

Ana Teresa Oliveira e Costa de Almeida Trindade

Vacinas intranasais para a gripe

Monografia realizada no âmbito da unidade de Estágio Curricular do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas, orientada pela Professora Doutora Olga Maria Fernandes Borges Ribeiro e apresentada à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra

Setembro 2016



UNIVERSIDADE DE COIMBRA

Ana Teresa Oliveira e Costa de Almeida Trindade

Vacinas intranasais para a gripe

Monografia realizada no âmbito da unidade de Estágio Curricular do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas,
orientada pela Professora Doutora Olga Maria Fernandes Borges Ribeiro e apresentada à
Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra

Setembro 2016



UNIVERSIDADE DE COIMBRA

Eu, Ana Teresa Oliveira e Costa de Almeida Trindade, estudante do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas, com o nº 2011149633, declaro assumir toda a responsabilidade pelo conteúdo da Monografia apresentada à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, no âmbito da unidade de Estágio Curricular.

Mais declaro que este é um trabalho original e que toda e qualquer afirmação ou expressão, por mim utilizada, está referenciada na Bibliografia desta Monografia, segundo os critérios bibliográficos legalmente estabelecidos, salvaguardando sempre os Direitos de Autor, à exceção das minhas opiniões pessoais.

Coimbra, 15 de setembro de 2016.

(Ana Teresa Trindade)

Agradecimentos

À Professora Doutora Olga Borges pela orientação e constante disponibilidade,
À Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra pelo ensino proporcionado ao longo
destes cinco anos,

À minha família pelo apoio que sempre me deu e pela paciência demonstrada,
Aos meus amigos, que estiveram ao meu lado durante esta fase e que me ajudaram nos
momentos mais difíceis.

A todos, o meu sincero obrigado.

ÍNDICE

Resumo

Abstract

Abreviaturas

1. Introdução	1
2. O Vírus Influenza	2
2.1. Variações Antigénicas	3
3. Vacinação contra o vírus influenza	4
4. Processo de Produção de Vacinas vivas atenuadas	6
5. Imunização através das mucosas	7
5.1. Infecção Natural	7
5.2. Resposta imune induzida pelas vacinas.....	8
5.2.1. Memória Imunológica	9
5.2.2. Proteção cruzada	10
6. Indicações	11
6.1. Vacinas Intranasais Vivas Atenuadas Quadrivalentes	11
7. Segurança	12
7.1. Contraindicações	12
7.2. Interações	13
7.3. Eventos Adversos	13
8. Vantagens das Vacinas Intranasais Vivas Atenuadas Quadrivalentes	15
8.1. Potencial para auto-administração	15
9. Eficácia e efetividade das vacinas intranasais vivas atenuadas	16
9.1. Vacinas Intranasais Vivas Atenuadas vs Vacinas parenterais inativadas.....	17
9.2. Revacinação	18
9.3. Impacto da distribuição e manipulação das vacinas na sua efetividade	19
9.4. Baixa efetividade a partir de 2009	20
10. Conclusão	21
11. Referências Bibliográficas	22

RESUMO

O vírus Influenza é responsável por inúmeras hospitalizações, mortes e gastos no setor da saúde todos os anos. Atualmente, a vacinação constitui a principal medida de prevenção da gripe. As vacinas intranasais vivas atenuadas (LAIV) induzem a resposta imune que mais se assemelha à resposta resultante de uma infecção natural pelo vírus Influenza, suscitando uma melhor resposta imune local, com a produção de IgA nas vias aéreas superiores, neutralizando o vírus no seu local de entrada no organismo, evitando a manifestação e disseminação da infecção. As LAIV estão indicadas para crianças e adolescentes dos 2 aos 18 anos na Europa, e dos 2 aos 49 anos de idade nos Estados Unidos da América. No entanto, por se tratar de uma vacina viva atenuada, apresentam algumas contraindicações, nomeadamente para crianças com menos de 24 meses, indivíduos com asma e sibilos, gestantes e lactantes, população idosa e grupos em risco de desenvolver doença grave. Comparativamente com as vacinas inativadas parenterais (IIV), as vacinas intranasais apresentam vantagens tanto na administração como em termos de eficácia e efetividade. No entanto, a eficácia desta vacina é controversa uma vez que existem dados recentes que demonstram a baixa efetividade destas vacinas nos Estados Unidos da América (EUA). Nesta monografia descrevem-se as vacinas vivas atenuadas de administração intranasal, abordando as vantagens da imunização através das mucosas, as preparações existentes no mercado bem como as suas indicações, segurança, eficácia e efetividade. Deste modo tenta-se demonstrar as suas vantagens relativamente às IIV e apresentar propostas de melhoria para futuras vacinas.

Palavras-chave: Influenza; vacinas; intranasal; vírus vivos atenuados.

ABSTRACT

The Influenza virus is responsible for numerous hospitalizations, deaths and costs in the health sector every year. Currently vaccination is the major method for preventing Influenza. Live attenuated intranasal vaccines (LAIV) induce an immune response that most closely resembles to a natural infection response by the Influenza virus, creating a better local immune response with the production of IgA in the upper airway, neutralizing the virus in its entry site in the body, preventing the expression and dissemination of the infection. LAIV is recommended for children and adolescents from 2 to 18 years old in Europe and from 2 to 49 years old in the United States of America. However, because it is a live attenuated vaccine, it has some contraindications, particularly for children under 24 months, people with asthma and wheezing, pregnant and lactating women, elderly people and groups at risk of developing severe disease. Compared to the inactivated Influenza vaccines (IIV), intranasal vaccines have advantages in the administration and in terms of efficiency and effectiveness. Although, the efficacy of this vaccine is controversial due to recent data showing their poor efficacy in the United States of America. This work aims to describe the live attenuated intranasal vaccine, addressing the benefits of mucosal immunization, existing preparations in the market as well as its indications, safety, efficacy and effectiveness. In this way, the demonstration of its advantages over IIV and proposals of improvement for future vaccines are presented.

Key-words: Influenza; vaccines; intranasal; live attenuated virus.

ABREVIATURAS

AcHI	Anticorpos de Inibição da Hemaglutinação
ACIP	<i>Advisory Committee on Immunization Practices</i>
AIM	<i>Autorização de Introdução no Mercado</i>
ARDS	<i>Accute Respiratory Distress Syndrome</i>
B _v	B/Victoria-like
B _y	B/Yamagata-like
CD4/8	<i>Cluster of Differentiation 4/8</i>
DGS	Direção Geral da Saúde
EMA	<i>European Medicines Agency</i>
EUA	Estados Unidos da América
FDA	<i>Food and Drug Administration</i>
HA	Hemaglutinina
HAI	<i>Hemagglutination Inhibition</i>
IIV	<i>Inactivated Influenza Vaccine</i>
IgA,G,E	Imunoglobulina A, G, E
IL	Interleucina
LAIV	<i>Live Attenuated Influenza Vaccine</i>
MDV	<i>Master Donor Virus</i>
MN	Microneutralização
MVS	<i>Master Virus Seeds</i>
NA	Neuraminidase
NK	<i>Natural Killer</i>
OMS	Organização Mundial de Saúde
Q/LAIV	<i>Quadrivalent Live Attenuated Influenza Vaccine</i>
RNA	<i>Ribonucleic acid</i>
sIgA	Imunoglobulina A Secretória
SNS	Serviço Nacional de Saúde
SPF	<i>Specific Pathogen-free</i>
TNF	<i>Tumor necrosis factor</i>
(-)ssRNA	<i>Negative-sense single-stranded RNA</i>

I. INTRODUÇÃO

A gripe é uma doença respiratória aguda contagiosa provocada pela infecção primária causada pelo vírus Influenza. A transmissão desta patologia realiza-se através da inalação de vírus infecciosos que se depositam no muco que recobre o trato respiratório, induzindo respostas imunes localizadas e sistémicas. Esta doença tem um período de incubação curto (1 a 4 dias) e é caracterizada por um início abrupto dos sintomas que resultam da lesão das células epiteliais do trato respiratório. O pico de excreção viral é habitualmente no segundo dia de sintomas e são as crianças quem excreta a maior quantidade de vírus, constituindo assim um grande risco de transmissão do vírus pela comunidade (EMA, 2013; Tamura *et al.*, 2016).

Os sintomas da gripe incluem febre elevada, arrepios e sensação de frio, dores musculares e articulares, cefaleias, prostração, anorexia, tosse seca não produtiva e obstrução nasal. Na maioria dos adultos os sintomas persistem durante 3 a 5 dias, com evolução favorável para a cura em menos de uma semana, sendo normalmente auto-limitante. O tempo de recuperação depende da severidade dos sintomas e, por sua vez, a severidade da doença depende de uma variedade de fatores virais como a estirpe, virulência e local de infecção, fatores intrínsecos ao hospedeiro como imunidade pré-existente, predisposição genética, condições subjacentes, idade e sexo e outros fatores como acesso a cuidados de saúde e terapia antiviral (Collier e Oxford, 2000; Tamura *et al.*, 2016).

O vírus Influenza é responsável todos os anos por inúmeras hospitalizações, mortes e despesas em saúde (Schotsaert e García-Sastre, 2014). A morbilidade ($\approx 5\%$ a 20%) pode ser substancial especialmente nos grupos de risco acrescido de complicações enquanto que a mortalidade ($\approx 0,1\%$ a 1%) ocorre principalmente em indivíduos com idade superior a 65 anos (Gerlier *et al.*, 2016; Tamura *et al.*, 2016). Deste modo, a prevenção constitui uma medida de extrema importância para reduzir a probabilidade de infecção e transmissão da gripe.

A vacinação constitui a principal medida de prevenção da gripe. O farmacêutico desempenha um papel fundamental, tanto no desenvolvimento de novas formulações como no aconselhamento, dispensa e administração das vacinas.

As vacinas intranasais para a gripe são um tema de grande interesse, pois são consideradas uma nova estratégia de vacinação que possui um papel importante na adesão à terapêutica e melhoria da qualidade de vida da população.

2. O VÍRUS INFLUENZA

O vírus Influenza pertence à família *Orthomyxoviridae* e está classificado em três tipos A, B e C que diferem na sua epidemiologia, patogenicidade, antigenicidade e organização do genoma. O tipo A é o mais preocupante, provoca epidemias e pandemias podendo ser encontrado numa grande variedade de aves e mamíferos. O tipo B é um agente patogénico predominantemente humano, apenas responsável por epidemias de gripe sazonal, provocando sintomas habitualmente menos graves. O vírus Influenza do tipo C apenas infeta o Homem, sendo a ele atribuído uma doença suave ou assintomática, com um impacto mínimo na Saúde Pública (Collier e Oxford, 2000; Sridhar, Brokstad e Cox, 2015; Tamura et al., 2016).

O vírus Influenza A tem um genoma (-)ssRNA segmentado, é um vírus envelopado com uma cápside helicoidal. A nucleocápside é constituída por uma nucleoproteína e por oito segmentos diferentes de RNA, cada um com uma polimerase viral RNA dependente. Por sua vez, o envelope é constituído pela membrana citoplasmática da célula hospedeira, pela proteína da matriz (M1 e M2 no vírus influenza A) e por espículas de neuraminidase (NA) e hemaglutinina (HA). A proteína da matriz M2 funciona como canal iónico, indispensável à replicação do vírus (Collier e Oxford, 2000; Sridhar et al., 2015).

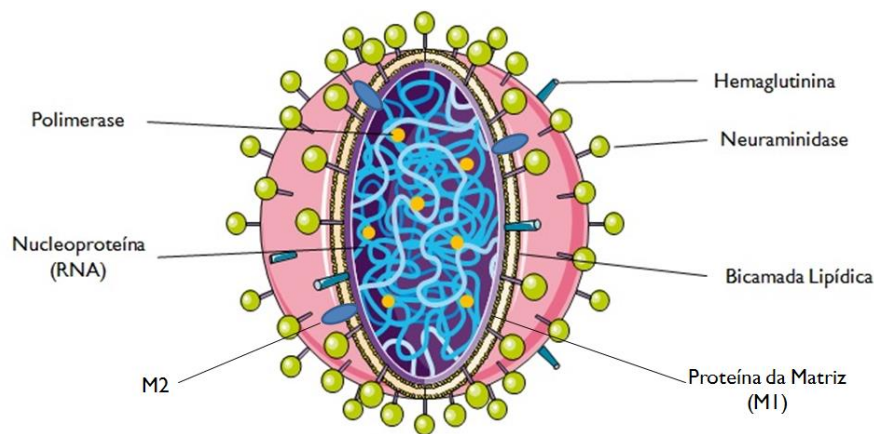


Figura I. Estrutura do vírus Influenza A. (Adaptado de Wagner e Hewlett, 2004)

Os vírus Influenza A que circulam nos humanos estão subdivididos em vários subtipos baseados em diferenças nas moléculas HA e NA. Estas glicoproteínas de superfície permitem a fixação, entrada e saída do vírus das células infetadas. Os vírus Influenza B são classificados em duas linhagens: B/Yamagata-like (B_Y) e B/Victoria-like (B_V) (Tamura et al., 2016).

A HA funciona como ponto de ligação ao ácido siálico; liga-se aos recetores na superfície das células hospedeiras, que contêm ácido siálico, permitindo a fixação do vírus às células. Esta proteína tem duas subunidades (HA1 e HA2) unidas por pontes dissulfureto: a HA1 contém locais de ligação aos recetores celulares e a HA2 é responsável pela fusão do envelope viral à membrana celular. Para que a HA seja infecciosa é necessária uma clivagem das duas subunidades, esta clivagem é realizada por proteases celulares (Collier e Oxford, 2000).

A NA é uma enzima hidrolítica (sialidase) que cliva as ligações HA - ácido siálico entre os viriões recém-formados e os recetores das células hospedeiras, promovendo a libertação do vírus e a eficiente propagação de célula para célula (Collier e Oxford, 2000; Sridhar *et al.*, 2015).

2.1. VARIAÇÕES ANTIGÉNICAS

Os vírus Influenza A são geneticamente instáveis e apresentam elevadas taxas de mutação, levando à formação de vários subtipos de vírus baseados em diferenças antigénicas das glicoproteínas de superfície HA e NA. Existem dois tipos de variações antigénicas: as variações antigénicas menores ou *drift* que surgem nos vírus Influenza A e B e as variações antigénicas maiores ou *shift* que ocorrem apenas no vírus Influenza A (Sridhar *et al.*, 2015; Wagner e Hewlett, 2004).

As variações antigénicas *drift* resultam da acumulação de mutações pontuais nos genes HA e NA levando a uma alteração gradual da antigenicidade. Este tipo de variações representa a adaptação do vírus ao desenvolvimento de anticorpos por parte do hospedeiro. Estas variações antigénicas menores ocorrem de forma contínua ao longo do tempo, causam uma evolução gradual do vírus, originando novas estirpes dentro do mesmo subtipo. Estas novas estirpes podem ser pouco sensíveis aos anticorpos específicos para as estirpes até aí dominantes, sendo desta forma responsáveis pelas epidemias sazonais de gripe (Sridhar *et al.*, 2015; Wagner e Hewlett, 2004).

Em intervalos imprevisíveis, diferentes subtipos de vírus Influenza A podem sofrer recombinação génica entre vírus animais ou entre vírus humanos e animais, que co-infetam a mesma célula do hospedeiro e dar origem a novos subtipos de vírus com um novo perfil antigénico, variações antigénicas *shift*, capazes de causar pandemias na população imunologicamente *naïve*. O novo vírus tem de ser capaz de se transmitir eficazmente pessoa a pessoa para causar uma pandemia (Sridhar *et al.*, 2015; Wagner e Hewlett, 2004).

As variações antigénicas *shift* são menos frequentes que as *drift* mas têm um maior impacto. As variações antigénicas *drift* podem estar na origem da diminuição da eficácia das vacinas utilizadas, uma vez que a proteção conferida por estas está relacionada com os anticorpos neutralizantes produzidos direcionados para a HA. Com a acumulação de mutações pontuais nos genes HA, os vírus conseguem escapar aos anticorpos induzidos pelas infeções naturais ou vacinações anteriores, verificando-se assim, uma menor eficácia das vacinas (Sridhar *et al.*, 2015; Wagner e Hewlett, 2004).

3. VACINAÇÃO CONTRA O VÍRUS INFLUENZA

O isolamento do vírus Influenza, em 1933, levou ao desenvolvimento da vacina contra a gripe (Tamura *et al.*, 2016).

Em 1942, foi produzida uma vacina bivalente, após a descoberta do vírus Influenza B e em 1945 foram autorizadas as primeiras vacinas nos EUA, que consistiam em preparações parenterais de vírus inativados (Hannoun, 2013). Estas vacinas foram melhoradas, em 1960, para minimizar a sua reatogenicidade, passando de viriões inteiros inativados a viriões fragmentados, utilizados atualmente (Tamura *et al.*, 2016).

As vacinas vivas atenuadas intranasais foram preparadas inicialmente nos anos 60, contudo, só foram aprovadas na Rússia nos anos 80, nos Estados Unidos da América (EUA) em 2003 e na Europa em 2011 (*European Medicines Agency - Fluenz*; Tamura *et al.*, 2016).

As primeiras vacinas eram bivalentes (H1N1 + B) e mais tarde a descoberta das variações antigénicas *drift* levou à imunização anual com vacinas derivadas de estirpes circulantes de forma a prevenir epidemias (Schotsaert e García-Sastre, 2014; Tamura *et al.*, 2016). A Organização Mundial de Saúde (OMS) emite, desde 1973, recomendações anuais para a composição da vacina, para o hemisfério norte e sul. Estas recomendações são baseadas em resultados de sistemas de vigilância que identificam as estirpes circulantes atuais, facilitando e otimizando a produção de vacinas anualmente (Hannoun, 2013).

A primeira vacina trivalente, que incluía duas estirpes de Influenza A (H1N1 + H3N2) e uma B, foi introduzida em 1978 (Hannoun, 2013). Porém, o facto de existirem duas estirpes de Influenza B em circulação e apenas uma ser selecionada anualmente para inclusão na vacina trivalente leva a que esta nem sempre coincida com a estirpe circulante predominante (EMA, 2013; Tamura *et al.*, 2016).

Deste modo, em 2014, a vacina quadrivalente foi desenvolvida de forma a incluir duas estirpes A (H1N1 + H3N2) e duas estirpes B (B_y + B_v) (EMA, 2013; Tamura *et al.*, 2016).

Hoje em dia são usados mundialmente dois tipos de vacinas contra o vírus Influenza (Ilyushina *et al.*, 2015; Tamura *et al.*, 2016):

- Vacinas parenterais inativadas (IIV);
- Vacinas intranasais vivas atenuadas (LAIV).

Um bom candidato para LAIV deve ter uma baixa probabilidade de reverter para a forma virulenta do vírus, isto é, deve ser geneticamente estável, crescer em concentrações elevadas numa cultura de células para poder ser produzida industrialmente mas ter uma replicação restrita ou deficiente no hospedeiro, conseguindo induzir a imunidade antiviral desejada (Schotsaert e García-Sastre, 2014).

Nos EUA a vacina quadrivalente intranasal aprovada pela *Food and Drug Administration* (FDA) é a FluMist Quadrivalent[®], fabricada pela MedImmune, LLC, e na Europa, aprovada pela Agência Europeia do Medicamento (EMA), a Fluenz Tetra[®], fabricada pela MedImmune, UK Limited, sendo ambas constituídas por estirpes *cold-adapted*¹ e *temperature-sensitive*² e administradas numa dose de 0,2 ml (0,1 ml por narina) (EMA, 2013; FDA, 2015).

Para a próxima época, 2016-2017, no hemisfério norte, a recomendação da OMS para a composição da vacina trivalente é:

- Vírus Influenza A/California/7/2009 (H1N1)pdm09-like;
- Vírus Influenza A/Hong Kong/4801/2014 (H3N2)-like;
- Vírus Influenza B/Brisbane/60/2008-like.

Sendo a recomendação para a vacina quadrivalente os três vírus acima descritos e o Vírus Influenza B/Phuket/3073/2013-like (WHO, 2016).

Presentemente estão a ser formuladas novas vacinas, as vacinas inativadas de administração intranasal. Estas vacinas, juntamente com um adjuvante apropriado, são capazes de induzir sIgA e IgG no trato respiratório. As sIgA induzidas são altamente *cross-reactive*, conferindo uma proteção contra vírus homólogos bem como uma proteção cruzada

¹ Replicação eficiente a 25 °C, temperatura a que muitos vírus Influenza *wild-type* não conseguem replicar.

² Replicação reduzida a 37 °C (estirpes B) e 39 °C (estirpes A), temperaturas a que muitos vírus Influenza *wild-type* crescem eficientemente.

contra vírus variantes (Tamura *et al.*, 2016). Estas vacinas intranasais inativadas apresentam algumas vantagens relativamente às LAIV, nomeadamente o facto de poderem ser usadas em grupos de alto-risco, podendo futuramente constituir uma aposta interessante para as vacinas contra a gripe (Tamura *et al.*, 2016).

Em Portugal é utilizada uma vacina trivalente injetável, gratuita no Serviço Nacional de Saúde (SNS) para determinados grupos da população. Porém, a vacina intranasal Fluenz Tetra[®], aprovada pela EMA não tem estado, até ao presente momento, a ser comercializada em Portugal.

4. PROCESSO DE PRODUÇÃO DE VACINAS VIVAS ATENUADAS

Os *Master Virus Seeds* (MVS), usados na produção das vacinas vivas atenuadas contra o vírus Influenza, são constituídos por recombinações de 6:2 (seis segmentos virais de um *Master Donor Virus* (MDV) atenuado e dois segmentos de genes que codificam os antígenos das duas glicoproteínas de superfície HA e NA, a partir de vírus Influenza *wild-type* antigenicamente relevantes) (EMA, 2013; FDA, 2015).

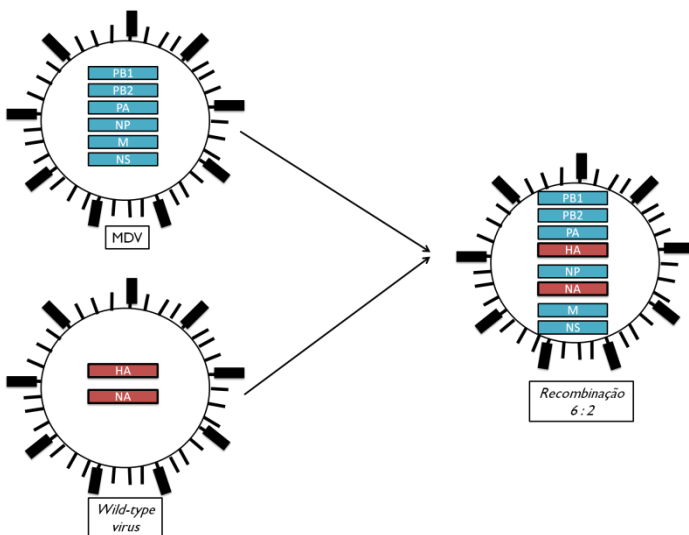


Figura 2. Produção de vacinas vivas atenuadas - processo de recombinação 6:2. Adaptado de (FDA, 2015)

Os quatro vírus contidos na vacina quadrivalente mantêm as características de replicação e as propriedades fenotípicas do MDV e as HA e NA expressas no vírus *wild-type*. Um novo MVS é produzido para cada nova estirpe da vacina recomendada pela OMS (EMA, 2013; FDA, 2015).

Cada estirpe recombinante é inoculada em ovos embrionados *pathogen-free* (SPF), sendo estes ovos depois incubados a uma temperatura entre 35 °C e 37 °C durante 48 h a 72 h, permitindo a replicação viral. O fluido alantoide dos ovos é recolhido, agrupado e posteriormente clarificado por filtração. O vírus é concentrado por ultracentrifugação e posteriormente diluído com um tampão de estabilização para obtenção das concentrações finais. As recolhas virais são depois esterilizadas por filtração (0,22 µm) para a produção de *bulks* monovalentes. Estes *bulks* monovalentes são seguidamente misturados e diluídos conforme necessário para obter a potência desejada para a produção do *bulk* quadrivalente. Posteriormente, o *bulk* quadrivalente é utilizado para o enchimento dos pulverizadores para administração nasal (EMA, 2013; FDA, 2015).

5. IMUNIZAÇÃO ATRAVÉS DAS MUCOSAS

5.1. INFEÇÃO NATURAL

Em circunstâncias normais o vírus Influenza entra no organismo através da mucosa do trato respiratório superior e desce até aos pulmões, onde se replica e se distribui pela corrente sanguínea (Rose, 2014).

A mucosa do trato respiratório superior do hospedeiro é simultaneamente o local de infeção viral e o local de defesa do hospedeiro, sendo a partir daí que a resposta imunológica é gerada, facilitando a recuperação e proteção contra uma re-infeção (Tamura *et al.*, 2016).

O primeiro mediador de proteção contra a infeção são os anticorpos neutralizantes que bloqueiam a ligação da HA ao seu recetor, o ácido siálico, nas células epiteliais do hospedeiro. A inibição da hemaglutinação (HAI) e a microneutralização (MN) estão relacionadas com a proteção primária contra o vírus Influenza (Sridhar *et al.*, 2015; Tamura *et al.*, 2016). HA é o antigénio indutor de proteção mais poderoso expresso pelo vírus Influenza (Tamura *et al.*, 2016).

No trato respiratório superior os principais elementos protetores contra uma infeção pelo vírus Influenza são imunoglobulinas secretórias A (sIgA) e a imunoglobulina G (IgG), que impedem a infeção viral, atuando na HA e NA presentes na superfície do vírus. (Holmgren e Svennerholm, 2012; Rose, 2014; Tamura *et al.*, 2016).

O vírus replica quando entra nas células epiteliais do trato respiratório, destruindo o epitélio e por vezes pneumócitos. Durante os estágios iniciais da doença, vários

componentes do sistema imune inato, incluindo células epiteliais, macrófagos, células dendríticas, células *Natural Killer* (NK), várias citocinas (interferões do tipo I, interleucinas-I (IL-1), fatores de necrose tumoral (TNF) e IL-6) e o complemento desempenham um papel importante na eliminação do vírus do trato respiratório (Tamura *et al.*, 2016).

Depois dos agentes patogênicos entrarem nas células, as sIgA da mucosa medeiam a opsonização e fagocitose. Células B e T, presentes em folículos associados à mucosa, são ativadas e diferenciadas em células efectoras. Estas células efectoras migram para zonas da mucosa de tecido linfóide não organizado, espalhado ao longo da lâmina própria. Aí, os linfócitos T citotóxicos destroem as células infetadas ao mesmo tempo que as células B se transformam em células plasmáticas, produzindo IgA, constituindo a maior parte dos anticorpos da mucosa (Rose, 2014). As células T citotóxicas, específicas para proteínas virais internas, inibem a replicação viral matando células epiteliais e permitindo a recuperação após a infecção. (Tamura *et al.*, 2016).

A imunidade mediada por células, principalmente dirigida a antígenos da matriz e nucleoproteínas, facilita a remoção do vírus e a redução da severidade da doença (Holmgren e Svennerholm, 2012).

5.2. RESPOSTA IMUNE INDUZIDA PELAS VACINAS

Geralmente, a resposta imune mais forte é obtida no local de aplicação da vacina e nas mucosas adjacentes (Holmgren e Svennerholm, 2012). Deste modo, a imunização através da mucosa nasal suscita uma melhor resposta imune local, com produção de IgA nas vias aéreas superiores, neutralizando o vírus no seu local de entrada no organismo, evitando assim a manifestação e disseminação da infecção. As vacinas atuais são desenhadas para induzir anticorpos neutralizantes que impedem a ligação da HA às células epiteliais do hospedeiro (Sridhar *et al.*, 2015).

Para além disto, é também estimulada a passagem de anticorpos séricos, nomeadamente IgG, para a mucosa (fenómeno de *transudation*). Porém, com as vacinas de administração intranasal é esperado que sejam produzidas menores concentrações de anticorpos séricos do que com as vacinas injetáveis (Ambrose *et al.*, 2012; Holmgren e Svennerholm, 2012; Rose, 2014; Schotsaert e García-Sastre, 2014) e deste modo a quantidade de IgG que passa para a mucosa é sempre baixa.

As LAIV induzem a resposta imune que mais se assemelha à resposta imune natural (Holmgren e Svennerholm, 2012; Zheng, Yi e Chen, 2012). Uma infecção natural, e por sua vez as LAIV, são capazes de induzir uma resposta imune local e sistêmica multifacetada, com a indução de IgG séricas, anticorpos neutralizantes e anticorpos contra a NA, IgA locais e células T secretoras de citocinas antigénio-específicas, o que permite conferir proteção contra infecções posteriores de estirpes semelhantes. (Sridhar *et al.*, 2015; Tamura *et al.*, 2016).

A tabela seguinte sintetiza as principais diferenças imunológicas entre as vacinas inativadas e vivas atenuadas.

Tabela I. Comparação da resposta imune entre vacinas inativadas e vivas atenuadas contra o vírus Influenza (Adaptado de Sridhar *et al.*, 2015).

	Resposta HAI	Células secretoras de anticorpos	Células B de memória	IgA nasais	Anticorpos contra a NA	Células T CD4	Células T CD8	Proteção cruzada
IIV	+++	++	+	-/+	-/+	++	-	-/+
LAIV	+	+	+	+++	++	+++	+?	++

5.2.1. MEMÓRIA IMUNOLÓGICA

É importante realçar que, para além da indução de anticorpos séricos, o grande objetivo da vacinação é a geração de uma memória imunológica efetiva para proteção a longo prazo, uma vez que uma imunidade efetiva contra o vírus Influenza depende, não só da indução de respostas imunes pelas células B, mas também por células T de memória (Petukhova *et al.*, 2012).

A vacinação anual, através de vacinas intranasais, é capaz de estimular a resposta de células B de memória através do aumento da avidéz da sIgA nas vias respiratórias superiores, região onde ocorre o primeiro contacto com o vírus. As células B de memória presentes na mucosa nasal têm grande interesse, na medida em que constituem a barreira imunológica primária contra a infecção pelo vírus Influenza (Petukhova *et al.*, 2012).

Os anticorpos e as células B de memória pré-existentes fornecem proteção contra uma re-infecção com vírus homólogos ou variantes, reduzindo a morbidade e mortalidade

derivadas de uma infeção com uma estirpe variante (Tamura *et al.*, 2016). Estas células de memória são geradas em conjunto com anticorpos específicos e células T efectoras a partir de células T *naïve* CD4⁺ ou CD8⁺ e células B *naïve* (Tamura *et al.*, 2016).

A capacidade que as células plasmáticas têm de produzir anticorpos com grande avidéz é uma das características mais importantes das células B de memória. Por conseguinte, a quantidade de células B de memória específicas para um determinado vírus pode ser estimada medindo a avidéz dos anticorpos.

Da análise de avidéz de anticorpos, realizada por Petukhova *et al* em 2012, foi possível concluir que a imunogenicidade das vacinas para o vírus Influenza depende do estado imunológico do indivíduo antes da vacinação, que varia muito dentro da população. Segundo os mesmos autores, este fator não é tido em conta na imunização massiva da população, o que significa que uma porção dos indivíduos que receberam a vacina, particularmente aqueles com um longo historial de vacinação, poderão não ser capazes de responder apropriadamente à vacina administrada. Deste modo, a avaliação das células B e T de memória é necessária para escolha de voluntários em ensaios clínicos para novas vacinas desenvolvidas ou para a apreciação do potencial epidemiológico dos vírus Influenza A candidatos a uma avaliação dos benefícios da vacina atual (Petukhova *et al.*, 2012).

5.2.2. PROTEÇÃO CRUZADA

A imunização intranasal com vírus Influenza vivos atenuados induz não só a secreção de anticorpos IgA e IgG séricos e respostas celulares bem como proteção cruzada contra vírus Influenza distintos (Zheng *et al.*, 2012).

Na imunidade natural, anticorpos sIgA *cross-reactive* são encontrados na mucosa nasal e noutras secreções externas mesmo em indivíduos adultos não imunizados. Isto é possível devido a um contacto anterior com vírus ou com uma expressão de sIgA *cross-reactive*.

Atualmente, a imunização contra o vírus Influenza sem adjuvantes dificilmente induz proteção cruzada. Porém, as IgA das mucosas são mais *cross-reactive* e fornecem alguma proteção contra variações antigénicas *drift* e *shift*.

As vacinas intranasais vivas atenuadas são eficazes mesmo contra estirpes não incluídas, fornecendo uma imunidade heteróloga, possivelmente mediada por IgA das mucosas ou linfócitos T citotóxicos (Rose, 2014).

6. INDICAÇÕES

Crianças e idosos têm um risco particularmente elevado de desenvolver doença grave após a infecção da gripe, geralmente manifestada por insuficiência respiratória, *Accute Respiratory Distress Syndorme* (ARDS) e pneumonia bacteriana secundária. Além desses grupos de risco tradicionais, asmáticos, indivíduos com doença pulmonar crônica, doença hepática, imunossuprimidos, gestantes e diabéticos são também considerados grupos-alvo de alto risco. Estes grupos são orientados para a imunização por programas de vacinação anual (Sridhar *et al.*, 2015).

Atualmente existem duas políticas de vacinação contra o vírus Influenza:

- i. Recomendação apenas para populações mais vulneráveis, com maior risco de desenvolver complicações (Gerlier *et al.*, 2016; Schotsaert e García-Sastre, 2014).
- ii. Extensão das estratégias de vacinação de forma a incluir crianças saudáveis com idades compreendidas entre os 2 e os 8 anos, como é feito na América do Norte e do Sul e em alguns países da Europa, Alemanha e Grã-Bretanha, onde o programa de vacinação pediátrica teve início em 2013 (Gerlier *et al.*, 2016; Halsey *et al.*, 2015; Sridhar *et al.*, 2015).

Como as crianças têm um papel importante na transmissão do vírus Influenza na comunidade, para além da proteção direta, a vacinação pediátrica tem como maior objetivo a redução da transmissão do vírus, reduzindo o número de casos em toda a população, incluindo nos indivíduos de maior risco, como os idosos (Gerlier *et al.*, 2016).

6.1. VACINAS INTRANASAIS VIVAS ATENUADAS QUADRIVALENTES

A Fluenz Tetra[®] apresenta um balanço risco-benefício favorável, na profilaxia da gripe, em crianças e adolescentes com idades compreendidas entre os 2 anos e os 18 anos (EMA, 2013). Enquanto que a FluMist Quadrivalent[®], indicada para imunização ativa e prevenção da gripe causada pelos subtipos de vírus Influenza A e B incluídos nela, está recomendada dos 2 aos 49 anos de idade (FDA, 2015).

Em indivíduos imunologicamente *naïves*, como por exemplo crianças com idades inferiores a 9 anos que não tenham sido vacinadas com Influenza, são recomendadas duas doses da vacina (0,2 ml por cada dose) com intervalo mínimo de 4 semanas. Em crianças entre os 2 e 8 anos que tenham sido vacinadas anteriormente, ou em crianças com idade

superior a 8 anos e adultos, é apenas recomendada uma dose da vacina, 0,1 ml por narina, no caso da FluMist Quadrivalent[®] (FDA, 2015; Sridhar *et al.*, 2015).

7. SEGURANÇA

As preocupações de segurança levantadas relativamente às LAIV incluem o aparecimento de sintomas como febres altas, infeções ou sintomas respiratórios como sibilo, aumento de hospitalizações e o seu uso em indivíduos com condições subjacentes.

7.1. CONTRAINDICAÇÕES

A LAIV quadrivalente (Q/LAIV) não é indicada para crianças com menos de 24 meses uma vez que foi verificado em ensaios clínicos, que a administração da vacina a crianças entre os 6 e 23 meses está associada a um aumento do risco de hospitalização e sibilo.

Adicionalmente, o uso desta vacina não é indicado para indivíduos com asma e sibilo, durante a gravidez ou amamentação, na medida em que, para estas populações especiais, a informação existente sobre a segurança é limitada (EMA, 2013; FDA, 2015). Também por falta de informação, a vacina não é recomendada na população idosa, em indivíduos imunocomprometidos e grupos com risco de desenvolverem doença grave (Halsey *et al.*, 2015; Sridhar *et al.*, 2015).

Para além disso, a Q/LAIV está contraindicada em asmáticos com sibilo ativo ou a fazer doses elevadas glucocorticoides inaláveis (Sridhar *et al.*, 2015). Os corticosteroides suprimem as respostas imunitárias e inflamatórias de uma forma inespecífica fazendo com que as respostas a agentes infecciosos fiquem comprometidas (Osswald e Guimarães, 2001). Deste modo, para além da eficácia da vacina poder ser reduzida, os vírus vivos atenuados contidos na preparação poderão proliferar mais do que o pretendido.

A Q/LAIV não deve ser administrada a pessoas que tenham tido uma reação adversa grave, como anafilaxia, a algum componente da vacina, incluindo proteína do ovo, ou após uma dose de qualquer vacina contra o vírus Influenza (FDA, 2015).

7.2. INTERAÇÕES

– Antivirais

A LAIV quadrivalente usada concomitantemente com a toma de antivirais reduz a efetividade da vacina. Deste modo, a vacina só deve ser administrada 48 horas após o final da terapêutica antiviral e, do mesmo modo, os agentes antivirais não devem ser administrados nas duas semanas seguintes à administração da LAIV, a não ser por indicação médica. No entanto, se agentes antivirais e LAIV forem administrados concomitantemente, a revacinação deverá ser considerada (EMA, 2013).

– Salicilatos

Embora não haja informação acerca da relação entre a LAIV e a síndrome de Reye, a administração da Q/LAIV não está indicada em crianças ou adolescentes, com idades inferiores a 17 anos, que tenham feito alguma terapia contendo aspirina ou salicilatos devido à associação da Síndrome de Reye com aspirina e infecção pelo vírus Influenza *wild-type*. (EMA, 2013; FDA, 2015).

– Vacinas inativadas

A segurança e imunogenicidade da LAIV administrada concomitantemente com vacinas inativadas ainda não foi determinada, os estudos realizados excluem indivíduos que tenham recebido alguma vacina ou subunidade inativada nas duas semanas anteriores à inscrição no ensaio. Para além disto, a administração concomitante com outras vacinas vivas também ainda não foi estudada (FDA, 2015).

7.3. EVENTOS ADVERSOS

Os principais eventos adversos reportados, para a Fluenz Tetra[®] são febre, cefaleias, rinorreia, congestão nasal, dor orofaríngea, epistaxe, dor abdominal, náuseas e sibilo. Como eventos adversos graves foram verificados casos de hipersensibilidade, aborto espontâneo e morte (EMA, 2013). Enquanto que para a FluMist Quadrivalent[®] os principais efeitos secundários reportados em crianças e adolescentes dos 2 aos 17 anos e adultos são rinorreia, congestão nasal, anorexia, letargia, garganta inflamada, cefaleias, mialgias e febre (FDA, 2015).

Estudos Realizados:

– Alergia à proteína do ovo

Turner *et al.* em 2015 avaliaram a segurança das LAIV em crianças atópicas com alergia à proteína do ovo, concluindo que a taxa de reações alérgicas atribuídas à vacina era superior às reportadas anteriormente. Estas reações foram moderadas, localizadas e auto-limitadas (Turner *et al.*, 2015).

No entanto, o nível máximo de ovalbumina permitido nas LAIV aprovadas pela EMA, 1,2 mg/ml, é aproximadamente 10 vezes inferior à quantidade responsável pelos sintomas locais de rinite alérgica. Deste modo, é pouco provável que a LAIV origine sintomas devidos a uma reação alérgica ao ovo mediada por IgE (Turner *et al.*, 2015).

Estes dados demonstraram o perfil de segurança em termos de reações alérgicas sistémicas à LAIV em crianças com alergia ao ovo, incluindo aquelas com antecedentes de anafilaxia. Deste modo e em contraste com as recomendações atuais, a vacina aparenta ser segura para o uso em crianças com alergia ao ovo (Turner *et al.*, 2015).

– Asma e sibilo

Em estudos recentes, aquando da administração da vacina com o vírus vivo em crianças com menos de 2 anos, foi verificado um aumento do sibilo, suportando assim a não recomendação da vacina a este grupo etário (Sridhar *et al.*, 2015). Este efeito não foi reportado em crianças com idade superior, mesmo naquelas com asma e sibilo pré-existentes. No entanto, a *guideline* atual do Centro de Prevenção e Controlo de Doenças dos Estados Unidos não recomenda o uso de LAIV a crianças com menos de 5 anos de idade com asma ou um episódio de sibilo no ano anterior (Turner *et al.*, 2015).

Em estudos de comparação das vacinas de LAIV com IIV, em crianças com asma ou sibilo, de idades entre os 2 e os 5 anos, e em crianças mais velhas, não foram encontradas grandes diferenças na incidência de sibilo após a administração das duas vacinas, nem evidência de um aumento de exacerbações de asma ou sibilo relevantes. No entanto, nos EUA e no Canadá, o uso da LAIV é apenas permitido em crianças com idades compreendidas entre os 2 e 4 anos sem sintomas de sibilo nos 12 meses anteriores à vacinação (Turner *et al.*, 2015).

8. VANTAGENS DAS VACINAS INTRANASAIS VIVAS ATENUADAS QUADRIVALENTES

Para além de mimetizar a infeção natural com a produção de IgA, a vacina intranasal proporciona uma alternativa à vacinação parenteral, com uma administração mais fácil, trazendo vantagens nas campanhas de imunização em massa por não requerer um procedimento estéril e proporcionar uma imunização sem dor (EMA, 2013; Rose, 2014), aumentando a adesão à terapêutica uma vez que, associado às vacinas parenterais inativadas, existe geralmente o desconforto de uma picada que pode ser fonte de *stress* e ansiedade, principalmente nas crianças.

De acordo com o ensaio aleatorizado de Kwong *et al.*, em 2015, imunizações efetuadas com LAIV em escolas mostraram resultados positivos, as crianças apresentavam-se mais calmas após a imunização e mais recetivas a este tipo de administração, relativamente à administração de vacinas parenterais.

Embora as IIV sejam menos dispendiosas do que as LAIV, quando se incluem custos relativos à administração, o custo global por dose é comparável: são necessárias menos horas de enfermagem com as LAIV, uma vez que não é gasto tempo na remoção de camadas de roupa para o acesso ao local de administração e a acalmar crianças ansiosas antes de receberem a injeção. Porém, as LAIV apresentam um inconveniente: têm mais contraindicações, sendo por isso dedicado mais tempo por parte da enfermagem à elaboração de questões e confirmação de informação (Kwong *et al.*, 2015).

Uma outra vantagem das vacinas intranasais é o facto de conseguirem evitar questões de segurança relacionadas com picadas acidentais e transmissão de doenças infecciosas (Holmgren e Svennerholm, 2012; Rose, 2014).

Para além disto, o desenvolvimento de uma vacina quadrivalente representa um avanço em relação às vacinas trivalentes, expandindo a probabilidade de proteção contra as estirpes circulantes de Influenza B (EMA, 2013).

8.1. POTENCIAL PARA AUTO-ADMINISTRAÇÃO

A imunização contra o vírus Influenza requer a vacinação de uma extensa população, num curto período de tempo, todos os anos. A vacina intranasal tem potencial para auto-administração em adultos e adolescentes, podendo poupar tempo e custos em cenários de vacinação em massa urgente, em resposta a epidemias severas ou pandemias de vírus Influenza (Ambrose e Wu, 2013).

Ambrose e Wu, em 2013, realizaram um estudo de comparação, não aleatorizado, entre a auto-administração e a administração por um profissional de saúde. Verificou-se que grande parte dos participantes a receber LAIV escolheram a auto-administração. Neste grupo, maioritariamente constituído por indivíduos jovens, os problemas reportados foram poucos. Esta comparação sugeriu que os métodos apresentavam efetividade similar. Foram também verificados mais efeitos secundários no grupo de administração efetuada por um profissional de saúde, provavelmente por se tratar de uma população mais velha comparativamente com o grupo de auto-administração.

Uma auto-administração supervisionada por um profissional de saúde garante uma adequada educação relativamente às técnicas de administração, garantindo também respostas adequadas a quaisquer reações de hipersensibilidade. É importante salientar que na informação de prescrição das LAIV está descrito que o tratamento médico apropriado e a supervisão devem estar disponíveis para controlar possíveis reações anafiláticas, secundárias à administração da vacina. Porém, a administração não supervisionada deve ser apenas iniciada após educação na auto-administração por parte do profissional de saúde (Ambrose e Wu, 2013).

9. EFICÁCIA E EFETIVIDADE DAS VACINAS INTRANASAIS VIVAS ATENUADAS

Os estudos de avaliação do efeito profilático das vacinas são realizados através de *field trials* aleatorizados, duplamente ocultos, controlados por placebo e/ou através de ensaios clínicos, também controlados por placebo, desenhados para avaliar respostas a infeções de vírus Influenza confirmadas laboratorialmente (Tamura *et al.*, 2016).

É importante realçar que a eficácia é a capacidade de prevenir a doença em indivíduos vacinados, em ensaios controlados, enquanto que a efetividade é a capacidade de prevenir a doença na população vacinada (Tamura *et al.*, 2016).

A eficácia e efetividade das vacinas são afetadas por vários fatores do hospedeiro incluindo idade, diferenças genéticas nas respostas imunes, historial de vacinação e imunocompetência dos vacinados. Dentro destes, o fator mais importante é a idade: a resposta à vacina é máxima em jovens adultos e varia muito com a idade (Pulendran *et al.*, 2013; Tamura *et al.*, 2016). A baixa eficácia das vacinas em crianças pequenas é explicada pela competência imune dependente da idade e pelo facto de muitas crianças não terem memória imunológica para o vírus Influenza (Tamura *et al.*, 2016).

Para além disto, a eficácia e efetividade dependem do grau de semelhança entre as estirpes incluídas na vacina e as estirpes circulantes na comunidade (Schotsaert e García-Sastre, 2014). Nos anos em que as estirpes da vacina coincidem ou têm grande correspondência com as estirpes circulantes, a eficácia da vacina em crianças e adultos saudáveis varia entre 60 % e 90 %. Porém a eficácia é menor nos anos em que a correspondência está a baixo do ideal (Tamura *et al.*, 2016).

Os ensaios clínicos *e/ou field trials* realizados para testar o efeito profilático das vacinas contra o vírus Influenza requerem muitos voluntários. Deste modo, a maioria dos ensaios utiliza as concentrações de anticorpos de inibição da hemaglutinação (AcHI) após a vacinação como alternativa para avaliar a eficácia da vacina. Os AcHI contra o vírus Influenza estão envolvidos principalmente na proteção contra a infeção viral (Tamura *et al.*, 2016).

Num estudo aleatorizado, duplamente oculto, controlado por placebo, envolvendo 3242 participantes com uma média de idades de 69,5 anos foi avaliada a eficácia, segurança e imunogenicidade de uma vacina viva atenuada para o vírus influenza. Foi possível concluir que, comparativamente com o grupo placebo, a LAIV foi mais efetiva contra vírus influenza antigenicamente semelhantes e vírus heterólogos. Onze dias após a imunização, sintomas, incluindo rinorreia, congestão nasal, tosse, dor de garganta, cefaleias, mialgias, cansaço e perda de apetite ocorreram com uma taxa ligeiramente mais elevada nos participantes com LAIV do que no grupo placebo. No entanto, a taxa de reações adversas graves não apresentou diferenças nos dois grupos (Zheng *et al.*, 2012).

9.1. VACINAS INTRANASAIS VIVAS ATENUADAS VS VACINAS PARENTERAIS INATIVADAS

A eficácia das vacinas vivas atenuadas tem sido comparada com a das inativadas, em ensaios aleatorizados (Tamura *et al.*, 2016). As IIV são seguras e efetivas na prevenção da infeção por vírus Influenza em adultos, mas menos efetivas do que as LAIV em crianças e na população idosa (Tamura *et al.*, 2016).

Quando testada em crianças com idades compreendidas entre os 12 e 59 meses a LAIV trivalente mostrou ser superior à IIV em termos de proteção, com uma eficácia protetora aproximadamente 50 % superior. Foi também verificado que as taxas de hospitalização foram mais baixas nos participantes de LAIV do que nos de IIV, podendo-se concluir que a eficácia da vacina viva atenuada é superior à da vacina inativada em crianças (Tamura *et al.*, 2016; Zheng *et al.*, 2012).

Estudos conduzidos em jovens adultos saudáveis concluíram que, de um modo geral, as LAIV são mais eficazes que as IIV contra vírus antigenicamente semelhantes aos da vacina e contra vírus com variações antigénicas *drift* (Tamura *et al.*, 2016).

Noutro estudo, com participantes com mais de 60 anos de idade, foi comparada a segurança e eficácia das vacinas LAIV e IIV. Pôde-se concluir que os participantes LAIV tenderam a ter menos febre que os participantes IIV (Zheng *et al.*, 2012).

Para além disto, verificou-se que as LAIV conferiam uma proteção superior contra a excreção viral relativamente às IIV (Ilyushina *et al.*, 2015).

9.2. REVACINAÇÃO (Caspard *et al.*, 2016)

Os primeiros estudos realizados sobre a efetividade da revacinação contra a gripe, de Hoskins *et al.*, demonstraram índices de infeção mais elevados nos indivíduos revacinados em 1972 e 1974, relativamente aos indivíduos vacinados apenas na 1ª época, em 1976.

Mais recentemente, vários estudos observacionais investigaram a efetividade de repetidas vacinações principalmente adultos e idosos, onde a maioria recebeu IIV. Em 2011-2012, Ohmit *et al.*, avaliaram a efetividade das vacinas contra o vírus Influenza em indivíduos já vacinados em 2009-2010, podendo concluir que a efetividade foi baixa (<45 %). Noutro estudo feito no ano seguinte, verificou-se uma efetividade de 56 % em indivíduos vacinados apenas em 2011-2012 e de 45 % em indivíduos vacinados durante duas épocas seguidas, sugerindo de novo uma associação negativa entre a vacinação em 2011-2012 e a vacinação na época anterior. Porém, num estudo feito no Canadá por Skowronski *et al.* no mesmo ano, demonstrou uma tendência diferente, com maior efetividade em indivíduos vacinados em dois anos consecutivos relativamente a indivíduos apenas vacinados em 2011-2012. Smith *et al.* sugeriram que as variações de eficácia nas revacinações pode ser explicada pelas diferenças antigénicas entre as estirpes da vacina e as estirpes circulantes. Foi também demonstrado que a eficácia da LAIV não diminuía com vacinações anteriores com IIV.

Análises posteriores demonstraram que quando a LAIV é administrada ainda há uma eficácia residual na época seguinte. Quando é também administrada na 2ª época, há uma eficácia adicional significativa, concluindo-se assim que a eficácia da LAIV nas duas épocas consecutivas foi similar ou superior à eficácia da LAIV administrada apenas na 2ª época (Caspard *et al.*, 2016).

9.3. IMPACTO DA DISTRIBUIÇÃO E MANIPULAÇÃO DAS VACINAS NA SUA EFETIVIDADE (Caspard et al., 2016)

Na época de 2013-2014 foram verificados, especificamente nos EUA, resultados inesperados de efetividade baixa ou nula da LAIV contra estirpes A/H1N1pdm09.

Como consequência destes resultados, a MedImmune conduziu uma investigação com múltiplas hipóteses para a baixa efetividade da estirpe A/H1N1pdm09, incluindo alterações no processo de fabrico ou problemas específicos de lotes, baixa estabilidade dentro das condições de armazenamento recomendadas (2 °C a 8 °C), *antigenic mismatch*, modificação do efeito devido a prévia vacinação ou imunidade pré-existente, interferência entre as estirpes da vacina, aptidão reduzida ou inefetividade da estirpe A/H1N1pdm09 e potencial exposição a certas temperaturas durante o envio e manipulação da vacina que possam ter reduzido a potência da estirpe da vacina.

Estudos laboratoriais demonstraram que a estirpe A/H1N1pdm09 possui uma lisina em vez de um ácido glutâmico na posição 47 da subunidade 2 da haste da hemaglutinina (HA2). A lisina na posição 47 inibe a formação de uma *salt bridge* na molécula de HA reduzindo a estabilidade global. Uma vez que o resíduo estava presente na estirpe selvagem A/H1N1pdm09, está também presente na estirpe de LAIV A/H1N1pdm09. A estabilidade reduzida da hemaglutinina da A/H1N1pdm09 aumenta a suscetibilidade de alterações conformacionais e de inativação com exposição a meios ácidos ou calor. Notavelmente, a lisina na posição 47 já não é prevalente na estirpe A/H1N1pdm09 em circulação, provavelmente por seleção natural e reduzida aptidão associada à baixa estabilidade da HA.

Investigações conduzidas pela MedImmune levaram à conclusão de que certos processos de distribuição da vacina em 2013-2014 permitiram que esta fosse exposta à temperatura ambiente por períodos de 2 horas, em 2 pontos temporais: durante a receção de remessas de vacinas vindas da MedImmune e durante a re-embalagem para os profissionais de saúde. Deste modo concluiu-se que a baixa eficácia da vacina em 2013-2014 se deveu ao processo de distribuição.

Em consequência destas descobertas, a MedImmune substituiu a estirpe da vacina A/H1N1pdm09 por uma estirpe antigenicamente semelhante com uma HA mais estável na formulação de 2015-2016. Os processos de seleção de estirpes foram também revistos para garantir a estabilidade da HA de futuras estirpes de vacinas LAIV.

Este estudo demonstra o valor da monitorização da efetividade das vacinas contra o vírus Influenza e o potencial impacto da distribuição e manipulação na efetividade das vacinas.

9.4. BAIXA EFETIVIDADE A PARTIR DE 2009

Depois de 2009 foi realizada uma análise da efetividade da vacina em crianças e adolescentes durante quatro épocas de gripe. Não foi verificada nenhuma diferença significativa na efetividade da LAIV comparada com a IIV contra a gripe causada por Influenza A/H3N2 e Influenza B. No entanto, foi verificada uma maior possibilidade de gripe causada por Influenza A/H1N1pdm09 entre os participantes que receberam LAIV do que os de IIV. Os motivos para esta baixa efetividade não foram completamente compreendidos (*Chung et al., 2016*). Apesar disto, esta descoberta de baixa efetividade parece ser específica para a componente A/H1N1pdm09 da vacina (*Caspard et al., 2016*).

A falta de evidências consistentes de que a LAIV apresentava efetividade superior depois de 2009 levou a que o *Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP)* decidisse que, para o período de 2015-2016, a recomendação preferencial de LAIV para crianças dos 2 aos 8 anos não fosse continuada (*Chung et al., 2016*).

Para a próxima época de 2016-2017 a ACIP não recomenda o uso da LAIV quadrivalente (Q/LAIV) devido a dados que demonstram uma efetividade relativamente baixa desde 2013 até 2016. A razão para a má performance da vacina neste período não é inteiramente conhecida (*CDC, 2016*).

10. CONCLUSÃO

As LAIV parecem apresentar vantagens consideráveis comparativamente às IIV. Para além de terem demonstrado durante os ensaios clínicos uma eficácia superior, sobretudo em crianças e jovens adultos, são capazes de fornecer proteção efetiva contra vírus Influenza de várias estirpes sem o desconforto de uma picada, aumentando a adesão à terapêutica, para além da diminuição do risco de picadas acidentais e transmissão de doenças infecciosas.

No futuro, as vacinas intranasais contra o vírus Influenza deverão ter melhores taxas de proteção, abrangendo um maior conjunto de idades, de forma a englobar a população idosa e crianças pequenas, críticas para o alastramento da gripe epidémica. As vacinas parenterais existentes, com eficácia limitada contra agentes patogénicos das vias aéreas podem ser melhoradas, alterando a sua via de administração para uma via intranasal, não havendo o risco de anular a proteção sistémica.

Adicionalmente, seria vantajoso reduzir as contraindicações e efeitos secundários associados às LAIV. Para este efeito já se encontram em investigação as vacinas inativadas intranasais que poderão ser administradas a grupos de alto-risco, por se tratarem de preparações que não contêm vírus vivos (atenuados).

Apesar das vantagens das LAIV relativamente às IIV, a ACIP tem vindo a verificar uma baixa efetividade da LAIV desde 2009, tendo-se acentuado a partir de 2013, embora os motivos não sejam ainda conhecidos.

Em Portugal a LAIV já possui AIM aprovada, mas a DGS ainda não apostou nesta vacina para o esquema de vacinação no nosso País. O papel do farmacêutico junto da DGS seria importante no sentido de divulgar esta vertente da prevenção no âmbito da Saúde Pública, avaliando os motivos para a não recomendação da LAIV nos EUA. Com efeito, essa tarefa é relevante para a sociedade e para o nosso País, tendo em consideração os custos que, com a vacinação intranasal, se poupariam, para além de contribuir para um aumento da adesão à terapêutica e uma melhoria da qualidade de vida da população em geral.

II. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AMBROSE, C. S. *et al.* - The role of nasal IgA in children vaccinated with live attenuated influenza vaccine. **Vaccine**. 30:48 (2012) 6794–6801.

AMBROSE, C. S.; WU, X. - The safety and effectiveness of self-administration of intranasal live attenuated influenza vaccine in adults. **Vaccine**. 31:6 (2013) 857–860.

CASPARD, H. *et al.* - A Systematic Review of the Efficacy of Live Attenuated Influenza Vaccine Upon Revaccination of Children. **Human Vaccines & Immunotherapeutics**. 5515:January (2016).

CDC - **ACIP votes down use of LAIV for 2016-2017 flu season** [Em linha] [Acedido a 11 de setembro de 2016]. Disponível na Internet: <http://www.cdc.gov/media/releases/2016/s0622-laiv-flu.html>.

CHUNG, J. R. *et al.* - Seasonal Effectiveness of Live Attenuated and Inactivated Influenza Vaccine. **Pediatrics**. 137:2 (2016) 1–10.

COLLIER, L.; OXFORD, J. - **Human Virology**. 2nd. ed. New York : Oxford University Press Inc., 2000. ISBN 0 19 262820 8.

EMA - **Fluenz Tetra® Assessment report** [Em linha] [Acedido a 17 de abril de 2016]. Disponível na Internet: http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/EPAR_-_Public_assessment_report/human/002617/WC500158413.pdf.

European Medicines Agency - Fluenz - [Em linha] [Acedido a 15 de agosto de 2016]. Disponível na Internet:

http://www.ema.europa.eu/ema/index.jsp?curl=pages/medicines/human/medicines/001101/human_med_001405.jsp&mid=WC0b01ac058001d124.

FDA - **FluMist Quadrivalent® prescribing information** [Em linha] [Acedido a 17 de abril de 2016]. Disponível na Internet: <http://www.fda.gov/downloads/BiologicsBloodVaccines/Vaccines/ApprovedProducts/UCM294307.pdf>.

GERLIER, L. *et al.* - Estimates of the Public Health Impact of a Pediatric Vaccination Program Using an Intranasal Tetravalent Live-Attenuated Influenza Vaccine in Belgium. **Pediatric Drugs**. June (2016) 1–16.

HALSEY, N. A. *et al.* - The safety of influenza vaccines in children: An Institute for Vaccine Safety white paper. **Vaccine**. 33 Suppl 5:2015 (2015) F1–F67.

HANNOUN, C. - The evolving history of influenza viruses and influenza vaccines. **Expert Review of Vaccines**. 12:9 (2013) 1085–94.

HOLMGREN, J.; SVENNERHOLM, A. M. - Vaccines against mucosal infections. **Current Opinion in Immunology**. 24:3 (2012) 343–353.

ILYUSHINA, N. A. *et al.* - Live attenuated and inactivated influenza vaccines in children. **The**

Journal of infectious diseases. 211:3 (2015) 352–360.

KWONG, J. C. *et al.* - Randomized evaluation of live attenuated vs. inactivated influenza vaccines in schools (RELATIVES) pilot study: A cluster randomized trial. **Vaccine.** 33:4 (2015) 535–541.

OSSWALD, W.; GUIMARÃES, S. - **Terapêutica Medicamentosa e suas Bases Farmacológicas.** 4ª. ed. : Porto Editora, LDA, 2001

PETUKHOVA, G. *et al.* - B- and T-cell memory elicited by a seasonal live attenuated reassortant influenza vaccine: Assessment of local antibody avidity and virus-specific memory T-cells using trogocytosis-based method. **Influenza and other Respiratory Viruses.** 6:2 (2012) 119–126.

PULENDRAN, B. *et al.* - Immunity to viruses: Learning from successful human vaccines. **Immunological Reviews.** 255:1 (2013) 243–255.

ROSE, M. A. - Mucosal immunization in perspective: Pediatric influenza vaccines. **Human Vaccines and Immunotherapeutics.** 10:7 (2014) 2115–2117.

SCHOTSAERT, M.; GARCÍA-SASTRE, A. - Influenza vaccines: A moving interdisciplinary field. **Viruses.** 6:10 (2014) 3809–3826.

SRIDHAR, S.; BROKSTAD, K.; COX, R. - Influenza Vaccination Strategies: Comparing Inactivated and Live Attenuated Influenza Vaccines. **Vaccines.** 3:2 (2015) 373–389.

TAMURA, S. *et al.* - Intranasal Inactivated Influenza Vaccines: a Reasonable Approach to Improve the Efficacy of Influenza Vaccine? **Japanese Journal of Infectious Diseases.** 69:3 (2016) 165–179.

TURNER, P. J. *et al.* - Safety of live attenuated influenza vaccine in atopic children with egg allergy. **Journal of Allergy and Clinical Immunology.** 136:2 (2015) 376–381.

WAGNER, E. K.; HEWLETT, M. J. - **Basic Virology.** 2nd. ed. Malden : Blackwell Science Ltd, 2004. ISBN 1-4051-0346-9.

WHO - Recommended composition of influenza virus vaccines for use in the 2016-2017 northern hemisphere influenza season. February 2016 (2016) 7.

ZHENG, D.; YI, Y.; CHEN, Z. - Development of live-attenuated influenza vaccines against outbreaks of H5N1 influenza. **Viruses.** 4:12 (2012) 3589–3605.