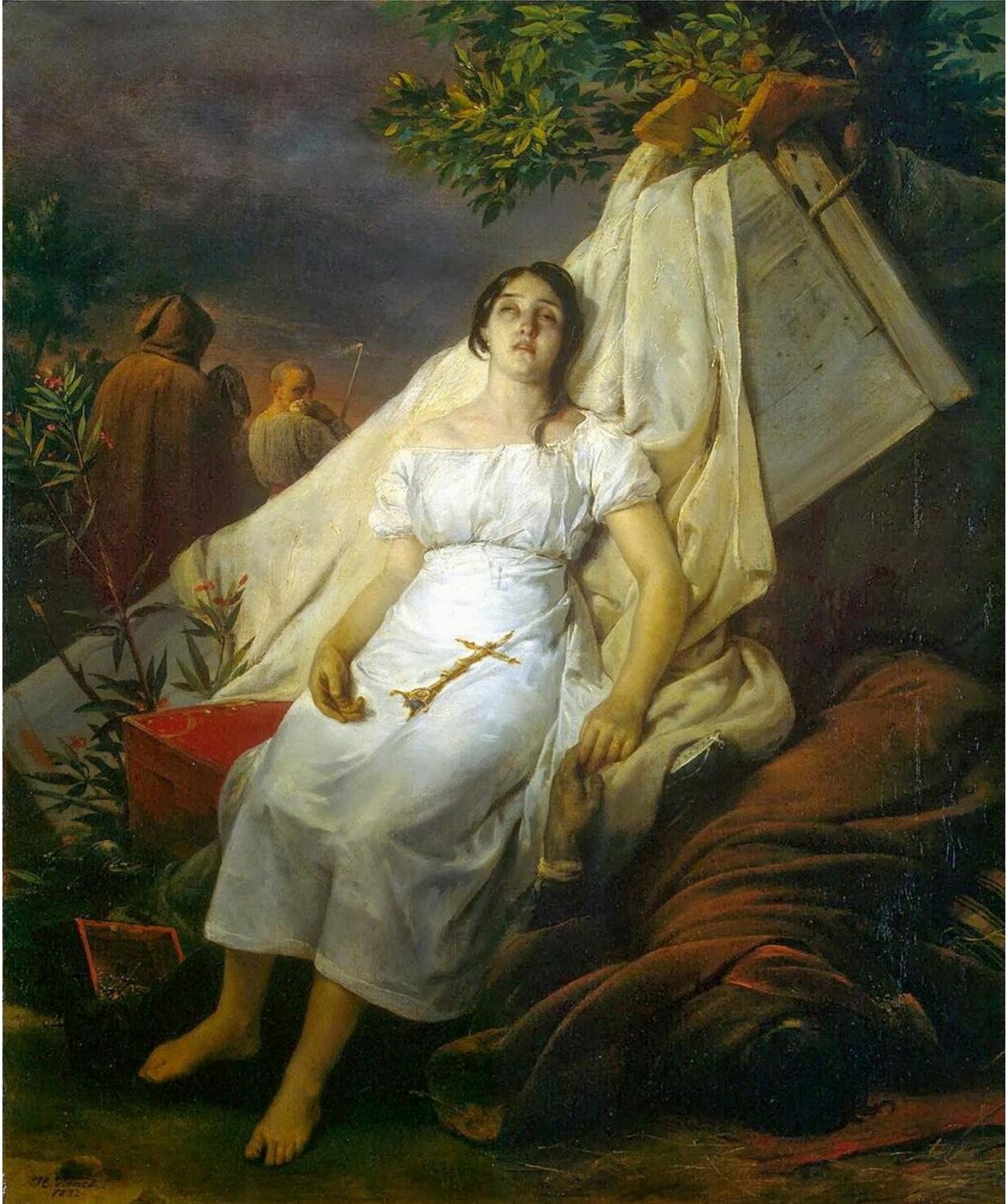
Com base na Resolução CNS/MS nº 196/96 e resoluções posteriores, que regulamentam a matéria, o Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Medicina da Universidade de Brasília decidiu **APROVAR** “*ad referendum*”, conforme parecer do (a) relator (a), o projeto de pesquisa acima especificado quanto aos seus aspectos éticos.

1. Modificações no protocolo devem ser submetidas ao CEP, assim como a notificação imediata de eventos adversos graves;
2. O (s) pesquisador (es) deve (m) apresentar relatórios periódicos do andamento da pesquisa ao CEP-FM, sendo o 1º previsto para até 30 de janeiro de 2010.
(2011)

Brasília, 21 de Julho de 2010

[Signature]
Prof.^a Elaine Maria de Oliveira Alves
Coordenadora do Comitê de Ética em Pesquisa
Faculdade de Medicina-UnB

12. APÉNDICES



La Peste de Barcelone (1822)

Horace Vernet

APÊNDICE A – FICHA DE COLETA DE DADOS

“VERIFICAÇÃO DA CAPACIDADE DE SOROCONVERSÃO DE PACIENTES REUMATOLÓGICOS EM USO DE IMUNOSSUPRESSORES, QUE INADVERTIDAMENTE SE VACINARAM CONTRA FEBRE AMARELA”

1. Identificação

Nome: _____

Sexo: () F () M

Idade: _____

Registro: _____

Endereço: _____

Telefone: _____

Data: _____

2. Dados sobre o diagnóstico e uso de medicação:

Diagnóstico:

() Artrite reumatóide () LES () Artrite reativa () Artrite psoriásica

() Espondilite anquilosante () Vasculite _____ () Outros _____

Tempo de diagnóstico: _____

Complicações: _____

3) Medicação em uso

Medicação	Dose	Duração do tratamento
Metotrexato VO		
Metotrexato IM		
Corticoesteróide VO		
Corticoesteróide IV		
Leflunomida		
Azatioprina		

Micofenolato de mofetil		
Ciclofosfamida VO		
Ciclofosfamida IV		
Ciclosporina		
Infliximabe		
Etanercepte		
Adalimumabe		
Rituximabe		

4) Vacinação para febre amarela

Vacinação prévia – data: _____

Vacinação atual- data: _____

5) Reações adversas:

() Nenhuma

() Reações locais

() Dor local () Edema () Eritema () Calor local

() Reações de hipersensibilidade

() Rash () Urticária + febre () Angioedema () Anafilaxia

() Eventos inespecíficos

() Cefaléia () Vertigem () Vômitos () Diarréia

() Eventos multisistêmicos

() Mialgia () Artralgia () Rabdomiólise () Elevação de enzimas hepáticas () Insuficiência respiratória () Nefropatia

() Coagulação intravascular disseminada

() Eventos neurológicos

- () Parestesias () Déficit neurológico periférico ou de pares cranianos
- () Rabdomiólise () Alteração do nível de consciência
- () Mielite () Encefalite () Convulsões de início recente
- () Síndrome de Guillain-Barré

() Febre

() Comprometimento de múltiplos órgãos pelo vírus vacinal da febre amarela

() Óbito

**APÊNDICE B – TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO
(COLETA DE SANGUE)**

**Participação no Projeto “VERIFICAÇÃO DA CAPACIDADE DE
SOROCONVERSÃO DE PACIENTES REUMATOLÓGICOS EM USO DE
IMUNOSSUPRESSORES, QUE INADVERTIDAMENTE SE VACINARAM
CONTRA FEBRE AMARELA”**

I - DADOS DE IDENTIFICAÇÃO DO SUJEITO DA PESQUISA

1.Nome do paciente:.....
DOCUMENTO DE IDENTIDADE Nº : SEXO : .M ()F ()
DATA NASCIMENTO:/...../.....
ENDEREÇO Nº APTO:
BAIRRO:.....CIDADE
CEP:.....TELEFONES:DDD(.....).....

Convido você a participar do estudo chamado “Verificação da capacidade de soroconversão de pacientes reumatológicos em uso de imunossupressores, que inadvertidamente se vacinaram contra febre amarela”.

Trata-se de um estudo que vai avaliar pessoas (pacientes) com doenças reumáticas (por exemplo, artrite reumatoide, lúpus, artrite reativa, espondilite anquilosante, vasculites, etc), que tomem remédios que alterem seu sistema imunológico (os chamados imunossupressores) e que tenham sido vacinados contra febre amarela.

O objetivo desse estudo é tentar verificar se as pessoas que têm essas doenças reumáticas e fazem uso de imunossupressores, e que foram vacinadas contra a febre amarela, apresentaram efeitos colaterais (ou seja, problemas decorrentes da vacinação) e desenvolveram imunidade contra a doença.

Os pacientes serão vistos pelo médico responsável em uma única entrevista. Nessa entrevista, o paciente fornecerá informações sobre sua doença, apresentará o cartão de vacinação.

Trata-se apenas de coleta de informações e coleta de amostra de sangue. O seu sangue será analisado para avaliar a eficácia da vacina. O seu tratamento para a doença não será modificado durante a entrevista. Não serão testados novos remédios para a doença.

O objetivo deste projeto é estudar se as pessoas com doenças reumáticas que usam remédios imunossupressores e que recebem a vacina para febre amarela se tornaram imunes contra a doença. Não existem muitas informações sobre vacinação para febre amarela nas pessoas com doenças reumáticas, mesmo em regiões em que a doença ocorre mais frequentemente, como é o caso do Distrito Federal.

Assim este estudo é importante para que se possa conhecer um pouco mais sobre efeitos e funcionamento da vacina para febre amarela em pacientes com doenças reumáticas usando remédios que alterem o sistema imune. Isso pode ser útil para que os médicos de regiões em que há risco de febre amarela possam ter uma informação para indicar ou não a vacina para seus pacientes reumáticos, em uso de remédios que alterem o sistema imune.

Os procedimentos do estudo serão coletas de informações relativas à doença e tratamento, além da apresentação do cartão de vacinação, para confirmar a data da vacina.

Não se espera que a pessoa tenha qualquer risco por participar neste estudo. A informação obtida com este estudo provavelmente não terá relação direta com a sua doença ou com seu tratamento, mas poderá servir para compreender melhor as doenças reumáticas e sua relação com a vacina para febre amarela. Assim, estas informações poderão trazer benefícios para todos os pacientes com doenças reumáticas.

A informação obtida será de uso científico e não será divulgada para outros fins. Todos os dados referentes aos pacientes são confidenciais. Em nenhum momento haverá liberação de identidade ou quaisquer dados que possam levar à sua identificação.

Como o resultado do estudo pode ser de seu interesse, se você quiser, pode deixar registrado além de seu próprio telefone e endereço, os telefones e endereços de cinco contatos seus (entre eles três parentes de primeiro grau) a fim de que você possa ser encontrado para saber os resultados, mesmo após alguns anos do término desse estudo.

A sua participação neste estudo é totalmente voluntária, e a sua recusa em participar não afetará de nenhuma maneira o relacionamento com o seu médico. Uma vez que você aceite participar do estudo, permanecerá com o direito de retirar seu consentimento a qualquer momento.

Para qualquer dúvida ou esclarecimento adicional, você posso entrar em contato com a Dra. Ana Cristina, pelos telefone 34485253, ou contactá-la diretamente no endereço SGAN 604/605, Avenida L2 Norte, Hospital Universitário de Brasília, Ambulatório de Reumatologia, CEP:70919970. A dra. poderá ser encontrada no corredor laranja, sala C, de segunda à sexta-feira, das 8h às 12 horas.

Declaro que recebi uma cópia deste termo de consentimento para ler antes de assiná-lo, que os detalhes do projeto foram explicados e que manterei uma cópia deste consentimento em meu poder.

Assinatura do paciente

Data

Assinatura do médico

Data

APÊNDICE C – ARTIGO DE REVISÃO PUBLICADO NA REVISTA BRASILEIRA DE REUMATOLOGIA

REV BRAS REUMATOL. 2013;53(2):206-210



REVISTA BRASILEIRA DE REUMATOLOGIA

www.reumatologia.com.br



Artigo de revisão

O que o reumatologista deve saber sobre a vacina contra febre amarela

Ana Cristina Vanderley Oliveira^a, Licia Maria Henrique da Mota^{a,b,*}, Leopoldo Luiz dos Santos-Neto^b, Pedro Luiz Tauil^c

^aPrograma de Pós-Graduação em Ciências Médicas, Faculdade de Medicina, Universidade de Brasília (FMUnB), Brasília, DF, Brasil

^bDepartamento de Clínica Médica, Hospital das Forças Armadas, Brasília, DF, Brasil

^cPrograma de Pós-Graduação em Medicina Tropical, Faculdade de Medicina, Universidade de Brasília (FMUnB), Brasília, DF, Brasil

INFORMAÇÕES

Histórico do artigo:

Recebido em 2 de dezembro de 2011

Aceito em 13 de dezembro de 2012

Palavras-chave:

Febre amarela

Vacina contra febre amarela

Doenças reumáticas

Agentes imunossupressores

RESUMO

Os pacientes portadores de doenças reumáticas são mais suscetíveis à infecção, quer seja pela própria doença de base ou pelo tratamento empregado. É papel do reumatologista prevenir as infecções nesse grupo de pacientes e, dentre as estratégias empregadas, encontra-se a vacinação. No grupo das doenças infecciosas que podem ser prevenidas está a febre amarela. Sua vacina é segura e eficaz na população em geral, mas, assim como as vacinas contendo organismos vivos atenuados, deve ser evitada sempre que possível em portadores de doenças reumáticas em uso de medicamentos imunossupressores. Sendo a febre amarela endêmica em grande parte do Brasil, e estando a vacinação contra essa doença indicada para a população residente em extensa parte do território nacional (além dos viajantes para essas regiões), torna-se essencial que o reumatologista tenha conhecimento da doença, das indicações e contraindicações da vacina contra a febre amarela. Nosso artigo tem o objetivo de destacar os principais aspectos que o reumatologista precisa conhecer sobre a vacina contra a febre amarela, para decidir por sua indicação ou contraindicação após avaliação do risco-benefício em situações específicas.

© 2013 Elsevier Editora Ltda. Todos os direitos reservados.

What a rheumatologist needs to know about yellow fever vaccine

ABSTRACT

Patients with rheumatic diseases are more susceptible to infection, due to the underlying disease itself or to its treatment. The rheumatologist should prevent infections in those patients, vaccination being one preventive measure to be adopted. Yellow fever is one of such infectious diseases that can be avoided. The yellow fever vaccine is safe and effective for the general population, but, being an attenuated live virus vaccine, it should be avoided whenever possible in rheumatic patients on immunosuppressive drugs. Considering that yellow fever is endemic in a large area of Brazil, and that vaccination against that disease is indicated for those living in such area or travelling there, rheumatologists need to know that disease, as well as the indications for the yellow fever vaccine and contraindications

Keywords:

Yellow fever

Yellow fever vaccine

Rheumatic diseases

Immunosuppressive agents

* Autor para correspondência.

E-mail: liciamhmota@yahoo.com.br (L.M.H. Mota)

0482-5004/\$ - see front matter. © 2013 Elsevier Editora Ltda. Todos os direitos reservados.

to it. Our paper was aimed at highlighting the major aspects rheumatologists need to know about the yellow fever vaccine to decide about its indication or contraindication in specific situations.

© 2013 Elsevier Editora Ltda. All rights reserved.

Introdução

O tratamento das doenças reumáticas tem sido aprimorado ao longo dos anos.¹ A prescrição de drogas imunossupressoras, muitas vezes precoce ou mesmo agressiva, tem o objetivo de reduzir e eventualmente eliminar a atividade de doença.² Essa manipulação do sistema imune inerente à terapia associada à disfunção própria da doença autoimune, pode aumentar o risco de infecções nesse grupo de pacientes.^{2,3} O risco de infecções graves nessa população é duas vezes maior que na população em geral.¹

A vacinação é um dos métodos mais eficientes na prevenção de doenças infecciosas.^{2,4} No entanto, em pacientes reumáticos em uso de imunossupressores, a vacinação merece algumas considerações especiais. Sua eficácia pode estar comprometida em decorrência das alterações do sistema imune próprias desse grupo.⁴ Há também o risco de episódios de reagudização do quadro após a imunização.^{4,5}

As vacinas contendo organismos vivos atenuados devem ser evitadas sempre que possível em portadores de doenças reumáticas em uso de imunossupressores.^{2,4} Tais vacinas representam risco aumentado em pacientes incapazes ou ineficientes em debelar infecções e podem levar a quadros semelhantes à doença primária.² A vacina contra febre amarela enquadra-se nessa categoria.^{2,4}

A febre amarela é endêmica em grande parte do Brasil, e a vacinação contra essa doença é indicada para a população residente em extensa parte do território nacional (além dos viajantes para tais regiões). Assim, torna-se essencial que o reumatologista tenha conhecimento da doença e das indicações e contraindicações da vacina contra a febre amarela, objetivo de nosso estudo, a fim de que possa decidir por sua indicação ou contraindicação em situações específicas.

Febre amarela

A febre amarela é uma doença viral febril hemorrágica, infecciosa, não contagiosa, endêmica em regiões da África e da América do Sul, causada por vírus de RNA de fita simples.⁶ No Brasil, desde 2009, o Ministério da Saúde, baseando-se nas epizootias ocorridas em 2008 e 2009, dividiu as regiões consideradas para a transmissão em áreas com recomendação de vacina (ACRV), anteriormente chamadas de endêmicas e de transição, e áreas sem recomendação (ASRV), antes conhecidas como indenes. A ACRV compreende as regiões Norte e Centro-oeste, os estados do Maranhão e de Minas Gerais e parte de São Paulo, Piauí, Bahia, Paraná, Rio Grande do Sul e Santa Catarina.^{7,8} A doença é transmitida pela picada de insetos hematófagos da família *Culicidae*, em especial dos gêneros *Aedes* e *Haemagogus*.⁶ A transmissão é classificada pelo meio em que ocorre: urbano ou silvestre.⁶ No Brasil, os últimos ca-

sos urbanos foram identificados em 1942. Desde então, os casos relatados da doença têm sido de transmissão por meio do ciclo silvestre.⁶

Sua suscetibilidade é geral, sem etnia ou faixa etária com maior ou menor suscetibilidade ao vírus.⁶ Os indivíduos mais acometidos são homens jovens, pela maior exposição ao agente transmissor.⁶ O período médio de incubação é de 3-6 dias.⁶

O quadro clínico pode variar desde quadros assintomáticos ou febris leves, de curta duração, a uma infecção grave e fulminante.^{6,9} Nas formas moderada e grave, pode haver falência renal e hepática, dano cardíaco, hemorragia e choque.⁹ A taxa de letalidade global encontra-se entre 5%-10%.⁶ Estima-se que apenas 10% dos casos sejam de formas graves, associadas à elevada taxa de letalidade, variando de 40%-60% dos casos.⁶ Segundo dados do Ministério da Saúde, a taxa de letalidade média é de 52,8%, com variação de 23%-100%.⁷

A febre amarela não pode ser erradicada, pois trata-se de uma zoonose.¹⁰ Os surtos da doença ocorrem a cada 5-7 anos.⁷ Não há tratamento específico para a doença.⁶ Quanto às medidas gerais a serem tomadas, o combate ao mosquito *Aedes aegypti* é um dos principais aspectos a ser considerado no combate da forma urbana. Além disso, coleta de lixo e suprimento de água adequados, uso de larvicidas, educação em saúde por parte das instituições governamentais, aliada aos cuidados da população, que para diminuir a transmissão deve evitar situações em que a água fique parada, como em vasos de plantas, calhas ou piscinas não tratadas. Em relação à forma urbana, deve-se evitar viagens a áreas silvestres de regiões com recomendação de vacina em casos em que não se tenha feito a imunização 10 dias e por 10 anos em relação à viagem.^{6-8,10} A vacina antiamarilica é a principal forma de prevenção da doença.⁶

Vacina antiamarilica

A vacina 17D contra a febre amarela encontra-se disponível no Brasil desde 1937.^{10,11} Desde então, mais de 500 milhões de pessoas foram imunizadas, sendo considerada uma das mais eficazes e seguras vacinas do mundo.¹² Oferece proteção por pelo menos 10 anos, e até mesmo para a vida toda.^{6,13} Dentro de 30 dias, mais de 90% dos vacinados desenvolvem anticorpos contra a febre amarela,⁹ e cerca de 98%-100% dos indivíduos tornam-se imunizados.^{13,14} Ainda assim, a Organização Mundial de Saúde recomenda o reforço a cada 10 anos.¹³ A vacinação deve ser realizada a partir dos 9 meses de idade nas ACRV, segundo o Ministério da Saúde. Em situações de epidemia ou surto, deve ser feita a partir de 6 meses de idade.⁷

A cepa 17D original foi desenvolvida a partir de 176 passagens da cepa selvagem Asabi em tecidos de murinos e galináceos.¹³ As vacinas utilizadas atualmente são derivadas de duas subcepas - 17DD e 17D204,^{11,13} obtidas a partir de 287-289 e 235-240 passagens, respectivamente.¹³ O objetivo das pas-

sagens é diminuir a virulência.¹¹ No Brasil, a vacina utilizada é a 17DD, produzida em Biomanguinhos, órgão da Fundação Oswaldo Cruz.⁵

Após a imunização, uma baixa viremia é detectada em metade dos vacinados.¹³ Há rápida indução de resposta humoral, e a imunoglobulina M (IgM) pode ser detectada em 7-10 dias.¹³ Títulos de anticorpos neutralizantes são baixos como 1:10 são suficientes para conferir proteção.¹³

A cepa 17D é um potente indutor de resposta T citotóxica CD4+ e CD8+.¹³ O sistema imune inato também é envolvido, pois a cepa 17D replica-se de forma mínima em células dendríticas, podendo levar à apoptose das mesmas.¹³ Os receptores toll like (TLR) 2, 3, 7, 8 e 9 são estimulados e há aumento de IFN- $\alpha/\beta/\gamma$, TNF- α e IL-1 β .^{13,15}

Efeitos adversos

Embora seja uma vacina segura, a 17DD ainda apresenta efeitos adversos, em geral bem-tolerados. Dor local, inflamação, cefaleia de fraca intensidade, mialgia, dor lombar e elevação transitória de transaminases são efeitos considerados leves, que costumam ocorrer entre 2 e 11 dias da vacinação.^{13,16}

A anafilaxia secundária à vacina contra febre amarela é outro aspecto relevante, e ocorre na frequência de 0,9-1,8 por 100.000 doses, sendo atribuída à alergia ao ovo ou à gelatina utilizada em sua produção.^{12,16,17}

Em relação aos efeitos adversos graves (SAEs – *serious adverse effects*), os mais relevantes são a doença neurotrópica (YEL-AND) e a doença viscerotrópica (YEL-AVD) associadas à vacina contra febre amarela.^{5,13,18} De acordo com os dados do Sistema de Informação do Programa Nacional de Imunizações do Ministério da Saúde, houve 1.994 efeitos adversos reportados no período de 2000-2008, quando 101.564.083 doses da 17DD foram aplicadas.¹⁷ Os SAEs ocorrem mais frequentemente após a administração da primeira dose. Houve 0,023 casos de choque anafilático, 9 casos de hipersensibilidade e 0,84 episódios de YEL-AND a cada 1.000.000 de doses. Foram identificados 26 casos de doença viscerotrópica. Nesse período, foi possível observar aumento das publicações sobre SAEs no país.¹⁷

Doença neurotrópica associada à vacina contra febre amarela (YEL-AND)

A incidência mundial de YEL-AND é estimada entre 0,4 e 9,9 a cada 100.000 doses.¹² É mais frequente em menores de 6 meses de idade, com incidência nessa faixa etária de 0,5-4 casos a cada 1.000 vacinas.¹⁹ Portanto, sua ocorrência diminuiu após a suspensão da administração nesse grupo etário.²⁰

A doença pode se manifestar como encefalite, meningite, neuropatia, mielite ou síndrome de Guillain-Barré.^{12,16,19} Seu quadro clínico é tipicamente brando, com recuperação completa.¹⁹

Doença viscerotrópica associada à vacina contra febre amarela (YEL-AVD)

Em 2001, foram relatados os primeiros casos de YEL-AVD,^{18,21,22} embora uma análise retrospectiva indique ocorrência na década de 1970.¹³ No Brasil, a frequência esperada é de 0,006-1,32 casos por 100.000 doses.¹³ O risco de YEL-AVD aumenta

com o passar da idade. O risco para pacientes entre 60 e 69 anos é de 4,2 a cada 100.000 doses, podendo chegar a 12,6 a cada 100.000 doses nos maiores de 75 anos.¹⁶

É um quadro grave, com taxa de letalidade esperada em torno de 60%.¹³ Os sintomas iniciam em média quatro dias após a vacinação, e o quadro é idêntico à infecção pelo vírus selvagem.^{5,23}

Há poucos estudos sobre a YEL-AVD, devido ao pequeno número de casos.¹³ A maioria dos casos relatados, à exceção do surto em Ica (Peru), estão relacionados a lotes diferentes de vacinas.^{13,23} Thomas et al.,²⁴ em uma revisão sistemática, estimaram entre 11,1 e 15,6 SAEs por milhão de doses aplicadas.

O sequenciamento genético de pessoas com YEL-AVD é idêntico ao das cepas vacinais correspondentes.^{12,23} Isso sugere que a YEL-AVD parece estar mais relacionada às condições do hospedeiro, que não é capaz de controlar a replicação vacinal, do que às mutações do vírus vacinal.¹²

Considerando esses achados, alguns fatores de risco para SAEs já foram identificados: idade avançada (maior que 60 anos), gênero masculino, timectomia, uso de imunossuppressores.¹³

Vacina antiamarilica e os pacientes reumáticos

Pacientes reumáticos crônicos em uso de imunossuppressores são mais expostos à infecção e, por isso, a imunização nesse grupo tem sido cada vez mais estudada e recomendada.¹⁴

No entanto, segundo as recomendações vigentes, a vacina antiamarilica deve ser evitada ou até mesmo contraindicada nesse grupo de pacientes, por tratar-se de vacina de vírus vivo atenuado e haver risco de replicação viral vacinal descontrolada.^{4,13,25,26} O consenso europeu (*European League Against Rheumatism – EULAR*) postula que as vacinas de vírus vivo devem ser evitadas e o risco deve ser balanceado.⁴ Segundo o Grupo Britânico de Reumatologia Pediátrica, vacinas de vírus vivo são contraindicadas em todos os pacientes em uso de drogas citotóxicas.²⁷ Já o Consenso de imunização para crianças e adolescentes com doenças reumatológicas traz a orientação que “crianças e adolescentes com doenças reumatológicas que recebem imunossuppressores não devem receber vacinas com vírus vivo” ao tratar especificamente da febre amarela.²⁶ Da Luz³ afirma que “não se deve administrar a vacina em pacientes imunocomprometidos, pois apresentam risco elevado de encefalite”. Hayes¹² contraindica a vacinação nesse grupo de pacientes e defende a criação de novas vacinas. Todavia, não há recomendações específicas em relação aos pacientes reumatológicos que se encontram em áreas de risco, temporariamente ou não, e que são suscetíveis à doença. Ainda em relação aos pacientes reumáticos, há casos de YEL-AVD relatados em portadores de lúpus eritematoso sistêmico e polimialgia reumática.^{17,22,23} Portanto, faz-se necessária uma análise do risco de infecção e dos possíveis SAEs associados à vacina nessa população.

O grau de imunossupressão deve ser avaliado e varia de acordo com a doença, as drogas imunossupressoras utilizadas, dose e tempo de medicação.²⁶ A doença influencia na intensidade da imunodeficiência porque também define dose e duração do tratamento.²⁸ Não há consenso sobre a dose mínima causadora de imunossupressão clínica, e há poucas evidências publicadas sobre a imunodeficiência conferida

por drogas citotóxicas em doses usadas em doenças reumáticas.²⁷ Em relação aos corticoides, o uso de prednisona em doses equivalentes a 10 mg/dia não está associado ao aumento de infecção.²⁸ A prednisona em doses equivalentes a 2 mg/kg/dia por mais de uma semana ou 1 mg/kg/dia por mais de um mês contraindicam vacinas de vírus vivo nesses pacientes.²⁷ O Grupo Britânico de Reumatologia Pediátrica admite a imunização com vírus vivo em pacientes portadores de artrite idiopática juvenil naqueles que não se encontram em uso de drogas imunodepressoras,²⁷ indicando que a imunossupressão pode estar mais relacionada à terapêutica que à doença de base.

Outro fator a ser considerado é a capacidade de soroconversão desses pacientes, que é inversamente proporcional ao grau de imunossupressão.²⁵ Em relação à resposta imune em pacientes reumáticos, há um estudo em que foram avaliados 17 pacientes portadores de artrite reumatoide em uso de terapia biológica que foram vacinados contra a febre amarela. Foram dosadas a IgG e IgM pré- e pós-vacinais, utilizando método com sensibilidade e especificidade semelhantes ao teste de neutralização por redução de placas (padrão ouro para avaliação da resposta imune protetora). A comparação entre os títulos de anticorpos de pacientes e controles mostrou uma tendência de resposta reduzida no grupo do estudo, embora não tenha sido possível análise estatística devido ao pequeno número de pacientes.²⁹

Quanto aos efeitos adversos nessa população, o único estudo existente apresenta uma série de casos com 70 pacientes, com idade média de 46 anos, portadores de diversas doenças reumáticas que foram inadvertidamente vacinados com a vacina antiartrítica. Daqueles pacientes, 16 (22,5%) relataram efeitos adversos menores, dado compatível com o esperado para a população hígida.³⁰

Cabe ainda lembrar que as vacinas em geral podem estar relacionadas ao desenvolvimento de doenças autoimunes. Estruturas moleculares virais são capazes de induzir a ativação imune de células do sistema de defesa inato, podendo levar à inflamação crônica autossustentada.³¹ O tempo entre a vacinação e a ocorrência de autoimunidade pode variar de dias a anos, o que dificulta sua identificação.⁵ Há relatos de caso em que a vacina contra a febre amarela desencadeou doenças autoimunes como esclerose múltipla, mielite transversa e doença de Kawasaki.³²⁻³⁴ Em associação com a vacina da hepatite A, já foram descritos casos de hepatite autoimune e a síndrome dos múltiplos pontos brancos evanescentes.^{35,36} Infecções e imunizações também podem promover a imunomodulação, levando à redução da atividade inflamatória exarcebada.³¹ Células T reguladoras ativadas nesse processo podem ser exploradas no controle da inflamação e autoimunidade.³¹ A "hipótese higiênica", semelhante à utilizada na alergologia, sugere que a relativa ausência de infecções seria responsável pela incidência de doenças autoimunes.³¹

Considerações finais

A recomendação atual é que pacientes em uso de imunossupressores não devem ser vacinados contra a doença.²⁴ A vacina com o vírus inativado está em desenvolvimento e apresen-

ta boa resposta imune protetora em murinos.²⁷ No entanto, a ocorrência de surtos periódicos traz a possibilidade de novos casos antes da disponibilização da vacina à população.

O que fazer, então, em casos de pacientes moradores de áreas endêmicas, próximos a ambientes silvestres ou que precisem se expor durante o trabalho?

Não há outros estudos que avaliem a resposta ou os efeitos adversos após a vacinação contra a febre amarela em pacientes reumáticos em uso de imunossupressores. Por motivos éticos, a vacinação não pode ser aplicada nesses pacientes com fins de pesquisa científica. Além disso, resultados conclusivos só podem ser fornecidos a partir da avaliação de grande número de pacientes, pois os efeitos adversos parecem ser raros, mesmo nessa população. Para uma avaliação custo-benefício, é preciso considerar se o risco de contrair a infecção é maior que o risco de contrair a doença.²⁵

A dose de imunossupressor utilizada é fundamental para tomada de decisão do médico. Segundo a American Academy of Pediatrics, prednisona em doses equivalentes ou maiores que 2 mg/kg/dia ou 20 mg por dia contraindicam a vacinação com vacinas de vírus vivo (*Varicella Zoster*).³⁸ O Consenso de imunização para crianças e adolescentes com doenças reumatológicas, da Sociedade Brasileira de Reumatologia, afirma que a população abordada não deve receber vacinas com vírus vivo ao tratar sobre vacina antiartrítica, e que esse tipo de vacina é habitualmente contraindicado em imunossuprimidos.²⁶

Em casos específicos, pode haver uma janela de oportunidade antes do início do uso de drogas imunossupressoras, em que as vacinas de vírus vivo podem ser administradas.²⁷ De acordo com a British Society of Rheumatology, a vacinação deve ocorrer duas semanas antes do início do tratamento.²⁷ Segundo o mesmo grupo, o prazo a ser aguardado para imunização com tais vacinas é de pelo menos três meses.²⁷ Os especialistas argumentam a favor da análise do risco/benefício em usuários de corticoides e/ou drogas citotóxicas. Os especialistas do EULAR afirmam que tais vacinas devem ser evitadas, mas que os riscos e benefícios devem ser balanceados.

Cabe ao médico a orientação quanto às ACRV, epidemias e surtos, bem como a avaliação do risco individualizado de infecção e do grau de imunossupressão de cada paciente para que se possa indicar ou não a vacina nessa população.

Suporte financeiro

A autora Ana Cristina Vanderley Oliveira recebeu bolsa da CAPES-CNPq.

Conflitos de interesse

Os autores declaram a inexistência de conflitos de interesse.

REFERÊNCIAS

- Glück T, Müller-Ladner U. Vaccination in patients with chronic rheumatic or autoimmune diseases. *Clin Infect Dis*. 2008;46(9):1459-65.

2. Kavanaugh A. Infection prophylaxis in antirheumatic therapy: emphasis on vaccination. *Curr Opin Rheumatol*. 2009;21(4):419-24.
3. da Luz KR, de Souza DCC, Ciconelli RM. Vacinação em Pacientes Imunossuprimidos e com Doenças Reumatológicas Autoimunes. *Revis Bras Reumatol*. 2007;47(2):106-13.
4. van Assen S, Agmon-Levin N, Elkayam O, Cervera R, Doran MF, Dougados M, et al. EULAR recommendations for vaccination in adult patients with autoimmune inflammatory rheumatic diseases. *Ann Rheum Dis*. 2011;70(3):414-22.
5. Dell'Era L, Esposito S, Corona F, Principi N. Vaccination of children and adolescents with rheumatic diseases. *Rheumatology (Oxford)*. 2011;50(8):1358-65.
6. Vasconcelos PF. Yellow Fever. *Rev Soc Bras Med Trop*. 2003;36(2):275-93.
7. Ministério da Saúde. Doenças infecciosas e parasitárias: guia de bolso. 8 ed. Brasília: Ministério da Saúde; 2010.
8. Ministério da Saúde. 2008 [cited 2011 3 de fevereiro]; Available from: http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/nota_fa.pdf.
9. Vellozzi C, Mitchell T, Miller E, Casey CG, Eidex RB, Hayes EB. Yellow fever vaccine-associated viscerotropic disease (YEL-AVD) and corticosteroid therapy: eleven United States cases, 1996-2004. *Am J Trop Med Hyg*. 2006;75(2):333-6.
10. Tauil PL. Critical aspects of yellow fever control in Brazil. *Rev Saude Publica*. 2010;44(3):555-8.
11. Frierson JG. The yellow fever vaccine: a history. *Yale J Biol Med*. 2010;83(2):77-85.
12. Hayes EB. Is it time for a new yellow fever vaccine? *Vaccine*. 2010;28(51):8073-6.
13. Barrett AD, 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(3):308-13.
14. Monath TP, Cetron MS, McCarthy K, Nichols R, Archambault WT, Weld L, et al. Yellow fever 17D vaccine safety and immunogenicity in the elderly. *Hum Vaccin*. 2005;1(5):207-14.
15. Neves PC, Matos DC, Marcovistz R, Galler R. TLR expression and NK cell activation after human yellow fever vaccination. *Vaccine*. 2009;27(41):5543-9.
16. Lindsey NP, Schroeder BA, Miller ER, Braun MM, Hinckley AF, Marano N, et al. Adverse event reports following yellow fever vaccination. *Vaccine*. 2008;26(48):6077-82.
17. Martins RM, Maia MLS, Santos EM, Cruz RLS, Santos PG, Carvalho SMD, et al. Yellow Fever Vaccine Post-marketing Surveillance in Brazil. *Procedia in Vaccinology*. 2010;2:178-83.
18. Vasconcelos PF, Luna EJ, Galler R, Silva LJ, Coimbra TL, Barros VL, et al. Serious adverse events associated with yellow fever 17DD vaccine in Brazil: a report of two cases. *Lancet*. 2001;358(9276):91-7.
19. Fernandes GC, Camacho LA, Sa Carvalho M, Batista M, de Almeida SM. Neurological adverse events temporally associated to mass vaccination against yellow fever in Juiz de Fora, Brazil, 1999-2005. *Vaccine*. 2007;25(16):3124-8.
20. McMahon AW, Eidex RB, Marfin AA, Russell M, Sejvar JJ, Markoff L, et al. Neurologic disease associated with 17D-204 yellow fever vaccination: a report of 15 cases. *Vaccine*. 2007;25(10):1727-34.
21. Chan RC, Penney DJ, Little D, Carter IW, Roberts JA, Rawlinson WD. Hepatitis and death following vaccination with 17D-204 yellow fever vaccine. *Lancet*. 2001;358(9276):121-2.
22. Martin M, Tsai TF, Cropp B, Chang GJ, Holmes DA, Tseng J, et al. Fever and multisystem organ failure associated with 17D-204 yellow fever vaccination: a report of four cases. *Lancet*. 2001;358(9276):98-104.
23. Whittembury A, Ramirez G, Hernández H, Roper AM, Waterman S, Ticona M, et al. Viscerotropic disease following yellow fever vaccination in Peru. *Vaccine*. 2009;27(43):5974-81.
24. Thomas RE, Lorenzetti DL, Spragins W, Jackson D, Williamson T. Active and passive surveillance of yellow fever vaccine 17D or 17DD-associated serious adverse events: systematic review. *Vaccine*. 2011;29(28):4544-55.
25. Bruyand M, Receveur MC, Pistone T, Verdière CH, Thiebaut R, Malvy D. Yellow fever vaccination in non-immunocompetent patients. *Med Mal Infect*. 2008;38(10):524-32.
26. Silva CAA, Terrieri MTRA, Barbosa CMPL, Hilário MOE, Pileggi GCS, Ferriani VPL, et al. Consenso de imunização para crianças e adolescentes com doenças reumatológicas. *Rev Bras Reumatol*. 2009;49(5):562-89.
27. Davies K, Woo P. Immunization in rheumatic diseases of childhood: an audit of the clinical practice of British Paediatric Rheumatology Group members and a review of the evidence. *Rheumatology (Oxford)*. 2002;41(8):937-41.
28. Cutolo M, Seriola B, Pizzorni C, Secchi ME, Soldano S, Paolino S, et al. Use of glucocorticoids and risk of infections. *Autoimmun Rev*. 2008;8(2):153-5.
29. Scheinberg M, Guedes-Barbosa LS, Mangueira C, Rosseto EA, Mota L, Oliveira AC, et al. Yellow fever revaccination during infliximab therapy. *Arthritis Care Res (Hoboken)*. 2010;62(6):896-8.
30. Mota LM, Oliveira AC, Lima RA, Santos-Neto LL, Tauil PL. Vaccination against yellow fever among patients on immunosuppressors with diagnoses of rheumatic diseases. *Rev Soc Bras Med Trop*. 2009;42(1):23-7.
31. Cooke A, Ferraccioli GF, Herrmann M, Romani L, Schulze C, Zampieri S, et al. Induction and protection of autoimmune rheumatic diseases. The role of infections. *Clin Exp Rheumatol*. 2008;26(1 Suppl 48):S1-7.
32. Schmöeller D, Keiserman MW, Staub HL, Velho FP, de Fatima Grohe M. Yellow fever vaccination and Kawasaki disease. *Pediatr Infect Dis J*. 2009;28(11):1037-8.
33. Gout O. Vaccinations and multiple sclerosis. *Neuro Sci*. 2001;22(2):151-4.
34. Chaves M, Riccio P, Patrucco L, Rojas JI, Cristiano E. Longitudinal myelitis associated with yellow fever vaccination. *J Neurovirol*. 2009;15(4):348-50.
35. Stangos A, Zaninetti M, Petropoulos I, Baglivo E, Pournaras C. Multiple evanescent white dot syndrome following simultaneous hepatitis-A and yellow fever vaccination. *Ocul Immunol Inflamm*. 2006;14(5):301-4.
36. Perumalswami P, Peng L, Odin JA. Vaccination as a triggering event for autoimmune hepatitis. *Semin Liver Dis*. 2009;29(3):331-4.
37. Monath TP, Lee CK, Julander JG, Brown A, Beasley DW, Watts DM, et al. Inactivated yellow fever 17D vaccine: development and nonclinical safety, immunogenicity and protective activity. *Vaccine*. 2010;28(22):3827-40.
38. American Academy of Pediatrics. Committee of Infectious Diseases. *Red Book*. 28.ed. Elk Grove Village, IL; 2009. p. 72-86.

APÊNDICE D – ARTIGO ACEITO PELA REVISTA ARTHRITIS AND RHEUMATOLOGY



Seroconversion in patients with rheumatic diseases treated with immunomodulators or immunosuppressants inadvertently revaccinated against yellow fever

Journal:	<i>Arthritis & Rheumatology</i>
Manuscript ID:	ar-14-0398.R2
Wiley - Manuscript type:	Concise Communication
Date Submitted by the Author:	n/a
Complete List of Authors:	Oliveira, Ana; University of Brasilia, College of Medicine Henrique da Mota, Licia; University of Brasília, Graduate Program in Medical Sciences, School Medicine dos Santos-Neto, Leopoldo; Universidade de Brasília, Universidade de Brasília, Graduate Program in Medical Sciences, School Medicine; Hospital Universitário de Brasília, Universidade de Brasília, Rheumatology Service Simões, Marisol; FIOCRUZ, Virological Technology Laboratory Martins-Filho, Olindo; FIOCRUZ, Monitoring and Diagnostics Biomarkers Laboratory of the René Rachou Research Center Taul, Pedro; Universidade de Brasília, Universidade de Brasília, Graduate Program in Medical Sciences, School Medicine
Keywords:	Autoimmune Diseases, Infection, Disease-Modifying Antirheumatic Drugs (Dmards), Biologicals, Prevention

SCHOLARONE™
Manuscripts

Dear Dr. Oliveira:

Your manuscript has been recommended for publication in A&R. Please carefully follow the instructions below, as they have recently changed. You must complete everything on this list before I can forward it to the copyeditors and before it will show up as officially accepted in your Author Center.

1. **PROOFREAD YOUR REVISED MANUSCRIPT.** If you want to make any changes to the revision before the manuscript is online, it must be done now. Please email us your revised files (as a .doc file) ONLY if you need to make changes to the last version submitted to A&R. Otherwise, please let us know that your manuscript is ready for acceptance as is.

Shortly after acceptance, articles are published online in pre-copyedited form. This e-Pub-ahead-of-print version will be listed in PubMed, and at the time of final publication, the copyedited, final-published version will replace the e-Pub-ahead-of-print version in the PubMed citation and on the journal Web site. Supplementary materials will NOT be published e-Pub-ahead-of-print.

Note that the way the title, authors, and abstract appear at the time of acceptance will be the way they appear on PubMed until they are replaced by the final published version of the article. The same will hold true for the full article published on the journal's Web site. No changes can be made in the PubMed citation or the e-Pub-ahead-of-print article from the time it is posted until it is replaced by the final published article.

THEREFORE, PLEASE CAREFULLY PROOFREAD AUTHOR NAMES AND ALL OTHER ELEMENTS OF YOUR ARTICLE. TO MINIMIZE ERRORS IN PUBMED, ON YOUR MANUSCRIPT FILE PLEASE LIST ALL AUTHOR NAMES WITH THE FIRST NAME SHOWN BEFORE THE SURNAME. MIDDLE NAMES SHOULD BE AVOIDED IF POSSIBLE (MIDDLE INITIALS ARE OK) SINCE OFTEN IT IS DIFFICULT FOR PUBMED TO DETERMINE WHETHER A MIDDLE NAME IS ACTUALLY PART OF THE LAST NAME.

If an article has been designated by the Editor as being potentially newsworthy, it will not be included in the e-Pub-ahead-of-print section: we do not want any press coverage of such articles to occur until all copyediting has been done and corrections made, as the corrections are sometimes substantive.

2. Disclosure of Interest forms signed by all authors. We have already received all of the required disclosure forms for your manuscript.

Please let me know if you have any further questions.

Sincerely,
Brittany White
Arthritis & Rheumatology

Yellow fever revaccination in patients with rheumatic disease

Seroconversion in patients with rheumatic diseases treated with immunomodulators or immunosuppressants, who were inadvertently revaccinated against yellow fever

Ana C. V. Oliveira¹, Licia M. H. Mota², Leopoldo L. Santos-Neto², Marisol Simões³,
Olindo A. Martins-Filho⁴, Pedro L. Tauil²

1. MD, College of Medicine, University of Brasília, Brasília, Brazil

2. MD, PhD, College of Medicine, University of Brasília, Brasília, Brazil

3. FIOCRUZ, Virological Technology Laboratory, Rio de Janeiro, Brazil

4. PhD, Monitoring and Diagnostics Biomarkers Laboratory of the René Rachou Research Center, FIOCRUZ, Belo Horizonte, Brazil

Corresponding author:

Ana C. V. Oliveira

SHLN Bloco L Centro Clínico Norte II, 70390-700, Brasília, Distrito Federal, Brazil

Mobile No.: +55 61 8191 6798

E-mail: anacrisoliveira@hotmail.com

Ana Cristina has a scholarship from the National Council for Scientific and Technological Development–CNPq.

Keywords: yellow fever, rheumatic autoimmune disease, immunosuppression, vaccine protection, neutralizing antibodies

In 2007, there was a mass vaccination campaign against yellow fever (YF), and many rheumatic patients were vaccinated inadvertently. Vaccination is strongly recommended to all people living in Brasilia, thus we assumed that almost 100% of the population was vaccinated. In 2007 and 2008, we collected relevant data (rheumatic disease diagnoses, immunosuppressor use, date of revaccination date, and adverse events) within 30 days of the revaccination. All patients with autoimmune rheumatic disease who were using immunomodulators or immunosuppressants and who attended the Hospital Universitario de Brasilia (HUB) or a private rheumatology clinic in Brasilia between December 2007 and May 2008 were eligible. Two years later, we had the opportunity to evaluate the protective immune response in this group by means of neutralizing antibodies (Nab).

Our study group comprised 31 patients (Table 1). A single serum analysis was conducted using the plaque reduction neutralization test (PRNT). Values ≥ 794 mIU/mL were considered seropositive. Twenty patients (62.5%) were recruited from HUB and 11 (35.5%) from the private clinic. The diagnoses were rheumatoid arthritis (RA) ($n = 23$), systemic lupus erythematosus (SLE) ($n = 5$), systemic sclerosis (SS) ($n = 2$), and ankylosing spondylitis (AS) ($n = 1$). The entire sample comprised women. Seropositivity was observed in 27 individuals (87.1%). The mean Nab titer was 2865.58 mIU/mL. The mean, geometric mean, and median titer of Nab were 2,535.4, 1,543.5, and 2,015.0 mIU/mL, respectively, in the patients with RA (1st quartile [3rd quartile], 923 [3353]) and 1,934, 2,066.9, and 1,668 mIU/mL, respectively, in those with LES (1st quartile [3rd quartile], 1,208.5 [2792.5]). Among

the RA patients, 16 were taking methotrexate (mean [SD] dosage, 13.28 [5.73] mg/week), 9 were taking 20 mg leflunomide, 3 were using infliximab (at a dose of 3 mg/kg with administration intervals of 8 weeks), and 3 patients were using rituximab (1000 mg administered twice every 15 days).

Four patients reported mild adverse events up to 30 days after vaccination, 24 reported no reactions, and 3 did not recall the occurrence of any adverse reaction. One patient with AS (mesalazine 3.2 g) and another patient with RA (prednisone 10 mg) developed myalgia. One patient with SS (cyclophosphamide 1.2 g) had fever and rhinorrhea, and another patient with RA (methotrexate 20 mg and sulfasalazine 1.5g) had arthralgia. The mean (SD) titers of the Nab in the patients who presented adverse reactions and in the asymptomatic patients were 5,461 (6,817) mIU/mL and 2,610.46 (2,033.04) mIU/mL, respectively. No correlation ($\rho = -0.19$) was observed between the Nab and occurrence of adverse reactions or age at the time of revaccination in the sample of 28 patients ($\rho = -0.246$). It is noteworthy that the patient with the lowest antibody titer was treated with 2 g of rituximab approximately 4 months before being revaccinated against YF.

The data presented here are the only data available regarding protective immunity following YF revaccination in patients with rheumatic disease, which was assessed using the method that is considered to be the reference test. The results are compatible with the data already existing in the literature regarding vaccination of the general population (1, 2).

1. Vasconcelos PF. [Yellow Fever]. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*. 2003;36(2):275-93.
2. Monath TP. Review of the risks and benefits of yellow fever vaccination including some new analyses. *Expert review of vaccines*. 2012;11(4):427-48.

Table 1. Characteristics of the patients with rheumatic disease who were inadvertently revaccinated at the time of study entry

	n	Minimum	Maximum	Mean	Standard deviation
Age at revaccination (years)	31	11	74	46.77	12.72
Time between revaccination and collection (months)	31	34	64	39.61	8.51
RA patients using MTX (mg/sem) R/BC	16/8	5/7,5	25/20	13.28/12,81	5.73/4,31
RA patients using LFN (mg/day)	9/4	20/20	20/20	20/20	0/0
RA patients using infliximab (3mg/kg, 8/8 weeks) R/BC	3/3	3/3	3/3	3/3	0/0
RA patients using rituximab (1000 mg, twice, 15/15 days) R/BC	3/1	1000/1000	1000/1000	1000/1000	0
SLE patients using hydroxychloroquine	3	400	400	400	0

RA, rheumatoid arthritis; SLE, systemic lupus erythematosus; MTX, methotrexate; LFN leflunomide; R/BC, revaccination/blood collection

Review Article

Occurrence of Autoimmune Diseases Related to the Vaccine against Yellow Fever

Ana Cristina Vanderley Oliveira,^{1,2} Licia Maria Henrique da Mota,¹
Leopoldo Luiz dos Santos-Neto,¹ Jozélio Freire De Carvalho,³ Iramaya Rodrigues Caldas,⁴
Olindo Assis Martins Filho,⁵ and Pedro Luis Tauil¹

¹ Faculdade de Medicina, Universidade de Brasília, Brasília, DF, Brazil

² CRDF, SHLN Bloco L Centro Clínico Norte II, 70910-900 Brasília, DF, Brazil

³ Hospital Universitário Professor Edgard Santos da Universidade Federal da Bahia, 70390-700 Salvador, BA, Brazil

⁴ Coordenação de Pesquisa da Fundação Oswaldo Cruz (FIOCRUZ), 41810-080 Brasília, DF, Brazil

⁵ Laboratório de Biomarcadores de Diagnóstico e Monitoração do Centro de Pesquisas René Rachou, FIOCRUZ, 21040-900 Belo Horizonte, MG, Brazil

Correspondence should be addressed to Ana Cristina Vanderley Oliveira; acvanderley@gmail.com

Received 30 July 2014; Revised 8 September 2014; Accepted 22 September 2014; Published 22 October 2014

Academic Editor: Ricard Cervera

Copyright © 2014 Ana Cristina Vanderley Oliveira et al. This is an open access article distributed under the Creative Commons Attribution License, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

Yellow fever is an infectious disease, endemic in South America and Africa. This is a potentially serious illness, with lethality between 5 and 40% of cases. The most effective preventive vaccine is constituted by the attenuated virus strain 17D, developed in 1937. It is considered safe and effective, conferring protection in more than 90% in 10 years. Adverse effects are known as mild reactions (allergies, transaminases transient elevation, fever, headache) and severe (visceral and neurotropic disease related to vaccine). However, little is known about its potential to induce autoimmune responses. This systematic review aims to identify the occurrence of autoinflammatory diseases related to 17D vaccine administration. Six studies were identified describing 13 possible cases. The diseases were Guillain-Barré syndrome, multiple sclerosis, multiple points evanescent syndrome, acute disseminated encephalomyelitis, autoimmune hepatitis, and Kawasaki disease. The data suggest that 17D vaccination may play a role in the mechanism of loss of self-tolerance.

1. Introduction

Yellow fever is an infectious disease endemic in South America and Africa. The presence of viral reservoirs and the large number of viral vectors are prerequisites for the outbreaks of yellow fever observed in these areas [1]. The virus is transmitted by the bite of blood-sucking insects of the family Culicidae, in particular the genera *Aedes* and *Haemagogus* [2].

The yellow fever virus is a single-stranded RNA virus that belongs to the family Flaviviridae [1, 2]. The virus most likely originated in Africa and was brought to America during the slave trade [1, 3].

Epidemiologically, yellow fever exists in two forms, rural and urban, which are similar in their clinical and pathophysiological characteristics [2]. The disease lethality is estimated between 5 and 40%. In more severe cases, yellow fever evolves with sepsis, ictero-, and hepatorenal hemorrhagic syndromes, myocardial injury, and shock [1, 2]. According to the World Health Organization (WHO), more than 50% of people without treatment will die from the disease [4]. Some series report 94,8% of lethality at severe disease [5].

The clinical manifestations range from oligosymptomatic forms to severe and fatal cases [1, 2]. Only one in seven infected individuals develops symptoms [6]. The extremes of age are related to the severity and lethality of infection [7].

The incubation period is 3–6 days [8]. In the milder forms, infected individuals may develop nonspecific malaise, myalgia, nausea and vomiting, fever, and headaches. In this presentation, severe hemorrhage, hematemesis, epistaxis, ecchymosis, jaundice, dehydration, and oligo/anuria complete the picture [1, 2, 7]. Infection with the yellow fever virus is distinguished from other flaviviruses by liver damage and jaundice. Late manifestations, such as mental confusion, seizures, and coma, can occur. Death occurs between 7 and 10 days after the onset of symptoms [1].

The best method to prevent yellow fever is vaccination [2, 8]. The 17D vaccine, made with live attenuated virus, has been used since 1937 and is considered one of the safest and most effective vaccines ever produced [2, 9]. The vaccine induces neutralizing antibodies in 90% of recipients after 10 days and in 99% of recipients after 30 days [6]. Today, the vaccines for yellow fever are derived from two substrains, 17D and 17D-204 [8]. The vaccines are produced by four centers: Institut Pasteur in Dakar, Senegal; Bio-Manguinhos Wire Cruz, Rio de Janeiro, Brazil; Sanofi Pasteur, US; and Sanofi Pasteur, France [1]. The WHO recommended that the vaccine be administered every 10 years until 2013. However, some authors believe that the vaccine's protection can extend throughout an individual's lifetime [2, 3]. Thus, based on the existing data, the WHO changed the recommendation: there is no need for revaccination for the immune-competent individuals [10]. It is estimated that over 500 million doses have been applied [9].

However, the yellow fever vaccine is not free of adverse effects [2, 8]. In general the adverse effects are mild and well tolerated, including pain in the injection site, headache, myalgia, fever, and lower back pain. These symptoms occur between the second and 11th day after the application [8]. Among the serious adverse events, a multisystem disease (YEL-AVD) and a neurological disease (YEL-AND) are associated with the yellow fever vaccination. Both are a consequence of infection by the vaccine virus [2, 8, 9]. YEL-AVD exhibits a clinical picture similar to wild yellow fever, whereas YEL-AND encompasses neurological manifestations, such as encephalitis and meningitis. Some autoimmune manifestations, such as Guillain-Barré or ADEM (acute disseminated encephalomyelitis), are also described [8, 11].

The development of autoimmune manifestations has been linked to vaccination and to infection by wild-type microorganisms [12]. Infections are potentially relevant events in the development of autoimmune diseases, as they have the ability to hyperstimulate the immune system. Antigens similar to human cells and tissues may stimulate autoantibody production because of the molecular mimicry in genetically predisposed individuals [9].

As the infection mechanisms due to the vaccine virus and wild microorganisms are the same, it is theoretically possible for autoimmunity to occur after vaccination [12, 13]. Another factor to be considered is the potential induction of autoimmunity by vaccine adjuvants [13].

In this study, we performed the first systematic review to identify the occurrence of autoimmune diseases related to the vaccine against yellow fever.

2. Methods

The search for articles was performed on September 9, 2012, in the following databases: PubMed, MEDLINE, LILACS, and SCiELO.

We used the words or phrases "yellow fever vaccine" or "yellow fever vaccination" in combination with "autoimmune," "autoimmunity," "immune response," "adverse effects," and "adverse events."

We included only studies published between 1937, the year the 17D vaccine was introduced, and September 9, 2012. We limited the included studies to those performed on humans and on the 17D vaccine (17D, 17DD, or 17D 204). The adverse event must have occurred within 30 days of the vaccination. Only articles written in English, Portuguese, or Spanish were considered.

After the initial screening, duplicate articles and those which were not case series were excluded.

The remaining abstracts were read, and those that cited the occurrence of some autoimmune disease were selected for reading. For purposes of this review, autoimmune diseases are considered to be any autoimmune disorders that are characterized by the production of autoantibodies. These must react with host tissues or immune effector cells that are reactive to endogenous peptides.

We found 602 articles. After applying the inclusion criteria, 463 articles remained and were screened by title. Of those remaining, we selected case series and case reports, totaling 132 articles, of which 82 were duplicates. Thus, 50 articles were selected for an analysis of the abstracts. Selected articles should cite at least one occurrence of autoimmune disease related to the 17D vaccine. At the end of our selection, we were left with 6 articles.

The quality of the selected articles was assessed by the McHarm tool, developed by McMaster University, Canada [14].

3. Results

There were 13 cases time-related to the development of autoimmune diseases (Table 1). Eight men (61.5%) and 5 women (38.5%) comprised the sample. Their ages ranged between 12 and 68 years, with a mean age of 42.31 years and a standard deviation of 20.43 years. The hepatitis A vaccine was applied in 8 of the cases described in this work. The time between the application of the vaccine and the clinical manifestations ranged between 7 and 27 days, with an average of 13.92 days.

In 1967, Miller et al. reported a series of 9 cases related to vaccination and multiple sclerosis. One case concerns a woman, aged 22 years, vaccinated against yellow fever in 1942. Six weeks prior to her yellow fever vaccine, she had been immunized with tetanus, typhoid vaccine, and smallpox without adverse effects. Hours after receiving the vaccine against yellow fever, she developed progressive loss of vision in both eyes, with recovery in a few weeks. One year after receiving the yellow fever vaccine, retrobulbar neuritis presented in the right eye. Over 12 episodes of retrobulbar neuritis between 1944 and 1951 were reported by

TABLE 1: Cases of autoimmune diseases after yellow fever vaccination.

Author	Disease	Age (years)	Gender	Time between vaccine and symptoms (days)	Symptoms	McHarm (quality)	Other vaccines
1 McMahon et al. [11]	GBS	49	M	10	Headache, dHopia	Good	Meningitis, dT, typhoid fever, Salk
2 McMahon et al. [11]	GBS	37	M	16	Headache, blurred vision	Good	Hep B, meningitis, dT
3 McMahon et al. [11]	GBS	17	F	7	Difficulty breathing	Good	Typhoid, Hep A, dT
4 McMahon et al. [11]	GBS	56	M	27	Paresis	Good	Hep A, Hep B, typhoid fever, meningitis
5 McMahon et al. [11]	GBS	63	F	16	Headache, unsteady gait	Good	Hep A
6 McMahon et al. [11]	GBS	68	F	8	Paresis	Good	dT, Hep A, typhoid
8 McMahon et al. [11]	ADEM	18	M	20	Eye pain, paresis, blurred vision	Good	dT, MMR
9 McMahon et al. [11]	ADEM	61	M	7	Unsteady gait	Good	dT, hepatitis A
10 Miller et al. [15]	MS	22	M	"Few hours"	Visual loss, paresis	Bad	Typhoid, tetanus, chick encephalitis
11 Perumalswami et al. [16]	AIH	31	F	11	Liver failure	Intermediate	Hep A
12 Schmöller et al. [17]	KD	12	M	20	Conjunctivitis, fever, coronary aneurism	Bad	None
13 Stangos et al. [18]	MEWDS	50	F	10	Temporary visual loss	Intermediate	Hepatitis A
14 Vit et al. [19]	MS?	66	M	15	Facial paralysis	Bad	None

GBS: Guillain-Barré syndrome; ADEM: acute demyelinating encephalomyelitis; AIH: autoimmune hepatitis; KD: Kawasaki disease; MEWDS: multiple evanescent white dot syndrome; dT: diphtheria and tetanus Hep B; hepatitis B; Hep A: hepatitis A; MMR: Measles-Mumps-Rubella.

the authors. The patient exhibited unilateral or bilateral paresis and emotional lability. Fifteen years after the vaccination, an examination revealed sequelae such as atrophy of the left optic nerve, residual intention tremor, and ataxia. The remaining cases cited by Miller involved vaccinations against other diseases [15].

In 2009, Schmöeller and colleagues described an atypical case after yellow fever vaccination that occurred in Rio Grande do Sul, Brazil. A male child, aged 12 years, developed the typical manifestations of Kawasaki disease. Kawasaki disease is a vasculitis of medium-caliber vessels with involvement of cardiac vessels and possible autoimmune etiology. Twenty days after the vaccination, the patient developed fever, fatigue, and myalgia, followed by conjunctivitis and cervical lymphadenopathy. Investigations revealed leukocytosis (17×10^9 cells/L), eosinophilia (1.5×10^9 cells/L), and moderate anemia. The erythrocyte sedimentation rate was 112 mm/h. Tests for cytomegalovirus, Epstein-Barr virus, and toxoplasmosis were negative. Echocardiography revealed coronary dilation. Treatment was started after the diagnosis, and the patient was medicated with immunoglobulin (2 g/kg, one day) plus aspirin. There was improvement for 2 weeks followed by arthralgia and recrudescence of conjunctivitis. The team opted to start prednisone therapy at 10 mg/kg, and symptom remission was observed. One month later, the child exhibited improved echocardiographic parameters and good recovery. The child remained asymptomatic and continued low-dose-aspirin therapy according to the authors of the publication [17].

Stangos and colleagues described a case of multiple evanescent white dot syndrome (MEWDS) after simultaneous vaccination against hepatitis A and yellow fever. This disease is benign, is characterized by white spots in the retinal pigment epithelium, and manifests clinically by unilateral involvement with painless loss of visual field scotomas and photopsias. The disease mainly affects females, as in the case described. This patient was a woman of 50 years who developed visual loss in photopsia and painless paracentral scotoma in the left eye 10 days after vaccination. Examination revealed a visual acuity of 20/40, and funduscopy revealed papillitis, macular granularity, and multiple white spots. Fluorescein angiography of the affected eye revealed numerous hypofluorescent injuries gradually radiating from the optic nerve. These findings, associated with the exclusion of sarcoidosis, tuberculosis, and syphilis, led researchers to diagnose MEWDS. The patient exhibited spontaneous clinical remission after 6 weeks, with normalization of her examinations. The authors believe that her older age might have favored the development of MEWDS [18].

Vital et al. analyzed the case of a 66-year-old patient vaccinated against yellow fever who developed progressive motor and sensory neuropathy associated with bilateral facial paralysis 15 days after vaccination. CSF analysis revealed a protein concentration of 3 g/L and 5 lymphocytes. Six weeks after the onset of symptoms, the patient underwent a tracheotomy. The patient required rehabilitation for 9 months. In the paper, there is no detailed description of the type of rehabilitation or the drugs that were used. Biopsy

samples were necessary and were taken from the superficial peroneal nerve and peroneal muscle. Histological analysis revealed destruction of the myelin sheath and associated macrophages [19].

There are also reports of a 31-year-old patient, previously healthy, who developed autoimmune hepatitis 11 days after vaccination against hepatitis A and yellow fever. Perumal-swami and colleagues described the clinical findings, which began with fever, dark urine, nausea, and vomiting. On physical examination, the patient exhibited jaundice and hepatomegaly. Laboratory tests reported values of 12 g/dL hemoglobin, 575 U/L ALT, 1276 U/L AST, and 162 U/L alkaline phosphatase. Serology for Epstein-Barr virus, leptospira, and hepatitis A, B, C, and E were negative. The following autoantibodies were measured and showed no reactions: anti-nuclear antibodies (ANA), liver-kidney microsomal (LKM) antibody, antimitochondrial antibodies, and anti-smooth muscle antibodies. A slight increase in IgG that reached 18.7 g/L was observed (VR < 17.28 g/L). PCR for viral RNA of the yellow fever virus was negative. The patient's clinical and laboratory findings improved over 3 weeks. New analysis indicated further increases in transaminases and bilirubin. The presumptive diagnosis of autoimmune hepatitis was made based on the criteria of the International Autoimmune Hepatitis Group (International Autoimmune Hepatitis Group (IAIGH)). Liver biopsy revealed lymphoplasmacytes periportal infiltrates, parenchymal necrosis, and lobular inflammation. The patient was treated with 40 mg of prednisone and 50 mg of azathioprine per day. After 3 months, the transaminases had normalized. After 1 year, a biopsy indicated a significant reduction in periportal inflammation. Previously necrotic areas were replaced by fibrous septa [16].

By analyzing data from 1990 in the 2005 American surveillance system, "Vaccine Adverse Event Reporting System (VAERS)," McMahon and colleagues sought to identify neurological syndromes associated with vaccination against yellow fever. Acute disseminated encephalomyelitis (ADEM) is defined by the presence of disseminated demyelination on imaging, as supported by the clinical presentation. Guillain-Barré syndrome (GBS) is defined by the presence of peripheral neuropathy and electrodiagnostic findings consistent with acute axonal demyelination. For the purpose of their analysis, encephalitis had to be caused after vaccination. Therefore, it is necessary to confirm the presence of the virus or specific IgM in the CSF. GBS and ADEM are considered autoimmune events. The authors considered a range of 30 days to classify the events as related to the yellow fever vaccine. We identified 3 cases of suspected ADEM in patients between 18 and 61 years of age. The clinical symptoms began between 7 and 20 days after vaccination. One of these patients exhibited retrobulbar optic neuritis with bilateral eye pain, blurred vision, numbness in the upper limb, lower limb paresis, and difficulty urinating. The patient developed persistent paresthesia but with almost total recovery of the other symptoms. The others, aged 19 and 61 years, progressed to paresis and difficulty walking. The oldest did not fully recover and was later referred to a recovery center. The youngest, although he exhibited

associated urinary dysfunction, showed improvement and was able to walk without assistance. This last patient, diagnosed with ADEM, was not considered by our criteria to exhibit positive CSF IgM, indicating that the vaccine virus did not penetrate into the central nervous system. This consideration was not made by the authors. Six patients, aged 17 to 68 years, developed suspected Guillain-Barré between 7 and 27 days after immunization. IgM CSF was evaluated in only one case and produced a negative result. Three patients required immunoglobulin, one patient required plasmapheresis, and another patient required two high doses of methylprednisolone. Of the six patients, one had diplopia at discharge, whereas the others exhibited minimal sequelae. None of the patients diagnosed with Guillain-Barré or ADEM in this publication had received the yellow fever vaccine alone [11].

Although it has been retracted because the author of the revision considered the disease secondary to an infection with the vaccine virus, Merlo et al. describe one possible case in 1993. The author published the first time-related description of vaccine associated encephalitis due to 17D in an adult. The patient was a 29-year-old individual immunized for the first time against yellow fever. The patient received vaccinations against diphtheria and tetanus on the same day as the yellow fever vaccine. At the third day, the patient had fever and headache and vomited. Nineteen days after, his clinical findings consisted of blurred vision, headache, dizziness, and ataxia. The sequela was persistent mild ataxia. Serological investigation for neurotropic viruses and bacteria was negative. The yellow fever neutralizing antibody was found in serum after 60 days (titer 1:80). Specific IgM or viral RNA in the CSF were not measured, and, thus, it was not possible to determine whether the symptoms were due to infection with the vaccine virus or to the occurrence of a secondary autoimmune response [20].

4. Discussion

Several studies in the literature have reported the association of vaccination with the development of autoimmune diseases [12]. Autoimmune events after vaccination are rare; therefore, the number of subjects studied would need to be quite high to identify the appropriate number of cases. Accordingly, the human and material cost becomes high in cohort studies. Additionally, it is difficult to control all of the factors that can alter the results of the study, such as environmental factors, genetic factors, or infections. The unpredictability of autoimmunity and the lack of previous studies make the study design even more complex. Even though one might identify the presence of an eventual relationship between the 17D vaccine and autoimmunity, new studies are needed to establish a relation cause and effect.

Although there are few case reports, a series of cases presents other limitations. The identification of cases was conducted passively, leading to underreporting. The amount of information collected and the data quality may be different in each study. Some of the reasons are the lack of

resources, delayed diagnosis, or differences between examiners. Although the vaccines are derived from the same original strain, they are produced by four distinct centers, and differences in handling and preservatives may occur. Such differences can be responsible for the development of autoimmune events. Thus, the comparison between cases involving vaccines of different manufacturers can lead to less reliable results. However, given the lack of studies on the topic, a series of cases remains an important tool.

Our study was heavily weighted by McMahon data, which were extracted from VAERS. It is a system of passive reporting and it was not designed for the establishment of cause and effect relationship. Some of its limitations are variability of data quality, underreporting, lacking of denominator information, and reporter bias. However, this system identifies adverse effects related to vaccines that must be further studied. Since there is a little amount of scientific literatures to establish or refute causal relationships for many adverse effects, VAERS is an important tool to be considered because it may highlight the red flags about vaccines [21].

Several MS cases have been reported around the time of vaccination, notably with hepatitis B [12, 13, 22]. The possible mechanisms involved include molecular mimicry between proteins of hepatitis B virus and myelin, the general immune stimulation by antigens or even toxic contaminants of the vaccine [22]. Among the myelin antigens, the major target of multiple sclerosis (MS) and experimental autoimmune encephalomyelitis (EAE) is the myelin basic protein (MBP). The humoral immunity against myelin oligodendrocyte glycoprotein (MOG) is related to myelin damage. The MBP and MOG share homologies with the antigen of hepatitis B, HBsAg. Using synthesized peptides that mimic MBP and MOG, Bogdanos et al. studied 234 serum samples and identified double reactivity between HBsAg and MOG after hepatitis B immunization. At 3 months postvaccination reactivity to at least one of the MOG mimics was present in 53% of the cases. The data suggest that HBsAg share important homologies with myelin antigens and that the antiviral response can induce cross-reactive anti-self immune responses that reduce after time. The author indicates that the tolerance mechanisms may be responsible for this decrease [23]. The number of cases reported following immunization against yellow fever is considerably lower compared to hepatitis B. However, among autoimmune events reported following yellow fever vaccine, myelin is the target in more than 80% of the cases described. Therefore, it is plausible that the mechanisms suggested for hepatitis B may also apply to the yellow fever vaccine.

In evaluating the studies, some limitations should be considered. Some studies have reported the specific type of yellow fever vaccine. However, since 1937, the 17D vaccine has been used. This can be derived from two different 17D substrains, DD-17 and D-17 204, which differ by the number of passages in murine tissues and chickens [8]. Despite the existence of two subtypes of the vaccine in addition to the original 17D vaccine, the absence of this information does not invalidate the studies presented.

The type of surveillance used in our study, often passive, underestimates the actual number of cases. Furthermore,

different countries have different ways of collecting data and different methods of diagnosis, which may affect the outcome. In some cases included in this series of cases, there was no detailed information on the diagnostic procedures performed or the possible exclusion of other differential diagnoses.

The time between the onset of symptoms and the immunization can also interfere with the data analysis. Most of the studies regarding adverse events related to yellow fever vaccine consider a 30-day period for analysis. Autoimmune events may occur over periods longer than 30 days and are not considered related to the vaccine. The development of autoimmune events and autoimmune diseases is rare. Because they are nonspecific, they can be very difficult to be diagnosed. Thus, it is possible that there is a subnotification. On the other hand, symptoms caused by other variables, such as other virus infections or bad alimentation, must be interpreted as 17D adverse events if they occur within 30 days.

Many studies included in this series of cases describe adverse events after administering more than one vaccine at a time. In this situation, it is not possible to attribute the adverse effects solely to the vaccine against yellow fever. The case of multiple evanescent white dot syndrome (MEWDS) described by Stangos et al. occurred after simultaneous vaccination against hepatitis A and yellow fever [18]. However, a case of MEWDS has been reported by Fine in a male patient of 30 years, 13 days before vaccination against hepatitis A alone [24]. Thus, there is no way to exclude the participation of any of the vaccines. The disease may have developed by chance or was caused by one or both vaccines. Perumalswami and colleagues also describe autoimmune hepatitis in this case after simultaneous vaccination against hepatitis A and yellow fever [16].

There is no description of synergism between vaccines in the induction or promotion of self-reactive events. Vaccination against multiple agents has been reported to be well tolerated but should be avoided in those more susceptible to autoimmune events (e.g., those with a family history or previous occurrence of other autoimmune diseases) [16].

Exacerbation of preexisting autoimmune diseases was not identified in this series of cases. Our group identified 70 patients with rheumatic diseases who were inadvertently vaccinated against yellow fever [25]. In this study, only mild adverse effects were observed (mild skin rash, headache, myalgia, and transient elevation of liver enzymes) at a frequency similar to that reported in the population without a diagnosis of autoimmune diseases. Among patients evaluated by Mota et al., there were cases of rheumatoid arthritis, systemic lupus erythematosus, systemic sclerosis, and spondyloarthritis, and no cases of reactivation or flare of the underlying disease in the immediate period after the yellow fever vaccination were observed. The lack of studies evaluating the activity of autoimmune diseases is due to the inability to perform controlled studies due to increased risk of YEL-AVD in this group of individuals. Because the vaccine is made from the live virus, it is contraindicated in immunocompromised individuals [8, 9, 26].

The use of adjuvants in vaccines was also related to the appearance of autoantibodies and constitutional symptoms [27, 28]. The antiphospholipid syndrome can be induced by tetanus vaccine in murines [29]. Anticardiolipin autoantibodies can be elevated after influenza immunization in patients with lupus [30]. The adjuvant's use in the manufacture of vaccines increases the immune response and its duration against the antigen, promoting physical protection against the pathogen and facilitating its translocation to lymph nodes [27]. In 2001, Schoenfeld and Agmon-Levin described a syndrome known as autoimmune/inflammatory syndrome induced by adjuvants (ASIA). This syndrome includes 4 conditions with common features and exposure to a component with adjuvant effect: macrophagic myofasciitis syndrome, Gulf War syndrome, Siliconosis, and the adjuvant disease. Some criteria were suggested. The major criteria are exposure to an external stimuli, typical clinical manifestations (myalgia, myositis, muscle weakness, arthralgia/arthritis, chronic fatigue, sleep disturbances, neurological manifestations, cognitive impairment, memory loss, and pyrexia), improvement while removing the agent, and typical biopsy. The minor criteria are the appearance of antibodies or autoantibodies related to the suspected adjuvant, other clinical manifestations, specific HLA, and involvement of autoimmune disease [27]. The syndrome is very rare although the exposure to antigens is very common, which suggests other risk factors such as genetic features or coexposure [31].

Although the 17D yellow fever vaccine has its limitations, such as the risk for immunocompromised persons, it is the safest and most effective arboviral vaccine [32]. The development of an inactivated vaccine would be a solution for the immunosuppressed ones. The virus inactivation made by pressure could reduce the use of external agents. Thus, the yellow fever vaccine could be more secure [32]. However, killed vaccines may have disadvantages as risk of incomplete inactivation, change in immunogenic properties of the virus, and the use of multiple doses [32, 33].

Among the abstracts selected for reading, there was greater interest in the occurrence of YEL-AVD; 27 cases were identified in all. It is believed that the occurrence of serious adverse effects is related to the host. Therefore, it is possible that autoimmune phenomena may be related to host characteristics as well [34, 35].

5. Conclusion

Although we have to consider the limitations of the data presented, due to the scarcity of information on the subject and quality of available studies, this is the first systematic review to evaluate events specifically related to autoimmunity developing after vaccination against yellow fever.

While it is plausible to consider the possibility of autoimmune events after yellow fever vaccine, considering the massive coverage in endemic regions, a systematic review of the literature reveals that there are few reports of such autoimmunity. The data set found may suggest that the increase in risk of autoimmunity when the yellow fever vaccine is applied is unlikely.

Abbreviations

WHO:	World Health Organization
YEL-AVD:	Yellow fever vaccine associated viscerotropic disease
YEL-AND:	Yellow fever vaccine associated neurotropic disease
ADEM:	Acute disseminated encephalomyelitis
MEWDS:	Multiple evanescent white dot syndrome
GBS:	Guillain-Barré syndrome.

Conflict of Interests

The authors declare that there is no conflict of interests regarding the publication of this paper.

References

- [1] C. L. Gardner and K. D. Ryman, "Yellow fever: a reemerging threat," *Clinics in Laboratory Medicine*, vol. 30, no. 1, pp. 237–260, 2010.
- [2] P. F. Vasconcelos, "Yellow fever," *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, vol. 36, no. 2, pp. 275–293, 2003.
- [3] J. E. Staples and T. P. Monath, "Yellow fever: 100 Years of discovery," *Journal of the American Medical Association*, vol. 300, no. 8, pp. 960–962, 2008.
- [4] W. H. Organization, Yellow fever, Fact Sheet no. 100, 2011, <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs100/en/>.
- [5] A. C. Lopes, *Tratado de Clínica Médica*, 2nd edition, 2009.
- [6] C. Domingo and M. Niedrig, "Safety of 17D derived yellow fever vaccines," *Expert Opinion on Drug Safety*, vol. 8, no. 2, pp. 211–221, 2009.
- [7] E. D. Barnett, "Yellow fever: epidemiology and prevention," *Clinical Infectious Diseases*, vol. 44, no. 6, pp. 850–856, 2007.
- [8] A. D. Barrett and D. E. Teuwen, "Yellow fever vaccine—how does it work and why do rare cases of serious adverse events take place?" *Current Opinion in Immunology*, vol. 21, no. 3, pp. 308–313, 2009.
- [9] E. B. Hayes, "Is it time for a new yellow fever vaccine?" *Vaccine*, vol. 28, no. 51, pp. 8073–8076, 2010.
- [10] M. P. Grobusch, A. Goorhuis, R. W. Wieten et al., "Yellow fever revaccination guidelines change—a decision too feverish?" *Clinical Microbiology and Infection*, vol. 19, no. 10, pp. 885–886, 2013.
- [11] A. W. McMahon, R. B. Eidex, A. A. Marfin et al., "Neurologic disease associated with 17D-204 yellow fever vaccination: a report of 15 cases," *Vaccine*, vol. 25, no. 10, pp. 1727–1734, 2007.
- [12] M. Tishler and Y. Shoenfeld, "Vaccination may be associated with autoimmune diseases," *The Israel Medical Association Journal*, vol. 6, no. 7, pp. 430–432, 2004.
- [13] H. Orbach, N. Agmon-Levin, and G. Zandman-Goddard, "Vaccines and autoimmune diseases of the adult," *Discovery Medicine*, vol. 9, no. 45, pp. 90–97, 2010.
- [14] P. Santaguida and P. Raina, "McMaster Quality Assessment Scale of Harms (McHarm) for primary studies," <http://hiru.mcmaster.ca/epc/mcharm.pdf>.
- [15] H. Miller, W. Cendrowski, and K. Shapira, "Multiple sclerosis and vaccination," *British Medical Journal*, vol. 2, no. 546, pp. 210–213, 1967.
- [16] P. Perumalswami, L. Peng, and J. A. Odin, "Vaccination as a triggering event for autoimmune hepatitis," *Seminars in Liver Disease*, vol. 29, no. 3, pp. 331–334, 2009.
- [17] D. Schmöeller, M. W. Keiserman, H. L. Staub, F. P. Velho, and M. De Fátima Grobe, "Yellow fever vaccination and kawasaki disease," *Pediatric Infectious Disease Journal*, vol. 28, no. 11, pp. 1037–1038, 2009.
- [18] A. Stangos, M. Zaninetti, I. Petropoulos, E. Baglivo, and C. Pournaras, "Multiple evanescent white dot syndrome following simultaneous hepatitis-A and yellow fever vaccination," *Ocular Immunology and Inflammation*, vol. 14, no. 5, pp. 301–304, 2006.
- [19] C. Vital, A. Vital, G. Gbikpi-Benissan et al., "Postvaccinal inflammatory neuropathy: peripheral nerve biopsy in 3 cases," *Journal of the Peripheral Nervous System*, vol. 7, no. 3, pp. 163–167, 2002.
- [20] C. Merlo, R. Steffen, T. Landis, T. Tsai, and N. Karabatsos, "Possible association of encephalitis and 17D yellow fever vaccination in a 29-year-old traveller," *Vaccine*, vol. 11, no. 6, p. 691, 1993.
- [21] A. M. Loughlin, C. D. Marchant, W. Adams et al., "Causality assessment of adverse events reported to the vaccine adverse event reporting system (VAERS)," *Vaccine*, vol. 30, no. 50, pp. 7253–7259, 2012.
- [22] O. Gout, "Vaccinations and multiple sclerosis," *Neurological Sciences*, vol. 22, no. 2, pp. 151–154, 2001.
- [23] D. P. Bogdanos, H. Smith, Y. Ma, H. Baum, G. Mieli-Vergani, and D. Vergani, "A study of molecular mimicry and immunological cross-reactivity between hepatitis B surface antigen and myelin mimics," *Clinical and Developmental Immunology*, vol. 12, no. 3, pp. 217–224, 2005.
- [24] L. Fine, A. Fine, and E. T. Cunningham Jr., "Multiple evanescent white dot syndrome following hepatitis A vaccination," *Archives of Ophthalmology*, vol. 119, no. 12, pp. 1856–1858, 2001.
- [25] L. M. Mota, A. C. V. Oliveira, R. A. C. Lima, L. L. Dos Santos-Neto, and P. L. Tauil, "Vaccination against yellow fever among patients on immunosuppressors with diagnoses of rheumatic diseases," *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, vol. 42, no. 1, pp. 23–27, 2009.
- [26] M. Löbermann, D. Boršo, I. Hilgendorf, C. Fritzsche, U. K. Zettl, and E. C. Reisinger, "Immunization in the adult immunocompromised host," *Autoimmunity Reviews*, vol. 11, no. 3, pp. 212–218, 2012.
- [27] Y. Shoenfeld and N. Agmon-Levin, "ASIA"—autoimmune/inflammatory syndrome induced by adjuvants," *Journal of Autoimmunity*, vol. 36, no. 1, pp. 4–8, 2011.
- [28] A. Lerner, "Aluminum as an adjuvant in Crohn's disease induction," *Lupus*, vol. 21, no. 2, pp. 231–238, 2012.
- [29] L. Dimitrijević, I. Živković, M. Stojanović, V. Petrušić, and S. Živančević-Simonović, "Vaccine model of antiphospholipid syndrome induced by tetanus vaccine," *Lupus*, vol. 21, no. 2, pp. 195–202, 2012.
- [30] E. S. Vista, S. R. Crowe, L. F. Thompson et al., "Influenza vaccination can induce new-onset anticardiolipins but not β 2-glycoprotein-I antibodies among patients with systemic lupus erythematosus," *Lupus*, vol. 21, no. 2, pp. 168–174, 2012.
- [31] N. Agmon-Levin, G. Hughes, and Y. Shoenfeld, "The spectrum of ASIA: 'autoimmune (auto-inflammatory) syndrome induced by adjuvants,'" *Lupus*, vol. 21, no. 2, pp. 118–120, 2012.
- [32] L. P. Gaspar, Y. S. Mendes, A. M. Y. Yamamura et al., "Pressure-inactivated yellow fever 17DD virus: implications for vaccine development," *Journal of Virological Methods*, vol. 150, no. 1–2, pp. 57–62, 2008.

- [33] T. P. Monath, E. Fowler, C. T. Johnson et al., "An inactivated cell-culture vaccine against yellow fever," *The New England Journal of Medicine*, vol. 364, no. 14, pp. 1326–1333, 2011.
- [34] M. L. Silva, L. R. Espírito-Santo, M. A. Martins et al., "Clinical and immunological insights on severe, adverse neurotropic and viscerotropic disease following 17D yellow fever vaccination," *Clinical and Vaccine Immunology*, vol. 17, no. 1, pp. 118–126, 2010.
- [35] C. Vellozzi, T. Mitchell, E. Miller et al., "Yellow fever vaccine-associated viscerotropic disease (YEL-AVD) and corticosteroid therapy: eleven United States cases, 1996–2004," *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, vol. 75, no. 2, pp. 333–336, 2006.