

SUELY HIROMI TUBOI

2002.05906

***AVALIAÇÃO DA IMUNOGENICIDADE DA VACINA CONTRA
HEPATITE B EM PACIENTES INFECTADOS PELO VÍRUS
DA IMUNODEFICIÊNCIA HUMANA***

CAMPINAS

2001

UNICAMP
BIBLIOTECA CENTRAL
SEÇÃO CIRCULANTE

SUELY HIROMI TUBOI

***AVALIAÇÃO DA IMUNOGENICIDADE DA VACINA CONTRA
HEPATITE B EM PACIENTES INFECTADOS PELO VÍRUS
DA IMUNODEFICIÊNCIA HUMANA***

*Dissertação de Mestrado apresentada á Pós-Graduação
da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade
Estadual de Campinas, para a obtenção do título de
Mestre em Clínica Médica, área de Clínica Médica.*

ORIENTADORA: PRISCILA MARIA DE OLIVEIRA PAPAIORDANOU

CAMPINAS

2001

UNIDADE BC
 N.º CHAMADA: T/UNICAMP
T79a
 V. Ex.
 TOMBO BC/ 47419
 PROC. 837102
 C ☐ D ☒
 PREC. R\$ 11,00
 DATA 04-02-02
 ** (DPD)

0000162954-7

**FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA
 BIBLIOTECA DA FACULDADE DE CIÊNCIAS MÉDICAS
 UNICAMP**

T79a

Tuboi, Suely Hiromi

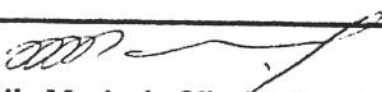
Avaliação da imunogenicidade da vacina contra hepatite B em
 pacientes infectados pelo vírus da imunodeficiência humana / Suely
 Hiromi Tuboi. Campinas, SP : [s.n.], 2001.

Orientador : Priscila Maria de Oliveira Papaiordanou

Tese (Mestrado) Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de
 Ciências Médicas.

1. Vacinas virais. 2. Aids. 3. HIV (vírus). I. Priscila Maria de
 Oliveira Papaiordanou. II. Universidade Estadual de Campinas.
 Faculdade de Ciências Médicas. III. Título.

Banca Examinadora da Dissertação de Mestrado

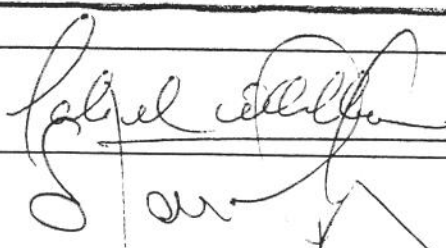


Orientador(a): *Prof. Dra. Priscila Maria de Oliveira Papaiordanou*

Membros:

1. Professor Doutor Gabriel Wolf Osenka

2. Professor Doutor Luiz Jacintho da Silva



Curso de Pós-Graduação em Clínica Médica, área de concentração Clínica Médica, da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas.

Data: 04/07/01

Aos pacientes que participaram deste estudo meu respeito.

Ao pessoal do Núcleo de Vigilância Epidemiológica, Verônica, Eliane, Gema, Ceila, Eliene, Olívia, Márcia, Mariângela, e às médicas do Ambulatório de AIDS da Unicamp, Ana, Maria Helena, Stela e Miriam, pelo apoio e solicitude.

Aos professores Dr. Rogério de Jesus Pedro, Dra. Maria Luiza Moretti Branchini e Dr. Francisco Hideo Aoki, pelas oportunas e preciosas sugestões.

Aos professores e amigos de Londrina, Dr. José Luiz da Silveira Baldy e Dra. Ana Maria Bonameti, por me contaminarem com o vírus da curiosidade.

A papai e mamãe, por aceitarem, resignados mas orgulhosos, a sina desta filha que não pára quieta em canto algum.

Aos amigos, que amigo é o melhor lugar.

À acolhida terna e orientação segura de Priscila, amiga e exemplo de vida.

Um dia aprendi a dançar. E então, voei.

Nietzsche

	PÁG.
RESUMO.....	<i>xi</i>
1. INTRODUÇÃO.....	13
A hepatite B.....	15
Estrutura antigênica e resposta imune ao HBV.....	16
A coinfeção Vírus da Imunodeficiência Humana & Vírus da hepatite B.....	19
Epidemiologia da coinfeção HIV x HBV.....	19
Impacto da associação HIV & HBV.....	20
A vacina contra hepatite B.....	23
A vacina derivada de plasma humano.....	23
A vacina de DNA recombinante.....	24
Composição e apresentações.....	24
Esquemas e doses.....	24
Vias de administração.....	26
Efeitos adversos da vacina de DNA recombinante.....	28
O uso de thimerosal como preservativo.....	29
Imunogenicidade da vacina contra hepatite B de DNA recombinante.....	30
Imunogenicidade da vacina em pacientes imunocompetentes.....	30
Duração da proteção conferida pela vacina de DNA recombinantes.....	31
Fatores relacionados à resposta imune reduzida.....	34
Imunogenicidade da vacina de hepatite B em pacientes imunocomprometidos..	35
2. OBJETIVOS.....	38

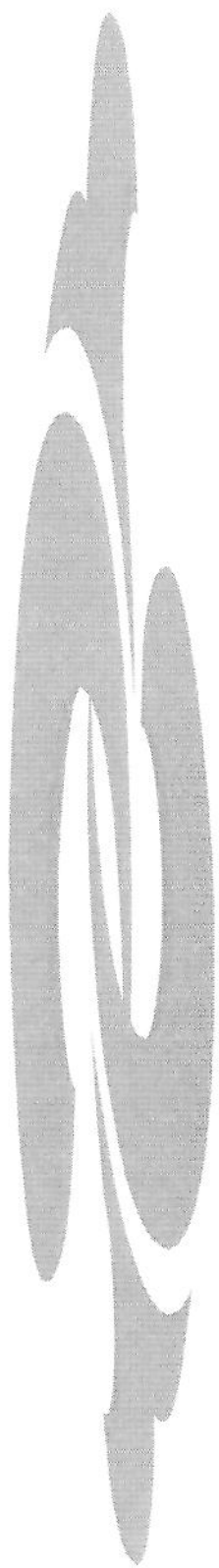
3. MATERIAL E MÉTODOS.....	40
Pacientes.....	41
Vacina contra hepatite B.....	41
Esquema e via de administração.....	42
Avaliação clínica.....	42
Avaliação laboratorial.....	44
Análise estatística.....	44
4. RESULTADOS.....	46
Características da população de estudo.....	47
Distribuição da amostra estudada segundo sexo, idade e categoria de exposição.....	48
Distribuição da amostra estudada segundo tabagismo e obesidade.....	48
Distribuição da amostra estudada segundo uso de anti-retrovirais.....	49
Distribuição da amostra estudada segundo contagem de linfócitos T CD4.....	49
Distribuição da amostra estudada segundo quantificação de carga viral.....	49
Comorbidades.....	51
Reações adversas.....	52
Resposta ao esquema de 3 doses.....	52
Taxa geral de soroconversão.....	52
Variáveis não associadas à resposta ao esquema de 3 doses.....	52
Variáveis associadas à resposta ao esquema de 3 doses.....	54
Análise multivariada.....	55
Resposta à quarta dose em não respondedores ao esquema de 3 doses.....	56
Aumento de carga viral após vacinação.....	56

5. DISCUSSÃO.....	57
6. CONCLUSÕES E RECOMENDAÇÕES.....	65
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	67
8. ANEXOS.....	85

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

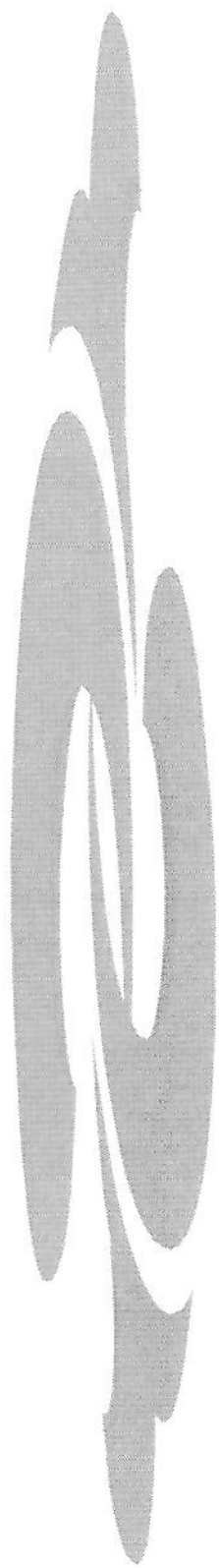
OMS	Organização Mundial da Saúde
HBV	<i>Hepatitis B Virus</i>
HIV	<i>Human Immunodeficiency Virus</i>
agHBs	Antígeno HBs
AgHBc	Antígeno HBc
AgHBe	Antígeno HBe
MHC	<i>Major Histocompatibility Complex</i>
CTL	<i>Cytotoxic T Lymphocytes</i>
IFN- γ	Interferon gama
TNF- α	<i>Tumor Necrosis Factor alfa</i>
Aids	<i>Acquired Immunodeficiency Syndrom</i>
MACS	<i>Multicenter Aids Cohort Study</i>
HCV	<i>Hepatitis C Virus</i>
GMT	<i>Geometric Mean Titer</i>
ACIP	<i>Advisory Committee for Immunization Practices</i>
CDC	<i>Centers for Disease Control and Prevention</i>
FDA	<i>Food and Drug Administration</i>
HIV	<i>Human Immunodeficiency Virus</i>
HTLV	<i>Human T-Lymphotropic Virus</i>
UNICAMP	Universidade Estadual de Campinas
AZT	Zidovudina
DDI	Didanosina
3TC	Lamivudina
D4T	Estavudina

	PÁG.
Tabela 1: Características dos 109 pacientes portadores do HIV que receberam a vacina recombinante contra hepatite B (variáveis categóricas).....	50
Tabela 2: Características dos 109 pacientes portadores do HIV que receberam a vacina recombinante contra hepatite B (variáveis contínuas).....	51
Tabela 3: Variáveis categóricas não associadas à resposta (títulos de anti-HBs > a 10mUI/ml), utilizando-se esquema de 3 doses de vacina recombinante contra hepatite B em 109 portadores do HIV.....	53
Tabela 4: Variáveis contínuas não associadas à resposta (títulos de anti-HBs > a 10mUI/ml), utilizando-se esquema de 3 doses de vacina recombinante contra hepatite B em 109 portadores do HIV.....	54
Tabela 5: Variáveis associadas à resposta (títulos de anti-HBs > a 10mUI/ml), utilizando-se esquema de 3 doses de vacina recombinante contra hepatite B em 109 portadores do HIV.....	55
Tabela 6: Resultado da análise de regressão logística para resposta a 3 doses da vacina recombinante contra hepatite B em 109 pacientes portadores do HIV.....	55
Tabela 7: Imunogenicidade da vacina de hepatite B em pacientes HIV em diversos estudos.....	58



RESUMO

É freqüente a associação entre o vírus da hepatite B HBV e o vírus da Imunodeficiência Humana (HIV) devido ao fato de ambos compartilharem semelhantes modos de transmissão: parenteral, sexual e vertical. Entre pacientes HIV, a transição para infecção crônica é o padrão evolutivo mais encontrado, possivelmente relacionado à deficiente resposta do sistema imune. Apesar da baixa ocorrência de cirrose entre esses pacientes, observa-se alto grau de replicação do HBV, aumentando, conseqüentemente, seu potencial de contagiosidade. Esse fato é de grande importância no planejamento de estratégias para o controle dessa doença. É reconhecida a precária resposta à vacina contra hepatite B apresentada por pacientes infectados pelo HIV, quando comparados à população hígida. Essa falta de resposta foi bem documentada em diversos trabalhos e refere-se a ambos os tipos de vacina (derivada de plasma e de DNA recombinante). O presente estudo avaliou a imunogenicidade da vacina de DNA recombinante contra hepatite B em 109 portadores do HIV e os fatores associados a melhor resposta. Foram avaliadas as seguintes variáveis: sexo, idade, índice de massa corpórea, tabagismo, estadiamento clínico, contagem de linfócitos T CD4 e carga viral. A taxa de soroconversão encontrada foi de 59,6%. Pacientes com contagem de linfócitos T CD4 superiores a 500 céls/mm³ tiveram uma chance 5,1 vezes maior de responder à vacina.



1. INTRODUÇÃO

A hepatite B continua sendo um sério problema de saúde pública mundial apesar de figurar entre as doenças preveníveis por vacinação há mais de 15 anos. A Organização Mundial da Saúde (OMS) estima que mais de 2 bilhões de pessoas foram, em algum momento de suas vidas, infectadas pelo vírus da Hepatite B (Hepatitis B Virus - HBV) e que, desse total, cerca de 350 milhões são portadoras crônicas do vírus e estão sob risco de apresentar cirrose e carcinoma hepatocelular. A hepatite B é responsável por 60 milhões de casos de cirrose hepática em todo o mundo, um número superior ao causado pelo álcool. Juntas, a cirrose hepática e o carcinoma hepatocelular matam mais de 1 milhão de pessoas a cada ano, além, evidentemente, do significativo impacto econômico à sociedade, em decorrência dos anos potenciais de vida perdidos e do caráter crônico e debilitante que podem apresentar.

A despeito da disponibilidade e da comprovada eficácia da vacina contra a hepatite B, muito ainda há de ser feito a fim de que se atinja a meta de imunização universal, estabelecida em 1991 pela OMS. Até o ano de 2000, apenas cerca de 100 países tinham adotado a prática em sua rotina de imunizações. Ironica, porém não surpreendentemente, a maior parte dos países que apresentam alta endemicidade – os países mais pobres – são também os que não lograram introduzir a vacina em seu programa, configurando um quadro moralmente inaceitável e um obstáculo ao controle dessa infecção.

Ao desafio imposto por esse quadro veio somar-se o problema da epidemia do Vírus da Imunodeficiência Humana (Human Immunodeficiency Virus – HIV): 40 milhões de pessoas infectadas no mundo todo, mais de 500 mil no Brasil. Por apresentarem o mesmo modo de transmissão, não é infrequente o encontro de indivíduos HIV positivos que manifestam algum marcador de infecção pelo HBV. Ainda, a terapia antiviral de alta potência tem possibilitado o aumento da sobrevida desses pacientes e consequentemente a perspectiva dos efeitos da interação HIV&HBV tornarem-se um importante problema clínico na prática médica.

A hepatite B

A hepatite B é causada por um vírus hepatotrópico da família Hepadnaviridae, que na Natureza infecta somente a espécie humana, ocasionando doença hepática necroinflamatória de duração e severidade variáveis.

A infecção primária pelo HBV pode ser auto-limitada ou tornar-se persistente, mantendo-se por vários anos, frequentemente por toda a vida do indivíduo infectado, condição esta que pode ser acompanhada ou não de doença hepática.

Indivíduos que apresentam doença hepática ativa estão sob elevado risco de desenvolver cirrose e carcinoma hepatocelular. Apesar do HBV aparentemente não infectar outros tecidos, manifestações extra-hepáticas – na forma de síndromes mediadas por imunocomplexos – não são raras no curso da infecção, o que sinaliza para uma complexa interação vírus/sistema imune, fato de grande importância na compreensão de sua patogênese.

Os primeiros registros de casos de hepatite B datam, aparentemente, de 1833, quando da administração da vacina contra a varíola contendo soro humano a trabalhadores de estaleiro em Bremen, Alemanha, razão pela qual foi denominada hepatite sérica, ou hepatite por soro homólogo, ou ainda hepatite de longo período de incubação.

A então hepatite sérica permaneceu indistinguível das hepatites de outras etiologias – as “hepatites infecciosas” – até o ano de 1965, quando BLUMBERG et al. (1965) identificaram casualmente um antígeno no soro de um aborígene australiano hemofílico que havia recebido múltiplas transfusões. O antígeno foi, assim, denominado Austrália e inicialmente considerado como um antígeno ligado ao hospedeiro. Alguns anos depois viria o reconhecimento de sua associação à hepatite sérica, mudando-lhe o nome para antígeno associado à hepatite e posteriormente para a atual designação antígeno de superfície da hepatite B (AgHBs).

O avanço de técnicas laboratoriais permitiu a caracterização de antígenos e anticorpos das hepatites virais e a constatação de que a partícula de AgHBs presente no soro não correspondia ao vírion. A identificação do vírion é atribuída a DANE et al. (1970) que, por meio de microscopia eletrônica, descreveu-o como uma partícula maior e mais complexa que o AgHBs.

Estrutura antigênica e resposta imune ao HBV

O HBV apresenta o diâmetro aproximado de 42 nm e é constituído por um envelope externo que encerra o nucleocapsídeo ou core. Seu genoma consiste de aproximadamente 3200 pares de bases que formam uma molécula de DNA circular de dupla fita com uma região, de comprimento variável, de fita única (LANDERS, 1977) que contém quatro genes que codificam o envelope viral, a polimerase do nucleocapsídeo e a proteína X.

O gene C (Core) codifica 2 componentes virais: os polipeptídeos formadores do nucleocapsídeo, que contém o antígeno do core do HBV (AgHBc), e a proteína que se torna mensurável no sangue – o antígeno HBe (AgHBe). O *open reading frame* do gene C contém 2 códons iniciadores que determinam a produção de 2 polipeptídeos. Um deles corresponde ao AgHBc e se une, no citoplasma do hepatócito, para constituir as partículas de nucleocapsídeo. Após envolverem a polimerase viral e o RNA pré-genômico, migram à membrana nuclear, onde liberam o genoma viral nascente, sendo, portanto, essenciais à replicação viral. As partículas de nucleocapsídeo também se associam ao envelope para formar vírions completos, que são secretados pelo hepatócito (CHISARI & FERRARI, 1992). Há ainda relatos que implicam o AgHBc na supressão da transcrição do beta interferon pela célula (TWU, 1988; TWU, 1989). O segundo codon corresponde a uma sequência pré-core e determina a produção de um polipeptídeo truncado (no interior do retículo endoplasmático), o AgHBe. Quando a tradução inicia-se pelo primeiro codon (core), há manifestação apenas do AgHBc, sugerindo que a sequência pré-core atue como um sinal para a produção de AgHBe (RAIMONDO, 1990; WAKITA, 1991). Embora a presença deste antígeno no soro de pacientes infectados seja um bom marcador de replicação viral, a função da proteína pré-core no ciclo de vida permanece obscura, pois sua presença não parece ser essencial para a replicação viral (CHEN, 1992).

O gene P codifica a polimerase viral, uma proteína que contém uma transcriptase reversa, uma DNA polimerase e uma RNAase. Os produtos do gene da polimerase têm papel fundamental no encapsulamento e replicação do genoma viral (HIRSCH, 1990; BARTENSCHLAGER, 1990). A utilização da transcriptase reversa para a replicação produz constantes erros de leitura e é responsável por alta taxa de mutação e

heterogeneidade genética, fato infreqüentemente observado entre vírus DNA. O gene X codifica uma proteína que tem a função de ativar a transcrição regulada pelo HBV (SPANDAU, 1988).

O gene S (superfície) é constituído pelas regiões pré-S1, pré-S2 e S e codifica a produção de 3 polipeptídeos, designados grande, médio e principal, de acordo com o tamanho e a quantidade observada. Todos apresentam o antígeno de superfície (AgHBs) e são componentes essenciais do envelope viral e de formas incompletas do vírus, encontradas no soro e no fígado de pessoas infectadas. Aparentemente, todas as partículas de AgHBs apresentam um determinante comum, grupo específico, denominado *a*. A presença ainda dos determinantes *d/y* e *w/r* permite classificar o vírus em 4 subtipos: *adw*, *ayw* e *adr* e *ayr*. Há registros da heterogeneidade antigênica do determinante *w* e da ocorrência de outros subtipos, quais sejam, *j*, *k*, *q* e *x* ou *g* (BANCROFT, 1972) e, recentemente, *i* e *t* (OHNUMA, 1993).

O determinante *a* pode induzir a imunidade protetora contra o HBV de qualquer subtipo, condição essencial para que se possa utilizar ampla e eficazmente uma vacina que induza a produção de anticorpos anti-HBs. Epítomos específicos para linfócitos B e T foram também identificados nos segmentos pré-S1 e pré-S2 na superfície de vírions e de partículas filamentosas, capazes de gerar resposta imune protetora (GROB, 1983; OHNUMA, 1986).

Nos últimos 10 anos, possivelmente devido à pressão epidemiológica causada pela imunização em áreas endêmicas, tem havido relatos de infecção por variantes do vírus da hepatite B em indivíduos previamente imunizados (ZANETTI, 1988).

O sistema imune apresenta diferentes mecanismos para lidar com as formas virais extra e intracelulares. Um deles consiste na produção de anticorpos protetores por linfócitos B – resposta humoral – contra o antígeno HBs. Receptores presentes nos linfócitos B podem reconhecer antígenos virais em sua forma nativa, ou na forma de proteínas solúveis secretadas, ou ainda sob a forma de moléculas intactas expressas na superfície de células infectadas. Esses anticorpos, no entanto, atuam apenas nas formas extracelulares do HBV, uma vez que o vírus invade o hepatócito, mecanismos celulares de defesa são requisitados.

O segundo mecanismo baseia-se na capacidade dos linfócitos T reconhecerem antígenos virais processados na forma de peptídeos pequenos associados a moléculas do Complexo Maior de Histocompatibilidade (MHC) expressas em células infectadas (GERMAIN, 1994). Nesse caso, não mais os antígenos, mas os produtos do gene C e das regiões pré S1 e pré S2 é que são responsáveis por marcar as células infectadas como alvo para a ação de linfócitos T citotóxicos (CTL, CD8) e linfócitos T Helper (CD4), mediante a presença de antígenos MHC classe I e II.

A ação dos linfócitos T citotóxicos é desencadeada pelo reconhecimento de antígenos processados no citosol de hepatócitos infectados, apresentados na membrana do hepatócitos por moléculas do MHC I. Os linfócitos T citotóxicos ativados podem produzir citocinas tais como o interferon γ (IFN- γ) ou o fator de necrose tumoral α (TNF- α). Além disso, o reconhecimento do antígeno pelos CTL promove a indução do hepatócito infectado à apoptose (CHISARI, 1997).

Moléculas do MHC II, presentes em células apresentadoras de antígeno (certos macrófagos, monócitos e células dendríticas) são responsáveis por outra via de regulação, apresentando antígenos processados no meio extracelular a linfócitos T helper 1 e 2. Linfócitos T helper 1 ativados também produzem citocinas como IFN- γ . Já os linfócitos T helper 2 produzem citocinas como interleucina 4 e 8, que induzem a uma intensificação policlonal de linfócitos B, contribuindo para a resposta humoral e ainda atuam como agentes quimiotáticos para células inflamatórias tais como monócitos e linfócitos (FRANCO, 1997).

De acordo com o exposto, o curso da infecção pelo HBV depende do balanço entre fatores inerentes ao vírus (replicação, mutagenicidade) e a capacidade do hospedeiro em criar uma resposta imune suficientemente rápida, capaz de limitar a disseminação da infecção e eliminar o vírus. As estratégias-chave para a sobrevivência do HBV consistem em ser este um vírus intracelular e no fato de não ser essencialmente citopático. A estratégia do hospedeiro para o controle da infecção, por sua vez, depende da capacidade de “expor” os peptídeos virais na superfície do hepatócito, via antígenos do MHC, de modo que se tornem reconhecíveis pelo sistema imune. É também esse o principal mecanismo patogênico das alterações da hepatite, uma vez que os linfócitos T apenas reconhecem a presença do antígeno juntamente com as células do hospedeiro.

A coinfeção Vírus da Imunodeficiência Humana & Vírus da hepatite B

Epidemiologia da coinfeção HIV x HBV

Os fatores de risco associados às infecções pelo HIV e pelo HBV são semelhantes, uma vez que ambas compartilham das mesmas rotas de transmissão: sexual, sanguínea e vertical (RUSTGI, 1984).

Na Coorte Multicêntrica de Aids de Pittsburgh, KINGSLEY et al.(1990) compararam a eficácia da transmissão do HBV e do HIV, estimando a soroconversão de indivíduos homossexuais masculinos previamente sadios. As taxas de soroconversão para HBV e HIV encontradas foram de 19.8 e 7.8%, respectivamente. A taxa cumulativa de soroconversão para HBV foi significativamente superior, a despeito da menor prevalência do estado de portador do AgHBs comparada ao estado de portador do HIV-1 (7% e 22%, respectivamente). Os resultados sugerem que a transmissão do HBV entre homossexuais do sexo masculino é 8.6 vezes mais eficaz que a do HIV.

Em outra coorte de homossexuais do sexo masculino destinada a estudar a história natural da infecção pelo HIV – o MACS (Multicenter Aids Cohort Study) –, TWU et al.(1993) observaram que a incidência de infecção pelo HIV-1 era mais alta em indivíduos que apresentavam infecção prévia ou concomitante pelo HBV, mesmo quando estes referiam os mesmos padrões de práticas de risco, sugerindo que a presença de marcadores de infecção pelo HBV pode ser um preditor da soroconversão para HIV-1. Uma explicação racional para esta associação é a de que indivíduos infectados pelo HBV apresentariam maior probabilidade de estarem também infectados pelo HIV-1, isto é, teriam uma chance maior de ter tido ou de ainda estar em contato com homens portadores do HIV-1. Aparentemente, o risco para infecção pelo HBV está associado ao tempo de prática homossexual e esta associação torna-se mais evidente quando indivíduos com ambas as infecções são comparados àqueles que apresentam apenas a infecção pelo HIV, o que é consistente com os diferentes períodos de exposição a esses dois agentes: o HBV tem sido endêmico entre homossexuais do sexo masculino desde há muito tempo, ao passo que o HIV é um patógeno relativamente novo nesta população (KOZIOL, 1993). No Brasil, achados semelhantes foram descritos num estudo destinado a identificar populações de alto

risco para a infecção pelo HIV no Rio de Janeiro. Acompanhando 753 homossexuais do sexo masculino por um período médio de 1,5 anos, HARRISON et al.(1999) observaram que a soropositividade para o anti-HBc, entre outras variáveis, foi um fator de risco para a aquisição do HIV.

Impacto da associação HIV & HBV

Embora os vírus HIV e HBV compartilhem certas características epidemiológicas e mesmo biológicas, o impacto que a coinfeção pode apresentar no curso de cada doença é ainda um assunto que está longe de ser inteiramente compreendido. Alguns autores sugeriram que o HBV pudesse alterar o curso da infecção pelo HIV, induzindo à progressão mais rápida para a Aids (SCHARSCHMIDT, 1992; TWU, 1989; ESKILD, 1991), embora a grande maioria dos estudos que se seguiram não tenham demonstrado tal associação.

Pelo menos dois mecanismos poderiam ser elencados na gênese das alterações clínicas resultantes dessa interação. Primeiro, ambos apresentam um estágio de transcrição reversa em seus ciclos replicativos, o que poderia ter importância em células duplamente infectadas (McNAIR, 1992). Segundo, o *clearance* do HBV é em grande parte dependente da imunidade celular: o dano hepático tecidual é sabidamente resultante da atividade de linfócitos T citotóxicos sobre os hepatócitos e não de ação citopática direta do HBV. Indivíduos que apresentam deficiência da imunidade celular, tais como pacientes em hemodiálise ou em uso de drogas imunossupressoras, apresentam um risco maior de se tornarem portadores crônicos do HBV após exposição ao vírus (ANDERSON, 1985). Em dois estudos (TAYLOR, 1988; MONNO, 1988) que avaliaram o risco de evolução para estado de portador do AgHBs em populações de homossexuais do sexo masculino e usuários de droga injetável, os autores encontraram taxas de 19.5% e 88.8%, respectivamente, em pacientes com infecção prévia pelo HIV, comparados com 6.0% e 1.8% na população controle, não HIV.

A respeito do impacto do HIV na progressão da infecção pelo HBV, a maioria dos trabalhos revela que portadores crônicos do AgHBs com imunodeficiência associada à infecção pelo HIV-1 manifestam níveis relativamente mais altos de replicação do HBV (PERRILLO, 1986; KROGSGAARD, 1986). Essa asserção é corroborada pelo encontro de níveis séricos mais elevados de HBV-DNA em pacientes AgHBe e HIV positivos, comparados a pacientes AgHBe e HIV negativos (BODSWORTH, 1989) e pela demonstração, em análise imuno-histoquímica de biópsias hepáticas, de maior expressão do AgHBe e DNA polimerase nos pacientes do primeiro grupo (GOLDIN, 1990). Embora a replicação do HBV seja mais intensa nessa população, a atividade da doença inflamatória hepática parece estar reduzida, comparada à população não HIV. BODSWORTH et al. (1989), estudando o efeito da coinfeção HIV & HBV, observaram que níveis elevados de transaminases correlacionaram-se diretamente à contagem de linfócitos T CD4+, revelando um aparente efeito “protetor” da infecção pelo HIV contra a progressão da doença hepática, paralelamente à dificuldade de soroconversão de AgHBe para anti-HBe. Num estudo prospectivo com o mesmo objetivo, após 5 anos de seguimento, GILSON et al. (1997) relataram uma significativa redução na taxa de soroconversão de AgHBe para anti-HBe (49% em pacientes não-HIV x 12% em pacientes HIV). Nesse mesmo estudo, a infecção pelo HIV foi implicada no reaparecimento de AgHBe no soro de alguns pacientes HIV previamente AgHBs negativos. Nesse sentido, alguns autores relatam a possível persistência da infecção pelo HBV na ausência de AgHBs circulante, na forma de DNA integrado a linfócitos e hepatócitos (Laure, F., Zagury, D., Saimot, A.G., Gallo, R.C., Hahn, B.H., Brechot, C. Hepatitis B virus DNA sequences in lymphoid cells from patients with AIDS and AIDS-related complex. Science 1985;229(4713):561-3.” LAURE, 1985). Em resumo, o HIV pode tanto intensificar quanto prolongar o período de infectividade do HBV, o que pode ter conseqüências epidemiológicas no que se refere ao *pool* de portadores do HBV e em sua infectiosidade.

A infecção pelo HBV, por sua vez, parece não alterar o curso da infecção pelo HIV, ao menos no que se refere à progressão para Aids. Em um estudo prospectivo, SINICCO et al. (1997), avaliando o risco de progressão para Aids em pacientes HBV e não HBV pertencentes a diferentes categorias de exposição, observaram que a taxa de

progressão, bem como a velocidade de queda dos níveis de linfócitos T CD4+, foram similares nos dois grupos. O tempo médio de seguimento desses pacientes foi de 3,5 anos.

Para pacientes com Aids estabelecida, no entanto, algumas considerações devem ser feitas: 1 - em vista do contínuo avanço no campo da terapêutica da Aids e do conhecimento de sua patogênese, a sobrevida desses pacientes tem aumentado progressivamente (LUNDGREN, 1994); 2 - a progressão da doença hepática causada por vírus hepatotrópicos como o HBV e o vírus da hepatite C – HCV tende a ser lenta. Assim, o real impacto da infecção por tais vírus pode ter sido subestimada em estudos realizados previamente à alteração do perfil evolutivo da Aids, isto é, quando a sobrevida era consideravelmente menor. Pacientes com hepatite crônica devida ao HBV, bem como ao HCV, estão sob risco maior de desenvolver complicações hepáticas, sobretudo na presença concomitante de outras infecções oportunistas, como as causadas por citomegalovírus e por micobactérias, por exemplo, ou ainda pela toxicidade hepática decorrente do uso de drogas anti-retrovirais (RODRIGUEZ-ROSADO, 1998; SULKOWSKI, 2000). OCKENGA et al.(1997), avaliando os efeitos da infecção por HBV e HCV em 232 pacientes com HIV (106 destes com diagnóstico de Aids), encontraram uma reduzida sobrevida no grupo de pacientes com Aids coinfectados pelo HBV (212 dias) ou HCV (267 dias), em comparação ao grupo controle, sem coinfecção (439 dias). Os achados mostram que, com o aumento da sobrevida dos pacientes com Aids, a coinfecção pelo HBV ou HCV pode vir a se tornar um importante problema clínico.

Do mesmo modo, um outro aspecto da coinfecção HIV & HBV que permanece obscuro até o momento refere-se à evolução a longo prazo da doença hepática causada pelo HBV. Não está claro se a menor atividade inflamatória decorrente da imunossupressão pelo HIV pode predispor o indivíduo coinfectado a um risco aumentado de desenvolver o carcinoma hepatocelular. Tal investigação requer a observação de grande número de pacientes por longos períodos de tempo, condição que vem se tornando possível somente nos últimos anos, com a introdução da terapia antiviral de alta potência.

A vacina contra hepatite B

A vacina derivada de plasma humano

O desenvolvimento de vacinas como forma de profilaxia contra uma doença infecciosa é notadamente uma das medidas de maior impacto em saúde pública. No caso da infecção pelo vírus da hepatite B, esse impacto pode ser considerado ainda mais significativo, uma vez que, mormente o aspecto da alta imunogenicidade induzida pelas vacinas disponíveis, a imunização previne ainda contra a infecção pelo vírus da hepatite D e contra o carcinoma hepatocelular. Em última análise, pode-se dizer que a vacina contra a hepatite B é a primeira vacina específica contra um câncer em seres humanos.

A primeira vacina contra hepatite B foi produzida por KRUGMAN et al.(1971), através do aquecimento do plasma diluído de um portador crônico do HBV e testada em seres humanos, com a obtenção de anticorpos anti-HBs e proteção contra a doença nos indivíduos vacinados. A eficácia e segurança da vacina derivada de plasma humano foram atestadas por estudos realizados por um grupo de pesquisadores americanos em chimpanzés (HILLEMANN, 1975; BUYNAK, 1976) e por ensaios clínicos iniciais realizados em seres humanos (MAUPAS, 1976; MAUPAS, 1978), resultando em sua introdução e licenciamento para uso em 1981. A primeira vacina derivada de plasma comercializada foi a Heptavax B, do laboratório Merck, Sharp & Dohme. O temor inicial da Aids, cuja patogenia pouco se conhecia, em decorrência do fato da vacina ser elaborada a partir do plasma de doadores, foi logo dissipado por evidências da pureza do antígeno utilizado, como revelou o trabalho de JACOBSON et al. (1984), pela demonstração da não indução de alterações em populações de linfócitos *in vitro* e *in vivo*.

A vacina derivada de plasma humano foi largamente utilizada e sua eficácia comprovada em diversos estudos, com índices de soroconversão de até 97% em crianças e de 95% em indivíduos adultos imunocompetentes em diferentes esquemas e dosagens (KRUGMAN, 1981; PAPAEOANGELOU, 1985; KAUFMANN, 1983; KRUGMAN & STEVENS, 1994).

Embora a vacina derivada de plasma apresentasse alta imunogenicidade e segurança, problemas como a disponibilidade de portadores crônicos do AgHBs e o custo da produção foram fatores limitantes para seu uso em programas de vacinação em massa. A

necessidade de uma fonte alternativa do antígeno utilizado para a fabricação da vacina levou ao desenvolvimento, por meio de técnicas de engenharia genética (recombinação de DNA em diversos hospedeiros celulares), da vacina atualmente em uso. O custo relativamente menor e a comparável eficácia da vacina de DNA recombinante resultaram no abandono do uso da vacina derivada de plasma e tornaram mais concretas as perspectivas de uma cobertura mais ampla e compreensiva em programas de vacinação em massa.

A vacina de DNA recombinante

Composição e apresentações

No processo de produção da vacina de DNA recombinante, o polipeptídeo AgHBs é expresso em células do fungo *Saccharomyces cerevisiae* através da inoculação de um plasmídeo que contém o gene para o AgHBs. O antígeno purificado é obtido pela lise das células do fungo e então separado dos componentes fúngicos por técnicas bioquímicas e biofísicas (PÊTRE, 1987; HAUSER, 1987). As diversas apresentações da vacina contêm entre 10 e 40 µg do antígeno HBs/mL adsorvidos ao hidróxido de alumínio (0,5mg/mL). O timerosal, na concentração de 1:20.000 é adicionado como preservativo. Sobre esse aspecto em particular, teceremos maiores comentários adiante.

Esquemas e doses

O esquema e a dose da vacina de hepatite B variam de acordo com a idade e fatores associados, como a presença de imunocomprometimento. A imunogenicidade da vacina contra hepatite B é avaliada com base em 3 parâmetros: a taxa de soroconversão, a taxa de soroproteção e o pico de título médio geométrico (Geometric Mean Titers – GMT) de anti-HBs. Soroconversão é definida como um aumento dos títulos de anti-HBs para um nível detectável pela técnica laboratorial. A soroproteção é definida por títulos de anticorpos superiores a 10mUI/ml. Esse nível de anticorpos é aceito como protetor pelo Comitê Consultor para Imunizações dos Estados Unidos – Advisory Committee for Immunization Practices (ACIP) e pelo grupo internacional de *experts* da OMS.

O esquema vacinal atualmente recomendado pela ACIP consiste de duas doses administradas com intervalo de 1 mês, seguidas de uma dose de reforço no sexto mês (esquema 0,1,6 meses) (Centers for Disease Control and Prevention – CDC, 1991).

A adoção do atual esquema fundamenta-se no conhecimento de que a terceira dose é capaz de induzir a uma resposta anamnésica potente e da necessidade de um esquema racional, que permita uma boa adesão ao esquema. Essa resposta anamnésica está diretamente relacionada ao momento da aplicação da terceira dose e é fator prognóstico da duração e intensidade da proteção conferida. JILG et al.(1989), comparando 3 esquemas diferentes (0, 1, 2 e 12 meses; 0, 1 e 6 meses e 0, 1 e 12 meses), observaram que os títulos de anticorpos são tão mais altos quanto mais tardia foi a terceira dose. A administração da terceira dose em esquema acelerado (0, 1 e 2 meses) induziu a uma rápida produção de anticorpos, porém em títulos mais baixos em comparação a esquemas em que a terceira dose é feita no sexto ou décimo segundo mês. Para MARSANO et al.(1996), entretanto, a rápida soroconversão e a melhor adesão obtidas no esquema 0, 1 e 2 meses seriam aspectos a serem considerados, uma vez que a soroproteção conferida ao 7º mês é semelhante à do esquema 0, 1 e 6 meses, se ponto de corte de 100 mUI/ml for utilizado como designador de boa resposta.

Em nosso país, o Ministério da Saúde recomenda o uso do esquema acelerado em situações onde é desejável a imunização mais rápida, como em trabalhadores da área da saúde, preconizando, porém, o uso de uma quarta dose aos 12 meses (esquema 0, 1, 2 e 12 meses), para garantir níveis protetores de anticorpos.

Havendo atraso entre a primeira e a segunda dose, esta deve ser administrada o mais rapidamente possível. A segunda e a terceira doses devem, então, ter um intervalo mínimo de 2 meses. Se apenas a terceira dose está em atraso, ela deve ser administrada quando for conveniente.

A imunogenicidade da vacina de hepatite B não é comprometida pela administração simultânea de outras vacinas (COURSAGET, 1986) nem de imunoglobulina anti-hepatite B. Não há evidências de risco para o uso da vacina na gravidez e na lactação.

Vias de administração

A vacina de hepatite B deve ser administrada por via intra-muscular, no músculo deltóide em adultos e crianças maiores. Em recém nascidos e lactentes pode ser feita no músculo vasto lateral da coxa. O motivo desta recomendação reside na menor taxa de soroconversão associada à injeção feita na região glútea. Logo do licenciamento da vacina derivada de plasma, em 1981, diversos relatos de resposta reduzida foram encaminhados ao Centers for Disease Control and Prevention – CDC (MCLEAN, 1982; LINDSAY, 1985; UKENA, 1985) e levaram à investigação, em instituições que haviam realizado a vacinação em profissionais da saúde, do local utilizado para a vacina e suas respectivas taxas de soroconversão. A resposta à vacina foi significativamente mais alta em centros que utilizaram a injeção do músculo deltóide, em comparação aos locais que também utilizaram a injeção no glúteo, o que determinou, em março de 1985, a recomendação do uso da vacina no braço.

No estudo de SHAW et al. (1989), os participantes foram randomizados para 3 grupos: 1 grupo recebeu a vacina na região deltóide e os 2 outros receberam no glúteo, utilizando 2 tipos de agulha. A resposta à vacina foi significativamente maior no grupo que recebeu a injeção no deltóide e, nos grupos que receberam a injeção no glúteo, a resposta foi fortemente dependente do comprimento da agulha, sendo maior no grupo que foi vacinado com uma agulha mais longa.

Uma possível explicação para o fenômeno é que a injeção no glúteo pode muitas vezes não atingir o músculo, permanecendo o inóculo no tecido adiposo (COCKSHOTT, 1982), retardando sua absorção e distribuição. Uma hipótese para a incapacidade de indução de resposta imune seria a relativa falta de células apresentadoras de antígeno ou de fagócitos nesta camada. Outro fator adicional pode ser a ação de enzimas locais, desnaturando o antígeno, uma vez que o mesmo permanece por horas ou dias no tecido adiposo.

A injeção de baixas doses por via intradérmica também foi investigada como uma estratégia para reduzir o custo da vacinação. Trabalhos iniciais com a vacina derivada de plasma revelaram que a imunogenicidade e reatogenicidade de 0,1ml (2 µg) do antígeno

aplicado por via intradérmica em esquema 0, 1 e 6 meses assemelhavam-se ao uso de 20 µg administrados em mesmo esquema pela via intramuscular (MILLER, 1983; REDFIELD, 1985). A taxa de soroconversão obtida no estudo de MILLER et al.(1983), realizado em 14 adultos, foi de 79% e no trabalho de REDFIELD (1985), de 96%, respectivamente. Os resultados promissores desses estudos preliminares levaram à condução de vários outros que revelaram graus de imunogenicidade diversos e, em geral, em grupos de número limitado de participantes. Em 1991, os resultados de um ensaio clínico com a vacina de plasma envolvendo 425 profissionais da saúde conduzido pelo CDC mostraram que a via intradérmica foi significativamente menos eficaz que a via intramuscular, tanto na taxa de soroconversão quanto na intensidade da resposta, guardando relação com fatores como sexo, tabagismo e idade (COLEMAN, 1991). Mulheres, não tabagistas, com idade inferior a 40 anos e do grupo que recebeu a injeção por via intramuscular tiveram mais chance de responder a vacina.

Resultados similares foram obtidos por STRUVE et al. (1992), com a vacina de DNA recombinante, em estudo realizado com 286 profissionais da saúde, comparando o uso de 2µg por via intradérmica e 20 µg por via intramuscular, ambos em esquema 0, 1 e 6 meses. A taxa de soroconversão observada foi de 89% no grupo que recebeu por via intradérmica e de 94% no grupo que recebeu a vacina por via intramuscular. No Brasil, BALDY (1995) obteve uma taxa de soroconversão de 81,5% em dentistas com a injeção de 2 µg da vacina de DNA recombinante por via intradérmica, e de 98,2% no grupo controle, constituído de profissionais da saúde que receberam 20µg por via intramuscular. Já STUCCHI (1996), utilizando um semelhante desenho de estudo em profissionais da saúde de um hospital universitário, observou as taxas de 59,9% e 92% para as vias intradérmica e intramuscular, respectivamente.

A dificuldade técnica, sobretudo em recém-nascidos e a variabilidade na responsividade, requerendo a realização de testagem sorológica pós-vacinal, permanecem como fatores limitantes para o uso da via intradérmica em programas de imunização, mas alguns autores têm sugerido que populações especiais, como pacientes hemodialisados, podem beneficiar-se dessa forma de administração em casos de revacinação, como será discutido adiante.

Efeitos adversos da vacina de DNA recombinante

As vacinas contra hepatite B atualmente licenciadas estão entre as mais seguras vacinas disponíveis (HADLER, 1992; CDC, 1991). As reações adversas usualmente limitam-se a manifestações locais (dor, sensibilidade, eritema, formação de nódulo) que duram de 1 a 2 dias e são referidas em até 22% das pessoas imunizadas (LEMON, 1997).

As manifestações sistêmicas são relatadas em pelo menos 1% dos indivíduos vacinados e caracterizam-se por fadiga, fraqueza, cefaléia, febre e mal estar. Outros eventos relatados em até 1% dos vacinados foram: náusea, diarreia, faringite e sintomas do trato respiratório superior. Na revisão de ANDRÉ (1990), após um total de 4,5 milhões de doses, havia o registro de apenas 307 relatos de efeitos adversos em questionários enviados por correio, quais sejam: náusea, rash, cefaléia, febre, mal estar, dor e desconforto locais, fadiga, sintomas influenza-símile, vômitos, tontura, prurido, artralgia, mialgia, diarreia, urticária, parestesia e sonolência. A frequência desses sintomas variou de 1:55.500 doses a 1:294.000 doses.

Outras manifestações raras que têm sido relacionadas à vacina são: anafilaxia (STRATTON, 1994), eritema nodoso (GOOLSBY, 1989), poliartrite (ROGERSON, 1990) e glomerulonefrite (CARMELI, 1993). A respeito da patogênese dessas reações adversas, CARMELI et al. (1993) apresentam uma interessante discussão, considerando a natureza imunológica das mesmas e a similaridade com o curso da infecção natural pelo HBV. Segundo estes autores, "é sabido que a infecção natural pelo HBV pode ocasionar uma gama de manifestações extra-hepáticas, cuja patogênese parece estar ligada à formação de imunocomplexos: poliartrite, poliarterite nodosa, eritema multiforme, eritema nodoso, uveíte, glomerulonefrite e síndrome de Guillain-Barré.

A produção de imunocomplexos *in vivo* não depende apenas da quantidade absoluta de antígenos ou de anticorpos mas também de suas proporções relativas, as quais determinam os tipos de complexos formados e sua distribuição pelo organismo. Quando há excesso de anticorpos, os imunocomplexos precipitam-se rapidamente e tendem a se restringir ao local da introdução do antígeno. O excesso de antígenos, por sua vez, determina a formação de complexos solúveis que podem ser depositados nos rins,

articulações, tecido nervoso e olhos, ocasionando, desse modo, manifestações sistêmicas. É possível que determinados efeitos adversos à vacina de hepatite B compartilhem da mesma patogênese das manifestações extra-hepáticas da doença, uma vez que a vacina é constituída do antígeno HBs. O relato de recorrência das manifestações após revacinação em alguns casos milita fortemente a favor dessa teoria.”

Há dois relatos de neurite optica e um caso de Síndrome de Guillain Barré (ANÔNIMO, 1990), um caso de ataxia cerebelar aguda (DEISENHAMMER, 1994) e um caso de leucoencefalite (MANNA, 1996) supostamente ligados ao uso da vacina.

Há alguns anos, casos de esclerose múltipla acompanhados ou não de processos desmielinizantes do Sistema Nervoso Central foram relatados e atribuídos ao uso da vacina de hepatite B (HERROELEN, 1991; KAPLANSKI, 1995; CAMPINS MARTI, 1998; TOURBAH, 1999, RENARD, 1999), determinando mesmo a interrupção da vacinação de rotina em alguns países de língua francesa. Revisões recentes concluíram que não há evidência científica de relação causal entre esses fenômenos e a vacina (MONTEYNE, 2000; SADOVNIK, 2000; ASCHERIO, 2001; DE STEFANO, 2001; CONFAYREUX, 2001).

O uso de timerosal como preservativo

O timerosal é um conservante à base de mercúrio utilizado como aditivo em vacinas e imunobiológicos desde 1930 devido à sua ação preventiva contra a desnaturação protéica, além de evitar a contaminação por fungos e bactérias, particularmente em containers multi-doses.

Como é amplamente reconhecida a necessidade de se reduzir a exposição ao mercúrio, em outubro de 1999 a ACIP apresentou uma revisão sobre seu uso em vacinas. Desde então, fabricantes, o Food and Drug Administration – FDA – e entidades de saúde pública têm atuado em colaboração com o objetivo de reduzir o conteúdo de timerosal das vacinas ou substituí-las por formulações que não o contêm sem, entretanto, causar desnecessárias interrupções nos programas de imunização. Já foram licenciadas e

distribuídas vacinas contendo apenas o antígeno, isto é, sem conservante à base de timerosal, dos principais produtores da vacina contra hepatite B (Merck&Co e SmithKline Beecham).

Essa preocupação diz respeito particularmente a recém nascidos e crianças pequenas, cuja exposição ao mercúrio poderia resultar em comprometimento do desenvolvimento neurológico, muito embora não exista, até o momento, nenhum registro de qualquer dano causado pelo nível de exposição decorrente da vacinação. Em um estudo, os autores compararam os níveis de mercúrio pré e pós vacinal em 15 recém-nascidos prematuros 5 recém-nascidos a termo, encontrando níveis significativamente mais altos nos prematuros (STAJICH, 2000). Segundo as recomendações do CDC, o uso de vacinas que não contêm o timerosal como conservante deve priorizar os recém-nascidos e crianças com menos de 6 meses. Para crianças com mais de 6 meses, adolescentes e adultos, as vacinas contendo preservativos ainda podem ser utilizadas (CDC, 2001).

Imunogenicidade da vacina contra hepatite B de DNA recombinante

Imunogenicidade da vacina em pacientes imunocompetentes

A vacina de DNA recombinante teve sua eficácia amplamente comprovada em diversos estudos. A extensa revisão de ANDRÉ (1990), contemplando 122 trabalhos que envolveram mais de 14.800 indivíduos vacinados, demonstrou que a vacina de DNA recombinante é tão eficaz e segura quanto a vacina derivada de plasma. Em sua análise, a vacina de DNA recombinante, em esquema de 0, 1, 2 ou 0, 1 e 6 meses levaram a altas taxas de soroconversão, variando entre 97 e 99%. A administração da terceira dose ao segundo mês produziu uma rápida elevação no GMT no terceiro mês. No entanto, os títulos de anti-HBs foram consistentemente mais altos quando a terceira dose foi administrada no sexto mês. Uma dose de reforço administrada 12 meses após a terceira dose no primeiro esquema (0, 1 e 2) mostrou-se capaz de elevar os títulos em mais de 100 vezes ao décimo terceiro mês. A resposta imune foi semelhante nos dois tipos de vacina com relação a idade e sexo: adultos com mais de 40 anos apresentaram pior resposta que adultos jovens e

homens apresentaram título geométrico médio menor que as mulheres, apesar da taxa de soroconversão similar. O GMT da vacina de DNA recombinante em adultos chegou a 6.484 mUI/ml em alguns lotes.

Duração da proteção conferida pela vacina de DNA Recombinante: a discussão sobre a dose de reforço (*booster*)

A proteção conferida pela vacina contra hepatite B depende fundamentalmente da memória imunológica, a qual permitirá uma resposta anamnésica a uma posterior exposição ao antígeno HBs. Embora a eficácia da vacina tenha sido bem estabelecida, não há um consenso no que se refere à duração desta proteção. Sabe-se, sim, que o título de anticorpos atingido logo após a vacinação é determinante na duração da proteção (HADLER, 1986; JILG 1988). Até o momento, parece não haver dados que sustentem a necessidade de uma dose de reforço em indivíduos imunocompetentes que tenham respondido ao esquema inicial (ACIP, 1991). Num estudo envolvendo uma população de alta endemicidade – 1.630 nativos do Alaska – que recebeu 3 doses da vacina derivada de plasma, WAINWRIGHT et al. (1997) relataram que após 10 anos de seguimento e com uma taxa de soroproteção inicial de 94%, 76% dos vacinados ainda mantinham níveis protetores de anticorpos. Apenas 13 (0,8%) dos vacinados apresentaram evidência de infecção (anti-HBc), sem sinais de doença clínica.

Numa coorte de profissionais da saúde da Argentina que receberam a vacina de DNA recombinante (Engerix B – Smith Kline Beecham), DURLACH et al. (2000) observaram que 5 anos após a vacinação, 98% de 117 profissionais (de um total inicial de 308 vacinados) ainda mantinham títulos protetores de anticorpos. A proteção se manteve após 10 anos da vacinação em 88,8% dos profissionais que restaram na coorte (27). Já BARNAS & HANACIK (1988), utilizando uma análise de tábua de vida, calcularam que apenas 55% dos profissionais de saúde vacinados em seu serviço mantinham títulos protetores de anticorpos 4 anos após a vacinação.

É sabido que o nível de anticorpos anti-HBs sofre considerável declínio (em torno de 90%) nos primeiros 21 a 24 meses, seguido por uma redução mais lenta (50%) em 2 a 4 anos (JILG, 1984; JILG1988). A manutenção dos níveis de anticorpos acima de 10 mUI/ml, entretanto, parece não ser essencial para assegurar a proteção contra a hepatite B em indivíduos que responderam inicialmente ao curso de 3 doses da vacina. Esse dado é sustentado por alguns estudos que sugerem uma boa memória imunológica mesmo em pessoas que perderam os níveis de anticorpos ao longo do tempo. WISMANS et al. (1989) acompanharam 38 pacientes respondedores ao esquema de 3 doses da vacina derivada de plasma por 30 meses, administrando uma dose de reforço ao fim deste período. Os resultados mostraram um considerável aumento dos títulos de anti-HBs, mesmo naqueles cujos títulos haviam decaído a níveis inferiores a 10 mUI/ml, sugerindo que a vacinação induz à uma eficiente memória imunológica e fazendo da revacinação uma medida supérflua para os que previamente responderam adequadamente à vacina.

As bases fisiopatológicas para o fenômeno residem no fato de que a proliferação clonal após exposição inicial ao antígeno dá origem a populações de linfócitos B de memória. Uma subsequente exposição ao antígeno específico levaria a uma pronta resposta do sistema imune, com rápida proliferação e diferenciação linfocitária e produção de anticorpos anti-HBs em 3 a 5 dias, como foi demonstrado no trabalho de WISMANS et al.(1989). Como a infecção naturalmente adquirida apresenta um período de incubação que varia de 4 a 12 semanas, a rápida ativação de linfócitos de memória poderia prevenir ou reduzir a severidade da infecção. Num outro estudo, que acompanhou 465 profissionais hospitalares com história vacinal conhecida por até 15 anos, BOLAND et al. (1995), observaram que até 30% destes tinham títulos de anti-HBs abaixo de 10 mUI/ml. Todos eles apresentaram evidências de estarem imunologicamente sensibilizados após uma dose de reforço, através de técnica de spot-ELISA que quantifica os linfócitos B produtores de anti-HBs.

Essa interação entre as respostas humoral e celular na proteção induzida pela vacinação foi bem demonstrada por LEROUX-ROELS et al.(1994) em um estudo que correlacionou a resposta humoral *in vivo* e a resposta celular *in vitro*, utilizando um teste de linfoproliferação com especificidade para o antígeno HBs. Noventa e cinco por cento dos

respondedores rápidos mostraram uma clara resposta linfoproliferativa *in vivo*, em contraste com os maus respondedores, trazendo à luz a dúvida sobre o motivo de alguns indivíduos apresentarem uma resposta celular menos vigorosa, com uma concomitante pior resposta humoral.

A duração dessa memória imunológica permanece desconhecida, mas, aparentemente, não há justificativa para se revacinar indivíduos saudáveis que tenham respondido ao esquema inicial e não pertencem a grupos de risco para infecção por HBV, como os profissionais da saúde, por exemplo. Sobretudo porque as medidas de prevenção da hepatite B envolvem ainda outras estratégias e abordagens (comportamentais, educacionais etc.) que devem ser considerados no que tange ao aspecto custo/benefício. Assim, as recomendações para o uso de doses de reforço foram revisadas recentemente pelo Consenso Europeu, visando sua utilização racional sobretudo em populações de risco (EUROPEAN CONSENSUS, 2000).

1. Para crianças e adolescentes: não há evidências da necessidade de doses de reforço.
2. Para profissionais da área da saúde que apresentaram resposta inadequada ao esquema vacinal, recomenda-se a investigação de marcadores de infecção passada (AgHBs, anti-HBc) e a administração de uma dose de reforço, repetindo a sorologia de controle pós vacinal. Considerar a imunização passiva nos casos de exposição ao antígeno.
3. Para usuários de droga injetável, a sorologia pós vacinal só deve ser considerada naqueles que apresentarem imunodeficiência, como os portadores do HIV. O mesmo se aplica a indivíduos que apresentam comportamento sexual de alto risco, pacientes de instituições psiquiátricas e contatos domiciliares de portadores crônicos do AgHBs.
4. Para indivíduos imunossuprimidos tais como pacientes com Insuficiência Renal Crônica e portadores do HIV, no entanto, a dose de reforço é recomendada, bem como a realização de sorologia pós vacinal a cada 6 ou 12 meses.

Fatores relacionados à resposta imune reduzida

Entre 5 a 10% das pessoas saudáveis não apresentam níveis adequados de anticorpos após a vacina de hepatite B. As razões para essa falta de resposta permanecem desconhecidas mas possivelmente envolvem múltiplos aspectos, incluindo determinação genética.

A associação entre baixa imunogenicidade e idade avançada foi destacada já nas primeiras séries de imunização em larga escala e confirmada posteriormente por outros estudos (DENIS, 1984; JILG, 1989; TORRELL, 1990; ROOME, 1993; WOOD, 1993; CLEMENTS, 1994). Na maioria dos estudos há concordância quanto a uma tendência à pior resposta na população masculina, quando considerados os títulos de anticorpos secundários à vacinação, embora a taxa de soroconversão seja semelhante à da população feminina.

A obesidade é outro fator que tem sido associado à baixa resposta em vários estudos. WEBER et al. (1985) utilizaram o Índice de Massa Corpórea (IMC) como marcador de obesidade para avaliar a resposta em 194 indivíduos que receberam a vacina de hepatite B derivada de plasma no glúteo. Além da taxa global relativamente menor que a população geral (55,7%), o autor observou que o IMC foi significativamente maior no grupo dos não respondedores (29,7 nos respondedores x 32,8 nos não respondedores, $p = 0.002$). Resultados semelhantes foram encontrados por ROOME et al. (1993) ao utilizarem a vacina de DNA recombinante.

A influência do tabagismo na função imune, diminuindo a capacidade de resposta às vacinas, foi inicialmente descrito por FINKLEA et al. (1971) pela demonstração de uma menor persistência de anticorpos inibidores da hemaglutinação após infecção natural ou imunização com o antígeno influenza A2 em tabagistas. Essa associação também se confirmou com o uso da vacina de hepatite B em vários estudos posteriores (SHAW, 1989; HOLLINGER, 1989; WOOD, 1993; ROOME, 1993; WINTER, 1994; BOCK, 1996).

A determinação genética também tem sido pesquisada como potencial causa de não resposta em indivíduos saudáveis. A participação do complexo maior de histocompatibilidade (MHC) na regulação da resposta imune e na susceptibilidade a doenças já é de longa data conhecida (STASTNY, 1983). USONIS et al. (1986) encontraram uma significativa diferença na manifestação de HLA DR7 entre respondedores e não respondedores à vacina derivada de plasma, sendo esse antígeno mais freqüente em indivíduos não respondedores. Esse achado também é reportado por CRAVEN et al. (1986) e ratificado por WEISSMAN et al. (1988). ALPER et al. (1989), investigando perfis imunogenéticos que se associavam à resposta à vacina, observaram que indivíduos homozigotos para o haplótipo MHC [HLA-B8, SC01, DR3] apresentavam pior resposta, propondo que a resposta à vacina se deva à presença de um gene dominante no MHC e que a incapacidade de resposta seja consequência da ausência de tal gene e a presença em homozigose de haplótipos tais como o MHC [HLA-B8, SC01, DR3]. Esse gene codificaria o fator C4A, da cadeia de complemento, essencial na regulação da resposta imune humoral.

Outros fatores citados como associados à pior resposta são: Diabetes Melitus tipo 1 (POZZILI, 1987), soropositividade para anticorpos anti-HCV (KAMEL, 1994) e stress (PETRY, 1991; JABAIIJ, 1992).

Além disso, há os fatores ligados à manipulação da vacina, sobretudo o congelamento da vacina, que pode precipitar o antígeno e determinar sua inutilidade.

Imunogenicidade da vacina de hepatite B em pacientes imunocomprometidos

A parcela da população constituída por indivíduos que apresentam alguma forma de imunocomprometimento representa uma constante preocupação para os programas de imunização, sobretudo porque a maioria desses indivíduos sob alto risco – pacientes em diálise, hemofílicos, portadores do HIV – são também os que pior respondem à vacinação. Em algumas situações, as recomendações orientam-se quase que exclusivamente em considerações teóricas, uma vez que estudos nessas populações devem contemplar diversos aspectos da fisiopatologia da doença e suas interações com o sistema imune.

Desde o licenciamento da vacina derivada de plasma e, a seguir, da vacina de DNA recombinante, diversos trabalhos evidenciaram uma resposta insuficiente dessas populações à vacinação.

Em pacientes submetidos à hemodiálise, a taxa de soroconversão a ambas as vacinas revelou-se inferior à população geral, apresentando algumas variações nos diversos trabalhos mas, em geral não ultrapassando a taxa de 70% (GROB, 1983; DESMYTER, 1983; DOCCI, 1992; BUTI, 1992). O uso de dose dobrada (40 µg) foi claramente associado a uma resposta mais eficaz em pacientes com insuficiência renal crônica e submetidos a diálise (BRUGUERA, 1990; GUAN, 1990; FUJIYAMA, 1990) e é advogado pela ACIP desde 1991.

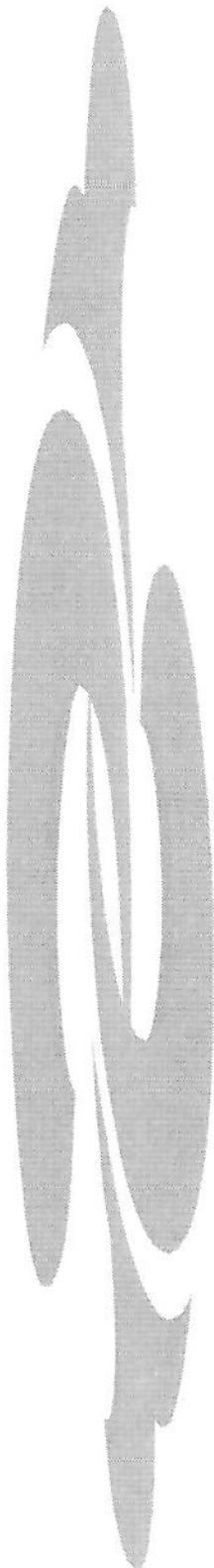
A implicação da infecção pelo HIV na baixa resposta à vacina surgiu possivelmente da observação dos estudos realizados em homossexuais, usuários de drogas e hemofílicos. Avaliando a duração da proteção da vacina de hepatite B em homossexuais do sexo masculino, HADLER et al. (1986), reportaram a diminuição dos níveis de anticorpos em até 42% dos indivíduos ao longo de 5 anos de observação. Essa taxa possivelmente resultou da inclusão de não documentados casos de portadores do HIV. No mesmo ano, ZANETTI et al., estudando a resposta da vacina em crianças e adultos hemofílicos, observou que os pacientes portadores do então denominado HTLV-III apresentavam respostas menos intensas que aqueles não infectados. Entre os usuários de drogas injetáveis, RUMI et al. (1988) observaram uma taxa de soroconversão de 76%, contra 97% nos controles (indivíduos saudáveis). O *status* sorológico dos vacinados em relação ao HIV era desconhecido.

Postulando que a taxa de soroconversão encontrada por HADLER et al. (1986) em homossexuais devia-se à inclusão de pacientes HIV, BIGGAR et al. (1987) analisaram retrospectivamente os marcadores de hepatite B das amostras séricas de outra coorte de homossexuais do sexo masculino em dois momentos, 1982 e 1986. Nenhum dos participantes tinha história de vacinação contra hepatite B, de modo que a positividade para marcadores foi atribuída à infecção natural. Entre os pacientes que desenvolveram imunossupressão em decorrência da infecção pelo HIV à época da segunda testagem, 43%

não mais apresentavam anticorpos anti-HBs, diferentemente daqueles que não foram infectados ($p < 0.05$), levando os autores a concluir que a imunodepressão tenha sido responsável pelo rápido declínio da proteção naturalmente adquirida.

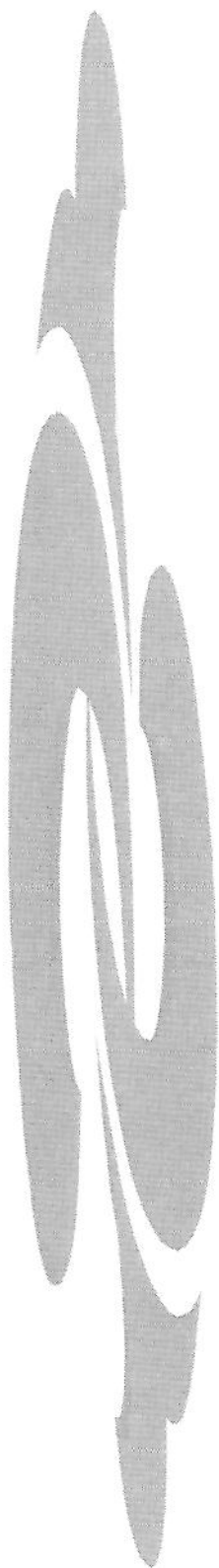
Na análise retrospectiva de 137 pacientes hemofílicos que haviam recebido a vacina derivada de plasma, DRAKE et al. (1987) encontraram uma significativa diferença na taxa de soroconversão entre portadores e não portadores do HIV (50% e 93%, respectivamente). Esses achados encorajaram a condução de outras pesquisas, desenhadas com o fim específico de avaliar a resposta à vacina nessa população. Estudos subsequentes, utilizando tanto a vacina de plasma quanto a vacina de DNA recombinante, confirmaram uma marcante redução da responsividade entre pacientes com HIV e a necessidade de se avaliar o uso de diferentes regimes, doses mais altas e vias alternativas de administração.

Nesse contexto, o Ministério da Saúde vem preconizando, desde 1998, o uso de dose dobrada ($40\mu\text{g}$) em pacientes infectados pelo HIV, considerando, a exemplo dos pacientes submetidos a hemodiálise, que esses indivíduos estejam sob risco de desenvolver resposta inadequada ao esquema habitual. Não há estudos avaliando a eficácia e duração da proteção conferida por este esquema, tampouco considerando-se as consequências da mudança no perfil evolutivo da Aids observada nos anos recentes em decorrência do advento da terapia anti-viral de alta potência.



2. OBJETIVOS

1. Avaliar a imunogenicidade e reatogenicidade da vacina de DNA recombinante contra hepatite B em pacientes infectados pelo HIV.
2. Identificar fatores de risco para baixa responsividade à vacina, quais sejam:
 - sexo e idade;
 - tabagismo;
 - índice de massa corpórea;
 - estadiamento clínico em relação à Aids;
 - status imunológico, avaliado através de contagem de linfócitos T CD4;
 - atividade da doença, indicada por quantificação da carga viral;
 - uso de anti-retrovirais.
3. Avaliar a imunogenicidade de uma dose adicional em pacientes não respondedores ao esquema de 3 doses.



3. MATERIAL E MÉTODOS

Pacientes

Pacientes do Ambulatório de Moléstias Infecciosas, do Ambulatório de portadores do HIV (ambos serviços do Hospital de Clínicas) e do Ambulatório Municipal de DST e Aids de Campinas que preencheram os critérios de inclusão e consentiram em participar do estudo foram entrevistados segundo questionário padronizado (anexo 3) e orientados em todos os aspectos relativos à vacinação, inclusive sobre eventuais reações adversas.

Foram considerados elegíveis para o estudo os pacientes que apresentavam infecção pelo HIV, definida conforme critérios do Ministério da Saúde (2 testes ELISA e 1 comprovatório por outra técnica) com idade igual ou superior a 14 anos e marcadores AgHBs, anti-HBc e anti-HBs não reagentes.

Os pacientes que apresentavam os marcadores AgHBs ou anti-HBc reagentes ao momento da entrevista inicial foram excluídos do estudo, assim como aqueles que vieram a apresentar alguma evidência de infecção pelo HBV – traduzida pela presença do marcador anti-HBc – durante o seguimento clínico. Também foram excluídos do estudo pacientes gestantes.

O projeto foi submetido à apreciação do Comitê de Ética em Pesquisa.

Vacina contra hepatite B

O Centro de Referência para Imunobiológicos Especiais do Hospital de Clínicas da Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP) tem oferecido rotineiramente a vacina contra hepatite B a pacientes infectados pelo HIV soronegativos para os marcadores AgHBs, anti-Hbc e anti-Hbs do Hospital de Clínicas da UNICAMP desde julho de 1995.

As vacinas empregadas neste estudo foram a Euvax B®, do laboratório LG Chemical Ltd. e a Engerix B®, do laboratório Smith Kline Beecham, de DNA recombinante. A dose utilizada foi de 2ml (40µg), por ser esta a dose preconizada nas

normas do Ministério da Saúde para pacientes infectados pelo HIV. As vacinas foram fornecidas pelo Ministério da Saúde como parte do programa de imunobiológicos especiais deste serviço.

Esquema e via de administração

O esquema utilizado foi o de 3 doses com intervalo mínimo de 30 dias entre a 1ª e a 2ª dose e de 5 meses entre a 2ª e a 3ª dose.

Nos casos em que houve atraso entre a 1ª e a 2ª dose, a 3ª dose foi administrada com intervalo de pelo menos 2 meses da 2ª dose.

A via de administração utilizada foi a intramuscular, no músculo deltóide, por pessoal treinado.

Os pacientes que não apresentaram soroproteção, definida como títulos de anticorpos anti-HBs superiores ou iguais a 10 mUI/ml, receberam uma dose adicional, 1 a 6 meses após terceira dose.

As doses da vacina foram administradas por pessoal treinado e em um único local – o Centro de Imunobiológicos Especiais do Hospital de Clínicas da UNICAMP – e foram seguidos prospectivamente.

Avaliação clínica

Na ocasião da primeira entrevista foram registrados o peso e a altura dos participantes para obtenção do Índice de Massa Corpórea, a relação do peso em kilogramas pela altura em metros elevada ao quadrado. A obesidade foi caracterizada segundo critérios do Consenso Latino Americano sobre obesidade (1998) para definição de risco, a saber: IMC de 25 a 29,9 = pré-obesidade ou sobrepeso; 30 a 34,9 = obesidade grau I; 35 a 39,9 = obesidade grau II; maior que 40 = obesidade grau III ou extrema.

Os pacientes foram ainda inqueridos quanto ao consumo de cigarros. O tabagismo foi definido como consumo de 10 ou mais cigarros por dia.

O estadiamento clínico (segundo critérios do CDC, 1992) foi registrado no momento da primeira dose e posteriormente, no final do esquema vacinal, desde que os valores de CD4 fossem disponíveis (anexo II). Além do estadiamento clínico, condições associadas, como doenças crônicas degenerativas, foram investigadas.

Quanto ao uso de medicamento anti-retroviral, os pacientes foram divididos em 3 grupos:

- pacientes que não estavam recebendo anti-retrovirais;
- pacientes que utilizavam 2 inibidores da transcriptase reversa;
- pacientes que utilizavam 2 inibidores da transcriptase reversa associados a outra(s) droga(s) (inibidores da protease ou inibidores não nucleosídeos da transcriptase reversa).

Os anti-retrovirais disponíveis utilizados nos esquemas foram:

- Inibidores da transcriptase reversa: AZT (Zidovudina), DDI (Didanosina), 3TC (Lamivudina) e D4T (Estavudina);
- Inibidores da transcriptase reversa não nucleosídeos: Nevirapina, Delavirdina e Efavirenz;
- Inibidores da protease: Indinavir, Ritonavir, Saquinavir, Nelfinavir.

O registro de reações adversas deu-se de duas maneiras:

- imediato: diretamente referidas ao entrevistador ou ao Centro de Imunobiológicos por telefone;
- mediato: relatadas nas visitas subsequentes ao médico assistente, mediante inquérito. Foi solicitado ao paciente o relato de qualquer efeito adverso ocorrido nos 3 dias subsequentes à vacinação.

As reações adversas foram classificadas em locais e sistêmicas. Como reações locais foram consideradas as seguintes manifestações: irritação, eritema e induração de caráter transitório (até 48 horas). As seguintes manifestações foram consideradas reações sistêmicas: febre, mal-estar, cefaléia, mialgia, fadiga, vertigem, síncope, hipotensão, artrite, artralgia, linfadenopatia, exantema, urticária, dor abdominal, diarreia, vômitos, náuseas.

Avaliação laboratorial

O estado imune foi avaliado através de contagem de linfócitos CD4 por técnica de citometria de fluxo no período de 30 dias antes ou após o início do esquema. Nova avaliação foi realizada 1 a 6 meses após a administração da última dose. O exame é rotineiramente feito no laboratório de Aids do Serviço de Moléstias Infecciosas. Também foi realizada a quantificação da carga viral (técnica NASBA – amplificação de ácidos nucleicos por sequenciamento).

A resposta específica foi determinada por meio de sorologia quantitativa de anticorpos anti-HBs, por técnica de enzima-imunoensaio (ELISA) utilizando-se kit do laboratório Abott, no período de 1 a 6 meses após a última dose (nos esquemas de 3 e 4 doses). Resposta adequada foi definida como títulos ≥ 10 mUI/ml. A resposta à vacina foi ainda categorizada em ausência de resposta (títulos < 10 mUI/ml), resposta fraca (títulos entre 10 e 100 mUI/ml) e boa resposta (títulos > 100 mUI/ml).

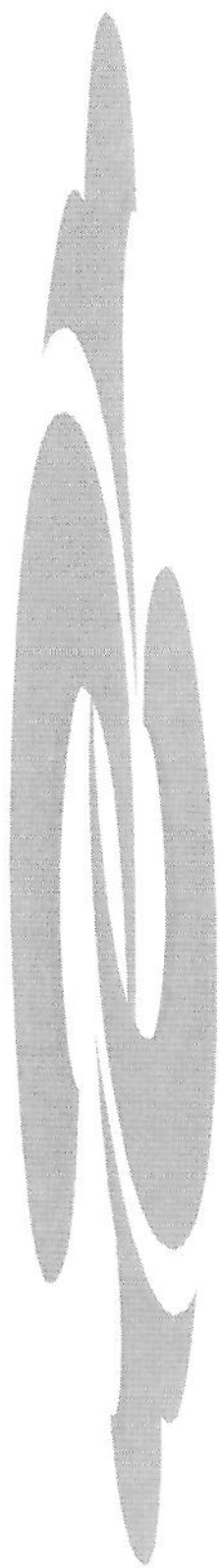
Todos os exames foram realizados no laboratório central do Hospital de Clínicas da UNICAMP.

Análise estatística

Na análise univariada, foram utilizados os testes de Qui-quadrado ou exato de Fisher (quando necessário) para variáveis categóricas e o teste t de Student ou Mann-Whitney para variáveis contínuas. O nível de significância adotado foi de 5% ($p < 0,05$) e a medida de associação foi o Risco Relativo.

Para a análise multivariada, foi utilizado o modelo de Regressão Logística, com modelo logito para variável dicotômica e para variável politômica. Após regressão logística univariada, foram selecionadas as variáveis mais significativas ($p < 0,20$) e ajustadas, com critério *Stepwise* de seleção de variáveis.

Para análise e processamento dos dados foram utilizados os softwares Epi Info 6.04, Epi Info 2000 e Statistica.



4. RESULTADOS

Características da população de estudo

De março de 1998 a junho de 2000, 126 pacientes iniciaram o esquema de vacinação. Deste total, 17 pacientes foram excluídos do estudo: 9 não realizaram a sorologia de controle pós vacinal, 5 não terminaram o esquema de vacinação e 3 manifestaram o marcador anti-HBc durante o seguimento.

Cento e nove pacientes completaram o esquema de 3 doses e tiveram a avaliação sorológica pós vacinal. Sessenta e seis pacientes (60,5%) iniciaram o esquema com a vacina Engerix B (Smith Kline) e 43 (39,5%), com a vacina Euvax (LG).

A seguir, a descrição dos 3 pacientes que manifestaram anti-HBc:

- Caso 1: sexo masculino; 30 anos; tabagista; IMC = 24,3; categoria de exposição sexual; CD4 inicial = 527/mm³; CD4 final = 585/mm³; carga viral inicial = 3.200 cópias/ml (log 3,5); carga viral final não disponível; classificação pelo CDC - C1; patologias pregressas – tuberculose tratada e sorologia positiva para HCV; em uso de AZT e 3TC; sorologia 5 meses após última dose revelou anti-HBc sem anti-HBs.
- Caso 2: sexo masculino; 32 anos; tabagista; IMC = 24,6; categoria de exposição sexual; CD4 inicial = 767/mm³; CD4 final = 600/mm³; carga viral inicial = 660 cópias/ml (log 2,8); carga viral final = 190 (log 3,9); classificação pelo CDC - A1; sem patologias associadas; em uso de D4T e 3TC; sorologia 2 meses após última dose revelou anti-HBc e anti-HBs (150 mUI/ml).
- Caso 3: sexo masculino; 34 anos; não tabagista; IMC = 26,9; categoria de exposição sexual; CD4 inicial = 416/mm³; CD4 final = 432/mm³; carga viral inicial = 49.953 cópias/ml (log 4,7); carga viral final não disponível; classificação pelo CDC - A2; sem patologias associadas; em uso de AZT, 3TC e Indinavir; sorologia 4 meses após última dose revelou anti-HBc e anti-HBs (26 mUI/ml).

Distribuição da amostra estudada segundo sexo, idade e categoria de exposição

A distribuição da população com relação ao sexo foi homogênea: dos 109 pacientes, 62 (56,9%) eram do sexo feminino e 47 (43,1%), do sexo masculino.

A idade variou de 15 a 56 anos em toda a amostra, com média de 33 e mediana de 32 anos (intervalo interquartil: 29 – 37 anos) e foi comparável em ambos os sexos. No sexo feminino, variou de 15 a 51 anos (intervalo interquartil: 27 – 36 anos; mediana: 31 anos) e no sexo masculino, de 22 a 56 anos (intervalo interquartil: 30 – 39 anos; mediana: 33 anos). Categorizando-se a idade em 3 estratos, tivemos: 46 (42,2%) pacientes com idade menor ou igual a 30; 43 (39,4%) com idade entre 31 e 40; 20 (18,3%) com idade maior ou igual a 40 anos.

Quanto à categoria de exposição ao HIV, houve uma predominância da via sexual em relação à sangüínea (sexual = 90,9% x sangüínea = 9,1%). Entre os 99 pacientes que relataram ter sido contaminados por relações sexuais, 60,6% eram mulheres e 39,4% eram homens. Todos os 10 pacientes que adquiriram a infecção pela via sangüínea relataram o uso de drogas como forma de contaminação. Entre estes, 8 (80%) eram do sexo masculino e 2 (20%) do sexo feminino.

Distribuição da população segundo tabagismo e obesidade

Trinta e quatro dos 109 pacientes eram tabagistas (31,2%): 17 do sexo feminino e 17 do sexo masculino.

O IMC da amostra variou de 15 a 35 com média de 23,9 e mediana de 24,2. Quarenta e dois pacientes (38,5%) apresentaram IMC igual ou superior a 25. Destes, 36 (33,0% do total) tinham sobrepeso (IMC entre 25 e 30), 21 mulheres (58,3%) e 15 homens (41,7%).

Apenas 6 dos 109 pacientes (5,5%) foram classificados como portadores de obesidade tipo I (IMC>30): 4 mulheres (66,7%) e 2 homens (33,3%). Nenhum paciente apresentou obesidade grau II ou III.

Distribuição da população segundo uso de anti-retrovirais

Dezesseis pacientes (14,7%) não utilizavam anti-retrovirais, 35 (32,1%) faziam uso de esquema contendo 2 inibidores da transcriptase reversa e 58 (53,2%) utilizavam esquema com 2 inibidores da transcriptase reversa associados a outra(s) droga(s) (inibidores da protease ou inibidores da transcriptase reversa não nucleosídeos).

Distribuição da população segundo contagem de linfócitos T CD4 e estadiamento clínico da infecção pelo HIV

A contagem de linfócitos CD4 do início da vacinação foi obtida em 101 pacientes e variou de 14 a 1201 céls/mm³, com média de 413 e mediana de 367 céls/mm³. Não houve diferença significativa dos valores de CD4 entre sexo feminino e masculino.

Estratificando-se os pacientes de acordo com a contagem de CD4 em 3 categorias – até 200, de 200 a 500 e acima de 500 céls/mm³, obtivemos a seguinte distribuição: 19 (17,4%) tinham CD4 até 200 céls/mm³, 48 (44,0%), entre 201 e 500 céls/mm³ e 34 (31,1%), acima de 500 céls/mm³. A contagem final foi obtida em 100 pacientes e variou de 7 a 1325 céls/mm³ com média de 437 e mediana de 403 céls/mm³. Treze (13%) pacientes tinham CD4 até 200 céls/mm³; 55 (55%), entre 201 e 500 céls/mm³ e 32 (32%), mais de 500 céls/mm³.

Quanto ao estadiamento, 65 dos 101 pacientes (59,6%) encontravam-se assintomáticos ou no estágio A: 29 (26,6%) no grupo A1; 29 (26,6%) no grupo A2 e 7 (6,4%). Nove pacientes eram do estágio B: 1 (0,9%) no grupo B1; 5 (4,5%) no grupo B2 e 3 (2,7%) no grupo B3. Vinte e oito pacientes encontravam-se no estágio C: 2 (1,8%) no grupo C1; 17 (15,5%) no grupo C2 e 9 (8,2%) no grupo C3.

Distribuição da amostra estudada segundo quantificação de carga viral

A carga viral foi mensurada em 84 pacientes no início do esquema vacinal. A média foi de 3,7 e a mediana de 3,6 log, variando de 1,7 a 6,9 log., sem diferença significativa entre os sexos. A carga viral final foi disponível em 83 pacientes, variando de 1,6 a 5,8 log., com média de 3,2 e mediana de 3,1 log., sem diferença entre os sexos. As características da amostra estudada encontram-se nas tabelas 1 e 2.

Tabela 1: Características dos 109 pacientes portadores do HIV que receberam a vacina recombinante contra hepatite B (variáveis categóricas)

Variável		Freq. absoluta (n/n)	Freq. relativa (%)
Sexo	Feminino	62/109	56,9
	Masculino	47/109	43,1
Categoria de exposição	Sexual	99/109	90,8
	Sangüínea	10/109	9,2
Faixa etária (anos)	Até 30	46/109	42,2
	de 31 a 40	43/109	39,4
	mais de 40	20/109	18,3
Tabagismo		75/109	68,8
Sobrepeso (IMC > a 25)		34/109	33,7
Uso de Anti-retrovirais	Nenhum	16/109	14,7
	2 drogas	35/109	32,1
	3 ou mais drogas	58/109	53,2
Contagem inicial de CD4 (cél/mm3)	< a 200	19/101	18,8
	de 201 a 500	48/101	47,5
	> 500	34/101	33,7
Contagem final de CD4 (cél/mm3)	< a 200	13/100	13,0
	de 201 a 500	55/100	55,0
	> 500	32/100	32,0
Estadiamento	A	65/101	64,4
	B	9/101	8,9%
	C	27/101	26,7%

Tabela 2: Características dos 109 pacientes portadores do HIV que receberam a vacina recombinante contra hepatite B (variáveis contínuas)

Variável	Média/Mediana	Intervalo
Idade (anos)	32/32	15 - 56
Contagem de CD4 inicial (cél/mm ³)	413/367	14 - 1201
Contagem de CD4 final (cél/mm ³)	437/403	7 - 1325
Carga viral inicial (log ₁₀)	3,8/3,6	1,7 - 6,9
Carga viral final (log ₁₀)	3,2/3,1	1,6 - 5,8

Comorbidades

No momento da primeira entrevista, os pacientes foram inqueridos quanto à presença de comorbidades que não as patologias relacionadas à evolução da Aids. Dezesesseis pacientes apresentavam comorbidades. Nenhum paciente fazia uso de corticóide sistêmico. A seguir, as frequências de registro de comorbidades observadas na amostra estudada:

- Diabetes Melitus tipo II – 3 pacientes (2,7%);
- Hipertensão arterial – 7 pacientes (6,4%);
- Etilismo crônico – 1 paciente (0,9%);
- Síndrome de Gilbert – 1 paciente (0,9%);
- Dislipidemia não relacionada a uso de anti-retrovirais – 1 paciente (0,9%);
- Bócio atóxico – 1 paciente (0,9%);
- Artrite gotosa – 1 paciente (0,9%);
- Psoríase – 1 paciente (0,9%);

Reações adversas

Vinte pessoas (18,3%) relataram a ocorrência de reações adversas: 19 pessoas referiram dor local de leve intensidade; 1 paciente relatou mal estar geral e mialgia que persistiu por período de 48 horas, reação considerada sistêmica. Nenhum paciente necessitou intervenção clínica devido às reações.

Resposta ao esquema de 3 doses

Taxa geral de soroconversão

Soroconversão foi observada em 65 dos 109 pacientes (59,6%). Categorizando-se a resposta de acordo os títulos de anticorpos anti-HBs, encontramos a seguinte distribuição:

- 45 (41,3%) apresentaram títulos menores que 10 mUI/ml;
- 17 (15,6%) apresentaram títulos entre 10 e 100 mUI/ml;
- 47 (43,1%) apresentaram títulos maiores que 100 mUI/ml.

Variáveis não associadas à resposta ao esquema de 3 doses

Na análise univariada, as variáveis sexo, idade, categoria de exposição, IMC maior que 25, estadiamento clínico, vacina utilizada e carga viral não foram associadas à resposta à vacina.

Não houve diferença estatisticamente significativa entre respondedores e não respondedores quanto ao sexo. Vinte e sete dos 47 pacientes do sexo masculino (57,4%) e 38 dos 62 pacientes do sexo feminino (61,3%) apresentaram resposta à vacina ($p=0,65$).

A mediana de idade entre os respondedores foi de 31 anos (intervalo: 15 – 56) e entre os não respondedores, de 34 anos (intervalo: 19 – 54) ($p=0,07$).

Quanto à categoria de exposição, 5 de 10 pacientes que relataram a via sangüínea (50,0%) e 60 de 99 que relataram a via sexual (60,6%) responderam à vacina ($p=0,73$).

Vinte e três dos 38 pacientes que tinham IMC maior ou igual a 25 (60,5%) e 42 dos 71 pacientes com IMC menor que 25 (59,2%) apresentaram resposta à vacina ($p=0,44$).

Quanto ao estadiamento da infecção pelo HIV, 40 de 65 pacientes do estadio A (61,5%) ($p=0,31$), 5 de 9 dos pacientes do estadio B (55,6%) ($p=0,60$) e 16 de 27 pacientes do estadio C (59,3%) ($p=0,52$) responderam à vacina.

Trinta e oito dos 66 pacientes que receberam a vacina Engerix B (Smith Kline) (57,6%) e 27 dos 43 que receberam a vacina Euvax (LG Chemicals) (62,8%) responderam adequadamente ao esquema ($p=0,70$).

A carga viral inicial também não foi associado à resposta. A mediana de carga viral entre os não respondedores foi de 3,9 log (intervalo 2,3 – 5,9) e entre os respondedores foi de 3,6 log (intervalo 1,7 – 6,9) ($p=0,09$).

As variáveis que não foram significativamente associadas à resposta à vacina encontram-se na tabela 3 e 4.

Tabela 3: Variáveis categóricas não associadas à resposta (títulos de anti-HBs $\geq$ a 10mUI/ml), utilizando-se esquema de 3 doses de vacina recombinante contra hepatite B em 109 portadores do HIV.

Variável	Expostos		Não Expostos		RR (95% IC)	Valor p
	n/n	(%)	n/n	(%)		
Sexo Masculino	27/47	57,4	38/62	61,3	0,9 (0,7 – 1,3)	0,65
Exposição Sexual	60/99	60,6	5/10	50,0	1,2 (0,6 – 2,3)	0,73
IMC $\geq$ a 25	23/38	60,5	42/71	59,2	1,0 (0,7 – 1,4)	0,44
Estadio A	40/65	61,5	25/44	56,8	1,1 (0,8 – 1,5)	0,31
Estadio B	5/9	55,6	60/100	60,0	0,9 (0,5 – 1,7)	0,60
Estadio C	16/27	59,3	49/82	59,8	1,0 (0,7 – 1,4)	0,52

Tabela 4: Variáveis contínuas não associadas à resposta (títulos de anti-HBs $\geq$ a 10mUI/ml), utilizando-se esquema de 3 doses de vacina recombinante contra hepatite B em 109 portadores do HIV.

Variável	Média/Mediana (intervalo)		Valor p
	Respondedores	Não respondedores	
Idade	32/31 (15 – 56)	34/34 (19 – 54)	0,07
Carga viral ($\log_{10}$)	3,6/3,6 (1,7 – 6,9)	4,0/3,9 (2,3 – 5,9)	0,09

Variáveis associadas à resposta ao esquema de 3 doses

Na análise univariada, tabagismo e contagem de linfócitos T CD4+ foram significativamente associados a resposta à vacina.

Quarenta e nove dos 74 pacientes que não fumavam (66,2%) apresentaram resposta à vacina. Entre os 35 fumantes, apenas 16 (45,7%) responderam à vacina (RR: 1,4; 95% IC: 1,0 – 2,1; $p=0,02$).

A mediana da contagem de linfócitos T CD4+ inicial foi de 423 céls/mm³ (intervalo: 63 – 1201) entre os respondedores e de 293 céls/mm³ (intervalo: 14 – 893) entre os não-respondedores ($p=0,008$). A mediana de contagem final foi de 493 céls/mm³ (intervalo: 161 – 1325) entre os respondedores e de 317 céls/mm³ (intervalo: 7 – 954) entre os não respondedores ($p<0,001$).

Considerando a contagem de CD4 em estratos, observa-se resposta à vacina em 25 de 34 (73,5%) pacientes com contagem inicial maior que 500 céls/mm³, 29 de 48 (60,4%) pacientes com contagem inicial entre 200 e 500 céls/mm³ e 7 de 12 (36,8%) pacientes com contagem inicial menor que 200 céls/mm³. Houve uma diferença estatisticamente significativa na resposta quando comparados pacientes com mais de 500 céls/mm³ e pacientes com menos de 500 céls/mm³ (RR: 1,4; 95% IC: 1,0 – 1,8; $p=0,02$). Entre pacientes do estadio C, 13 (72,2%) com contagem de CD4 maior que 200 e 3 (33,3%) dos que tinham contagem de CD4 inferior a 200 responderam à vacina (RR: 2,1; 95% IC: 0,9 – 5,7; $p=0,03$).

A tabela 5 mostra as variáveis associadas à resposta à vacina.

Tabela 5: Variáveis associadas à resposta (títulos de anti-HBs $\geq$ a 10mUI/ml), utilizando-se esquema de 3 doses de vacina recombinante contra hepatite B em 109 portadores do HIV.

Variável	Expostos		Não Expostos		RR (95% IC)	Valor p
	n/n	(%)	n/n	(%)		
Sem história de tabagismo	49/74	66,2	16/35	45,7	1,4 (1,0 – 2,1)	0,02
CD4 inicial > 500 céls/mm ³	25/34	73,5	36/67	53,7	1,4 (1,0 – 1,8)	0,02

Análise multivariada

Para a análise multivariada, inicialmente foi feita a análise de regressão logística univariada para cada variável. As variáveis com $p < 0,20$ foram selecionadas para a regressão logística multivariada. As variáveis sexo, idade, IMC e tabagismo foram incluídas por serem variáveis biológicas que poderiam corrigir a razão de risco final. Aplicando-se o modelo de regressão logística e ajustando-se para esses fatores, somente a variável contagem de CD4 inicial permaneceu como variável independentemente associada à resposta (RR: 5,1; 1,4 – 18,2; $p = 0,01$). Pacientes com contagem de linfócitos T CD4 maior que 500 têm uma chance 5,1 maior de apresentar resposta ao esquema de 3 doses (tabela 6).

Tabela 6: Resultado da análise de regressão logística para resposta a 3 doses da vacina recombinante contra hepatite B em 109 pacientes portadores do HIV.

Variável	Odds Ratio	95% IC	Valor p
Idade entre 30 e 40 anos	0,6	0,2 – 1,6	0,35
Idade > 40 anos	0,6	0,1 – 2,3	0,53
Sexo Masculino	0,9	0,4 – 2,3	0,96
Tabagismo	0,5	0,2 – 1,3	0,16
Obesidade	1,6	0,6 – 4,1	0,30
CD4 entre 200 e 500	3,0	0,9 – 9,6	0,06
CD4 > 500	5,1	1,4 – 18,2	0,01

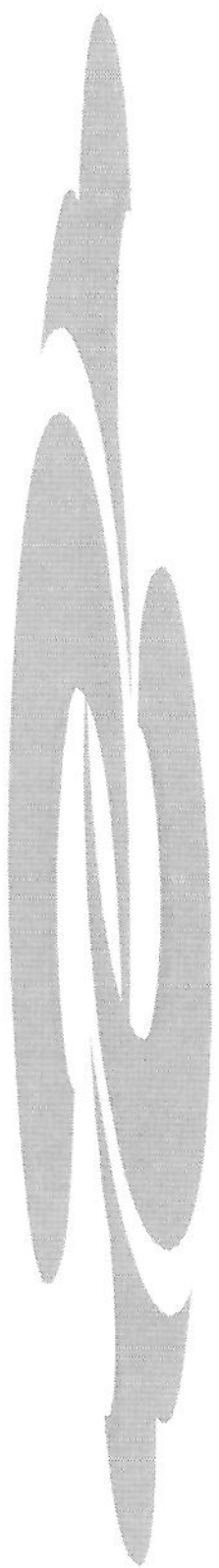
Resposta à quarta dose em não respondedores ao esquema de 3 doses

Vinte e quatro pacientes dos 44 que não apresentaram soroconversão ao esquema de 3 doses concordaram em receber uma quarta dose. Apenas 6 dos 24 pacientes (25%) responderam à quarta dose: 4 do sexo feminino e 2 do sexo masculino ($p = 0,14$).

A mediana da contagem inicial de linfócitos T CD4 foi de 351 (intervalo 207 – 558) entre respondedores e de 296 (intervalo 14 – 886) entre não respondedores ($p=0,91$).

Aumento de carga viral após vacinação

Sete pacientes manifestaram um aumento transitório da carga viral após o uso da vacina contra hepatite B. Todos os pacientes pertenciam ao grupo A da classificação do CDC, com contagem de linfócitos T CD4 variando de 107 a 874 (mediana = $556/\text{mm}^3$). Quatro pacientes apresentaram uma elevação da carga viral após a segunda dose e 2 pacientes, após a primeira dose. O intervalo entre a dose da vacina e a medida da carga viral variou entre 10 e 60 dias. Uma terceira medida foi efetuada num período de 31 a 160 dias após a dose da vacina. Cinco pacientes estavam em uso de terapia anti-retroviral ao início do esquema vacinal. Nenhum paciente referiu sintomas de infecção aguda durante o período de seguimento. Não houve correlação entre a magnitude do aumento da carga viral e a contagem basal de linfócitos T CD4.



5. DISCUSSÃO

Em pacientes infectados pelo HIV, a coinfeção pelo vírus da hepatite B é freqüente, uma vez que ambas compartilham das mesmas rotas de transmissão. Estima-se que entre 30 e 90% dos indivíduos infectados pelo HIV apresentam alguma evidência de infecção pelo HBV (LEBOVICS, 1988; SOLOMON, 1990; DENIS, 1997). No Brasil, a prevalência dos marcadores anti-HBc e AgHBs em 1.693 pacientes HIV acompanhados no Ambulatório de Aids do Hospital das Clínicas da Universidade de São Paulo foi de 38,6% e de 5,7% respectivamente (MENDES-CORREA, 2000). Outro aspecto preocupante é o relato de reativação da hepatite B em pacientes que haviam se curado da infecção (VENTO, 1989; MANEGOLD, 2001). Esses fatores, somados à característica evolutiva da hepatite B nesses pacientes (maior tendência à cronicidade), justificam a necessidade de sua prevenção.

Apesar da disponibilidade de uma vacina altamente eficaz e segura contra a hepatite B, é sabido que a taxa de soroconversão em pacientes infectados pelo HIV é inferior em relação à população geral (CARNE, 1987; COLLIER, 1988; ODAKA, 1988, GOSEMAN, 1988; LOKE, 1990; BRUGUERA, 1992; WONG, 1996 e SASAKI, 2000). Nesses estudos, realizados em população adulta e utilizando doses habituais, a taxa de soroconversão variou de 22 a 56% (tabela 7) .

Tabela 7: Imunogenicidade da vacina de hepatite B em pacientes HIV em diversos estudos

Autor	Vacina	Dose µg	Nº de casos	Soroconversão (%)
CARNE et al. (1987)	P	20	17	53
COLLIER et al. (1988)	P	20	16	56
ODAKA et al. (1988)	P	20	8	50
	R	20	9	22
GOSEMAN et al. (1988)	R	20	10	40
LOKE et al. (1990)	R	10	27	33
BRUGUERA et al. (1992)	R	20	21	24
WONG et al. (1996)	R	20	14	43
SASAKI et al. (2000)	R	20	22	45

P = derivado de plasma

R = DNA recombinante

O uso de doses maiores da vacina de hepatite B em pacientes infectados pelo HIV já provou ser capaz de promover melhor resposta em crianças (SCOLFARO, 1996), mas há poucos estudos avaliando esta estratégia em pacientes adultos. O presente trabalho, utilizando a vacina de DNA recombinante em esquema de 3 doses com dose dobrada (40 µg), encontrou uma taxa de soroconversão de 59,6%, ligeiramente superior aos estudos citados. Diversas considerações devem ser feitas a respeito dos fatores relacionados aos resultados obtidos, sobretudo no tocante às características da população de estudo, uma vez que os avanços terapêuticos têm possibilitado uma mudança no perfil evolutivo da Aids.

Três pacientes foram excluídos do estudo após receberem a vacina de hepatite B. Não foi possível analisar se o encontro de anti-HBc nesses pacientes deveu-se a infecção recente.

Seis dos 109 pacientes apresentaram um aumento transitório da carga viral após o uso da vacina contra hepatite B. Esse fato já foi relatado com o emprego da vacina de influenza (O'BRIEN, 1995; STAPRANS, 1995), tétano (STANLEY, 1996) e pneumocócica (BRICHACEK, 1996). À semelhança do que foi observado nesses estudos, o aumento da carga viral foi transitório, com o retorno aos valores de base num período de 4 a 8 semanas. Esses achados revelam uma participação da estimulação imune como responsável pelo aumento da expressão do HIV. No estudo com a vacina contra influenza, O'BRIEN et al. destacaram algumas possíveis explicações para o caráter transitório do aumento da expressão do HIV. Primeiro, o período de indução viral poderia limitar-se à duração da resposta linfocítica ao antígeno específico. À medida em que os linfócitos T específicos retornassem ao estado latente, a expressão do HIV-1 também diminuiria. Segundo, a estimulação dos linfócitos T específicos infectados pelo HIV poderia resultar no clearance dessas células com conseqüente diminuição da expressão do HIV. No trabalho de STANLEY et al, com a vacina antitetânica, o aumento da carga viral associou-se a maior capacidade de isolamento do vírus em células mononucleares periféricas *in vitro*. A preocupação lógica decorrente desse achado refere-se à indicação da imunização em pacientes HIV, considerando-se os potenciais efeitos no curso da infecção pelo HIV. Estudos recentes, porém, tem demonstrado o caráter transitório desse aumento, aplacando-lhe a relevância diante do benefício da proteção conferida pela imunização. SULLIVAN

et al. (2000), numa extensa revisão em registros de 36.050 pacientes infectados pelo HIV com mais de 13 anos, não encontraram associação entre progressão da doença e óbito em pacientes vacinados contra influenza.

A distribuição da amostra estudada quanto a sexo, idade e categoria de exposição refletiu uma característica do padrão epidemiológico da Aids em nosso meio, notadamente uma afecção de indivíduos adultos jovens, cuja disseminação vem evidenciando uma tendência já apontada de equivalência na razão homem/mulher (Boletim Epidemiológico Aids, 1999). Não houve diferença estatisticamente significativa entre respondedores e não respondedores quanto ao sexo. Vinte e sete dos 47 pacientes do sexo masculino (57,4%) e 38 dos 62 pacientes do sexo feminino (61,3%) apresentaram resposta à vacina. Em indivíduos imunocompetentes observa-se que a taxa de soroconversão é semelhante entre homens e mulheres (ANDRE, 1990) embora a intensidade da resposta seja maior entre mulheres. BOCK et al. (1996) relataram títulos de anti-HBs de 1.596 mUI/ml para homens e de 2.099 mUI/ml para mulheres ($p=0.04$). Em nosso estudo, o cálculo do GMT de anti-HBs foi prejudicado devido ao fato da técnica de ELISA utilizar o ponto de corte de 1.000 mUI/ml.

Em consonância com a literatura, a vacina foi bem tolerada. A frequência das reações adversas observada (18,3%) está de acordo com diversos estudos na literatura (LEMON, 1997; ASSAD, 2000), bem como a intensidade das mesmas (reações locais). Observamos apenas um relato de reação sistêmica que não necessitou intervenção terapêutica. É reconhecível, porém, que a melhor estratégia para registro de efeitos adversos seria o inquérito ativo dos pacientes em prazo pré-estabelecido, evitando-se, assim, um possível viés de memória.

Quanto à variável índice de massa corpórea, 60,5% dos pacientes que tinham IMC maior ou igual a 25 e 59,2% dos pacientes com IMC menor que 25 apresentaram resposta à vacina. A diferença não foi significativa na amostra estudada. É importante salientar, entretanto, que apenas 5,5% dos pacientes foram classificados como obesos, isto é, com IMC maior que 30. Ainda, é possível que o IMC não seja um parâmetro adequado para avaliação de obesidade nesses pacientes, uma vez que ele não leva em consideração os efeitos decorrentes da lipodistrofia, entidade que vem sendo diagnosticada com frequência

cada vez maior entre portadores do HIV (KINGSLEY, 2001). Esse aspecto possivelmente merecerá maior atenção no futuro, no que se refere a influência sobre a responsividade à vacina de hepatite B.

A idade é um fator que tem sido associado à menor resposta na população geral. ROOME et al. observaram, numa população de 528 indivíduos saudáveis, a ocorrência de 11,9% de não respondedores à vacina de DNA recombinante. Entre eles, a resposta inadequada foi encontrada em 2,8% dos indivíduos com menos de 30 anos e chegou a 42,1% naqueles com mais de 60 anos ($p < 0.001$). TORRELL et al. (1991), em um estudo com 537 profissionais da saúde, passaram a encontrar diferença significativa na resposta a partir da idade de 40 anos. BOCK et al. (1996), porém, descreveram, em estudo realizado em 880 profissionais que receberam a vacina de DNA recombinante, uma tendência, não significativa, à não resposta nos vacinados com mais de 40 anos. Deve-se, no entanto, ressaltar que a média de idade da amostra estudada por esse autor era menor que a dos outros trabalhos citados. A idade ao momento da vacinação também foi fator prognóstico para perda de anticorpos ao longo do tempo na população geral (BARNAS, 1988). Em nosso estudo, a idade não foi estatisticamente diferente entre respondedores e não respondedores. A mediana de idade de respondedores foi de 31 anos e a de não respondedores, de 34 anos ($p = 0,07$). É preciso considerar, entretanto, que a amostra estudada, pelas características inerentes ao agravo em questão, é relativamente jovem em comparação à população geral.

Embora a análise univariada tenha demonstrado uma associação entre tabagismo e pior resposta, ao estratificarmos por contagem de linfócitos T CD4 observamos que tabagistas e não tabagistas responderam de maneira semelhante. Em indivíduos imunocompetentes, este é um fator de risco frequentemente relacionado a uma pior resposta. No trabalho de ROOME et al., com indivíduos saudáveis, tabagistas tiveram uma chance 3,6 vezes maior de não soroconverter após 3 doses da vacina de DNA recombinante.

Em nosso estudo, a resposta à vacina foi claramente associada aos níveis de linfócitos T CD4 apresentados por ocasião da vacinação. Indivíduos com contagem de CD4 maior que 500 células/mm^3 tiveram uma chance 5,1 vezes maior de apresentar resposta à vacina. Essa relação entre estado da imunidade celular e resposta à vacina já havia sido

demonstrada por outros autores. BRUGUERA et al. (1992) vacinaram 21 pacientes portadores do HIV e observaram uma associação entre baixa resposta à vacina e deterioração do sistema imune, traduzida pela reduzida contagem de linfócitos T CD4. A taxa de soroconversão observada pelo autor foi de 23,8%. Sexo, idade, preferência sexual e modo de aquisição do HIV não influenciaram a resposta à vacina, porém a redução no número de linfócitos T CD4 teve papel crucial: nenhum indivíduo com contagem de linfócitos T CD4 inferior a 700 céls/mm³ apresentou soroconversão, em contraste com a taxa de 50% entre indivíduos com contagem acima deste limite. Achados semelhantes são relatados por KEET et al.(1992), TAYAL (1994) e SASAKI et al. (2000), mas não nos estudos de COLLIER et al. (1988), ZUIN et al.(1992), RUTSTEIN et al.(1994) e WONG et al. (1996). Há que se considerar, porém, que todos esses estudos envolveram número relativamente pequeno de pacientes.

De modo semelhante ao que encontramos com o uso da vacina contra hepatite B, estudos têm demonstrado que pacientes infectados pelo HIV apresentam uma reduzida capacidade de resposta a várias classes de antígenos. Essa tendência parece evidenciar-se precocemente no curso da infecção, resultado de uma progressiva disfunção imunológica, notadamente da capacidade regulatória de linfócitos B e T (BIRX, 1991). Estudos realizados com as vacinas contra influenza (KROON, 1998), tétano (OPRAVIL, 1991), *Streptococcus pneumoniae* (KROON, 1994) mostraram que a resposta imune foi melhor em indivíduos com níveis mais elevados de linfócitos T CD4.

Por outro lado, é crescente o número de evidências da recuperação da capacidade de resposta à vacinação uma vez que a população de linfócitos T CD4 seja restabelecida pela terapia anti-retroviral de alta potência. Parece não restar dúvidas de que a recuperação do sistema imune que se segue à introdução dos anti-retrovirais não é apenas quantitativa, mas também qualitativa. VALDEZ et al. (2000) analisaram a resposta de 31 pacientes do protocolo ACTG 375 que faziam uso de zidovudina, lamivudina e ritonavir às vacinas contra tétano e hepatite A. As respostas humoral e celular foram monitoradas pela mensuração de anticorpos contra hepatite A, estudo da linfoproliferação *in vitro* e avaliação da hipersensibilidade tardia. Ativação imune e carga viral elevada foram preditores de pior resposta e o aumento da contagem de CD4+ foi preditor de boa resposta. KROON et al. (1988) observaram que pacientes HIV em uso de terapia anti-retroviral e controles

saudáveis com mesma contagem de linfócitos T CD4 responderam de forma semelhante à estimulação com a vacina trivalente contra influenza. Outro estudo, com a vacina contra sarampo em crianças portadoras do HIV, revelou que a resposta a uma dose adicional da vacina foi melhor em crianças que estavam em uso de anti-retrovirais (BERKELHAMER, 2001).

Desse modo, as evidências sugerem que o estadiamento clínico não é, per se, preditor de resposta à vacina. Em nosso estudo, entre pacientes que já haviam apresentado alguma condição definidora de Aids (estadio C da classificação do CDC), a contagem de CD4 foi significativamente diferente entre respondedores e não respondedores. Treze dos 16 respondedores (72,2%) que pertenciam ao estadio C tinham contagem de CD4 maior que 200 céls/mm³. Entre os 11 não respondedores, apenas 3 (33,3%), apresentavam contagem maior que 200 céls/mm³ (RR: 2,1; 95% IC: 0,9 – 5,7; p=0,03). Este achado reforça a idéia de que é antes a recuperação da população de linfócitos T CD4 e não a ocorrência prévia de doenças oportunistas, o principal fator capaz de determinar uma melhor resposta à vacinação.

Apenas 24 dos 44 pacientes (54%) que não responderam ao esquema de 3 doses concordaram em receber a quarta dose. Destes, 6 (25%) apresentaram soroconversão. A mediana da contagem inicial de linfócitos T CD4 foi discretamente maior entre respondedores (351 x 296) porém não foi estatisticamente significativa. O número reduzido da amostra possivelmente limitou a análise desse parâmetro.

Várias estratégias têm sido investigadas com o intuito de melhorar a resposta à vacina de hepatite B nos diversos grupos de pacientes imunocomprometidos. O uso de dose dobrada (40µg) em pacientes renais crônicos submetidos à diálise já foi incorporado à rotina dos programas de imunização, como já foi exposto. Para aqueles que não respondem ao esquema inicial, esquemas alternativos, novas vacinas e o uso concomitante de adjuvantes têm sido extensamente pesquisados. As mesmas estratégias são consideradas para pacientes infectadas pelo HIV.

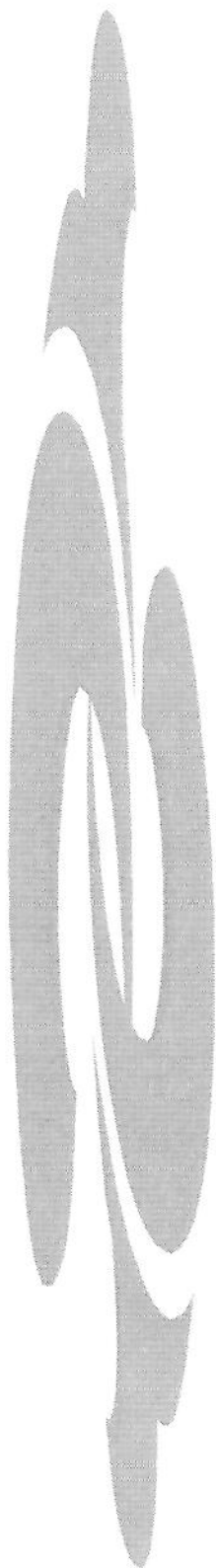
O uso da via intradérmica em esquemas de revacinação tem sido advogado por alguns autores na tentativa de se obter melhores índices de soroconversão com custo reduzido em não respondedores. FABRIZI et al.(1997) compararam 2 esquemas de

revacinação em pacientes dialisados que não haviam apresentado soroconversão ao esquema de 3 doses de 40 µg por via intramuscular. Um grupo recebeu novo esquema de 2 doses de 40 µg por via intramuscular e outro, a mesma dose total, administrada em 16 injeções intradérmicas. Soroproteção foi observada em 96% dos pacientes do braço que utilizou a via intradérmica, ao passo que apenas 40% dos que receberam a vacina por via intramuscular responderam com títulos protetores.

A demonstração do poder imunogênico das porções pré-S1 e pré-S2 na produção de anticorpos anti-HBs em modelos animais (MILICH, 1985, MILICH, 1986; KLINKERT, 1986; JONES, 1998) foi atestado em diversos ensaios clínicos de fase II e III (FERRARI, 1989; YAP, 1995; SUZUKI, 1994; HOURVITZ, 1996). O uso de vacinas contendo essas frações em indivíduos não respondedores ao esquema com a vacina contendo apenas o componente S do envelope viral têm se mostrado promissor, como mostram os trabalhos de ZUCKERMAN et al. (1997), LEROUX-ROELS et al. (1997) e BERTINO et al. (1997). No estudo de ZUCKERMAN et al., a vacinação de 100 indivíduos com quantidades diferentes do antígeno promoveu a soroconversão em 69% dos vacinados após uma única dose.

Outras tentativas no sentido de melhorar a resposta imune que vêm sendo estudadas consistem da administração de adjuvantes que aumentam a capacidade do sistema imune em responder à estimulação vacinal. Entre elas, citamos o uso de gama interferon humano recombinante (QUIROGA, 1990) e o uso do fator estimulador de colônias de granulócitos-macrófagos (GM-CSF) (ANANDH, 2000) em pacientes hemodialisados. Estas podem representar uma alternativa igualmente viável para pacientes HIV que não tenham respondido ao esquema habitual.

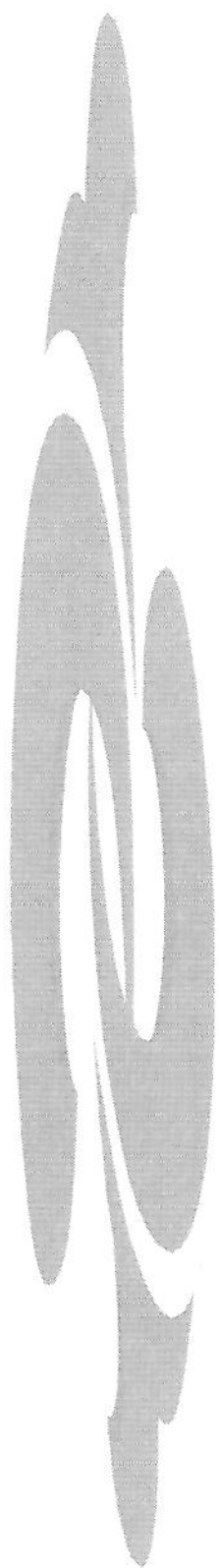
No Brasil, ante a recomendação do uso da vacina recombinante para os portadores do HIV, o conhecimento dos aspectos associados à resposta à vacina são de grande importância para o planejamento e orientação de esquemas e vias de administração que demonstrem uma favorável relação custo/benefício. Nesse sentido, os achados deste estudo fornecem subsídios para um uso mais racional da vacina, com base no conhecimento do estado imune do paciente.



6. CONCLUSÕES E RECOMENDAÇÕES

A taxa de soroconversão da vacina de hepatite B em pacientes infectados pelo HIV na amostra estudada foi de 59,6%.

- Sexo, idade, tabagismo, índice de massa corpórea, carga viral e estadiamento clínico não foram associadas à resposta à vacina.
- O único preditor independente de melhor resposta foi a contagem de linfócitos T CD4: pacientes com contagem de CD4 maior que 500 células/mm³ no momento da primeira dose tiveram chance 5,1 vezes maior de apresentar soroconversão após esquema de 3 doses.
- Assim, dos achados expostos, é recomendável que a vacina contra hepatite B seja feita em todos os pacientes infectados pelo HIV. Em pacientes com CD4 inferior a esses valores ou que apresentem condição definidora de Aids, é fundamental o monitoramento frequente do estado imune e dos títulos de anti-HBs deve ser observado, a fim de que esses pacientes recebam uma dose de reforço sempre que estes forem inferiores aos níveis considerados protetores.



7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Lurman A. Eine icterus epidemic. Berl Klin Wochenschr. 1855;22:20. apud MANDELL, G.L – Mandell, Douglas and Bennett's principles and practice of infectious diseases. 4^a ed. New York, Churchill Livingstone, 1995. 2803p. v.2.
- Hepatitis B virus: a comprehensive strategy for eliminating transmission in the United States through universal childhood vaccination. Recommendations of the Immunization Practices Advisory Committee (ACIP). **MMWR Morb Mortal Wkly Rep** ; 40(RR-13):1-25.,1991.
- Are booster immunisations needed for lifelong hepatitis B immunity? European Consensus Group on Hepatitis B Immunity. **Lancet** ; 355(9203):561-5,2000.
- Impact of the 1999 AAP/USPHS joint statement on thimerosal in vaccines on infant hepatitis B vaccination practices. **MMWR Morb Mortal Wkly Rep**; 50(6):94-7.,2001.
- Alper, C.A., Kruskall, M.S., Marcus-Bagley, D., Craven, D.E., Katz, A.J., Brink, S.J., Dienstag, J.L., Awdeh, Z., Yunis, E.J. Genetic prediction of nonresponse to hepatitis B vaccine. **N Engl J Med**; 321(11):708-12.,1989.
- Anandh, U., Bastani, B., Ballal, S. Granulocyte-macrophage colony-stimulating factor as an adjuvant to hepatitis B vaccination in maintenance hemodialysis patients. **Am J Nephrol** ; 20(1):53-6.,2000.
- Anderson, M.G., Murray-Lyon, I.M. Natural history of the HBsAg carrier. **Gut**; 26(8):848-60,1985.
- Andre, F.E. Overview of a 5-year clinical experience with a yeast-derived hepatitis B vaccine. **Vaccine** ; 8 Suppl:S74-8; discussion S79-80,1990.
- Ascherio, A., Zhang, S.M., Hernan, M.A., Olek, M.J., Coplan, P.M., Brodovicz, K., Walker, A.M. Hepatitis B vaccination and the risk of multiple sclerosis. **N Engl J Med**; 344(5):327-32.,2001.
- Assad, S., Francis, A. Over a decade of experience with a yeast recombinant hepatitis B vaccine. **Vaccine** ; 18(1-2):57-67.,1999.

- Baldy, J. L. S. Hepatite B em 250 dentistas do norte do Paraná: prevalência da infecção, medidas preventivas adotadas e resposta imune, de 135 suscetíveis à vacina recombinante belga administrada em esquema de três pequenas doses (2mcg) por via intradérmica. Tese de doutoramento, Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte – MG, 1995.
- Bancroft, W.H., Mundon, F.K., Russell, P.K. Detection of additional antigenic determinants of hepatitis B antigen. **J Immunol**; 109(4):842-8,1972.
- Barnas, G.P., Hanacik, L.J. Hepatitis B vaccine: persistence of antibody following immunization. **Infect Control Hosp Epidemiol**; 9(4):147-50,1988.
- Bartenschlager, R., Junker-Niepmann, M., Schaller, H. The P gene product of hepatitis B virus is required as a structural component for genomic RNA encapsidation. **J Virol**; 64(11):5324-32,1990.
- Berkelhamer, S., Borock, E., Elsen, C., Englund, J., Johnson, D. Effect of highly active antiretroviral therapy on the serological response to additional measles vaccinations in human immunodeficiency virus-infected children. **Clin Infect Dis**; 32(7):1090-4.,2001.
- Bertino, J.S., Jr., Tirrell, P., Greenberg, R.N., Keyserling, H.L., Poland, G.A., Gump, D., Kumar, M.L., Ramsey, K. A comparative trial of standard or high-dose S subunit recombinant hepatitis B vaccine versus a vaccine containing S subunit, pre-S1, and pre-S2 particles for revaccination of healthy adult nonresponders. **J Infect Dis**; 175(3):678-81.,1997.
- Biggar, R.J., Goedert, J.J., Hoofnagle, J. Accelerated loss of antibody to hepatitis B surface antigen among immunodeficient homosexual men infected with HIV [letter]. **N Engl J Med** ; 316(10):630-1,1987.
- Birx, D.L., Rhoads, J.L., Wright, J.C., Burke, D.S., Redfield, R.R. Immunologic parameters in early-stage HIV-seropositive subjects associated with vaccine responsiveness. **J Acquir Immune Defic Syndr**; 4(2):188-96,1991.

- Blumberg, B.S., Alter, H.J., Visnich, S. Landmark article Feb 15, 1965: A "new" antigen in leukemia sera. By Baruch S. Blumberg, Harvey J. Alter, and Sam Visnich. **Jama**; 252(2):252-7,1984.
- Bock, H.L., Kruppenbacher, J., Sanger, R., Hobel, W., Clemens, R., Jilg, W. Immunogenicity of a recombinant hepatitis B vaccine in adults. **Arch Intern Med**; 156(19):2226-31,1996.
- Bodsworth, N., Donovan, B., Nightingale, B.N. The effect of concurrent human immunodeficiency virus infection on chronic hepatitis B: a study of 150 homosexual men. **J Infect Dis** ; 160(4):577-82,1989.
- Boland, G.J., de Gast, G.C., van Hattum, J. Effects of interleukin-2 on hepatitis B vaccination in uraemic patients. **Lancet** ; 344(8933):1368.,1994.
- Brichacek, B., Swindells, S., Janoff, E.N., Pirruccello, S., Stevenson, M. Increased plasma human immunodeficiency virus type 1 burden following antigenic challenge with pneumococcal vaccine. **J Infect Dis**; 174(6):1191-9.,1996.
- Bruguera, M., Rodicio, J.L., Alcazar, J.M., Oliver, A., Del Rio, G., Esteban-Mur, R. Effects of different dose levels and vaccination schedules on immune response to a recombinant DNA hepatitis B vaccine in haemodialysis patients. **Vaccine**; 8 Suppl:S47-9; discussion S60-2,1990.
- Bruguera, M., Cremades, M., Salinas, R., Costa, J., Grau, M., Sans, J. Impaired response to recombinant hepatitis B vaccine in HIV-infected persons. **J Clin Gastroenterol**; 14(1):27-30,1992.
- Buti, M., Viladomiu, L., Jardi, R., Olmos, A., Rodriguez, J.A., Bartolome, J., Esteban, R., Guardia, J. Long-term immunogenicity and efficacy of hepatitis B vaccine in hemodialysis patients. **Am J Nephrol** ; 12(3):144-7,1992.
- Buynak, E.B., Roehm, R.R., Tytell, A.A., Bertland, A.U.d., Lampson, G.P., Hilleman, M.R. Vaccine against human hepatitis B. **Jama**; 235(26):2832-4,1976.
- Campins Marti, M., Moraga Llop, F.A. Hepatitis B vaccine and multiple sclerosis (editorial). **An Esp Pediatr**; 49(6):555-7,1998.

- Carmeli, Y., De-Medina, T. Serious hepatitis B vaccine adverse reactions, are they immune-mediated? **Vaccine**; 11(13):1358-9.,1993.
- Carne, C.A., Weller, I.V., Waite, J., Briggs, M., Pearce, F., Adler, M.W., Tedder, R.S. Impaired responsiveness of homosexual men with HIV antibodies to plasma derived hepatitis B vaccine. **Br Med J (Clin Res Ed)**; 294(6576):866-8,1987.
- Chen, H.S., Kew, M.C., Hornbuckle, W.E., Tennant, B.C., Cote, P.J., Gerin, J.L., Purcell, R.H., Miller, R.H. The precore gene of the woodchuck hepatitis virus genome is not essential for viral replication in the natural host. **J Virol**; 66(9):5682-4,1992.
- Chisari, F.V. Hepatitis B virus biology and pathogenesis. **Mol Genet Med**; 2:67-104,1992.
- Chisari, F.V. Cytotoxic T cells and viral hepatitis. **J Clin Invest**; 99(7):1472-7.,1997.
- Clements, M.L., Miskovsky, E., Davidson, M., Cupps, T., Kumwenda, N., Sandman, L.A., West, D., Hesley, T., Ioli, V., Miller, W., et al. Effect of age on the immunogenicity of yeast recombinant hepatitis B vaccines containing surface antigen (S) or PreS2 + S antigens. **J Infect Dis**; 170(3):510-6.,1994.
- Cockshott, W.P., Thompson, G.T., Howlett, L.J., Seeley, E.T. Intramuscular or intralipomatous injections? **N Engl J Med**; 307(6):356-8,1982.
- Coleman, P.J., Shaw, F.E., Jr., Serovich, J., Hadler, S.C., Margolis, H.S. Intradermal hepatitis B vaccination in a large hospital employee population. **Vaccine**; 9(10):723-7,1991.
- Collier, A.C., Corey, L., Murphy, V.L., Handsfield, H.H. Antibody to human immunodeficiency virus (HIV) and suboptimal response to hepatitis B vaccination. **Ann Intern Med**; 109(2):101-5,1988.
- Kingsley, L, Smit, E., Riddler, S., Prevalence of lipodystrophy and metabolic abnormalities in the Multicenter AIDS Cohort Study (MACS). In: 8th Conference on Retroviruses and Opportunistic Infections, Chicago, 2001. Abstract 538.
- Confavreux, C., Suissa, S., Saddier, P., Bourdes, V., Vukusic, S. Vaccinations and the risk of relapse in multiple sclerosis. Vaccines in Multiple Sclerosis Study Group. **N Engl J Med**; 344(5):319-26.,2001.

- Coursaget, P., Yvonnet, B., Relyveld, E.H., Barres, J.L., Diop-Mar, I., Chiron, J.P. Simultaneous administration of diphtheria-tetanus-pertussis-polio and hepatitis B vaccines in a simplified immunization program: immune response to diphtheria toxoid, tetanus toxoid, pertussis, and hepatitis B surface antigen. **Infect Immun**; 51(3):784-7,1986.
- Craven, D.E., Awdeh, Z.L., Kunches, L.M., Yunis, E.J., Dienstag, J.L., Werner, B.G., Polk, B.F., Syndman, D.R., Platt, R., Crumpacker, C.S., et al. Nonresponsiveness to hepatitis B vaccine in health care workers. Results of revaccination and genetic typings [published erratum appears in *Ann Intern Med* 1987 Jan;106(1):174]. **Ann Intern Med**; 105(3):356-60,1986.
- Dane, D.S., Cameron, C.H., Briggs, M. Virus-like particles in serum of patients with Australia-antigen- associated hepatitis. **Lancet**; 1(7649):695-8,1970.
- Deisenhammer, F., Pohl, P., Bosch, S., Schmidauer, C. Acute cerebellar ataxia after immunisation with recombinant hepatitis B vaccine. **Acta Neurol Scand**; 89(6):462-3,1994.
- Denis, F., Mounier, M., Hessel, L., Michel, J.P., Gualde, N., Dubois, F., Barin, F., Goudeau, A. Hepatitis-B vaccination in the elderly. **J Infect Dis**; 149(6):1019,1984.
- Denis, F., Adjide, C.C., Rogez, S., Delpeyroux, C., Rogez, J.P., Weinbreck, P. Seroprevalence of HBV, HCV and HDV hepatitis markers in 500 patients infected with the human immunodeficiency virus. **Pathol Biol (Paris)**; 45(9):701-8.,1997.
- Desmyter, J., Colaert, J., De Groote, G., Reynders, M., Reerink-Brongers, E.E., Lelie, P.N., Dees, P.J., Reesink, H.W. Efficacy of heat-inactivated hepatitis B vaccine in haemodialysis patients and staff. Double-blind placebo-controlled trial. **Lancet**; 2(8363):1323-8,1983.
- DeStefano, F., Verstraeten, T. Multiple sclerosis. **N Engl J Med** ; 344(5):381; discussion 382.,2001.
- Docci, D., Cipolloni, P.A., Mengozzi, S., Baldrati, L., Capponcini, C., Feletti, C. Immunogenicity of a recombinant hepatitis B vaccine in hemodialysis patients: a two-year follow-up. **Nephron**; 61(3):352-3,1992.

- Drake, J.H., Parmley, R.T., Britton, H.A. Loss of hepatitis B antibody in human immunodeficiency virus-positive hemophilia patients. **Pediatr Infect Dis J**; 6(11):1051-4,1987.
- Eskild, A., Magnus, P., Petersen, G., Sohlberg, C., Jensen, F., Kittelsen, P., Skaug, K. Hepatitis B antibodies in HIV-infected homosexual men are associated with more rapid progression to AIDS. **Aids**; 6(6):571-4,1992.
- Fabrizi, F., Andrulli, S., Bacchini, G., Corti, M., Locatelli, F. Intradermal versus intramuscular hepatitis b re-vaccination in non- responsive chronic dialysis patients: a prospective randomized study with cost-effectiveness evaluation. **Nephrol Dial Transplant**; 12(6):1204-11,1997.
- Ferrari, C., Penna, A., Bertoletti, A., Cavalli, A., Valli, A., Schianchi, C., Fiaccadori, F. The preS1 antigen of hepatitis B virus is highly immunogenic at the T cell level in man. **J Clin Invest**; 84(4):1314-9,1989.
- Finklea, J.F., Hasselblad, V., Riggan, W.B., Nelson, W.C., Hammer, D.I., Newill, V.A. Cigarette smoking and hemagglutination inhibition response to influenza after natural disease and immunization. **Am Rev Respir Dis** ; 104(3):368-76,1971.
- Franco, A., Guidotti, L.G., Hobbs, M.V., Pasquetto, V., Chisari, F.V. Pathogenetic effector function of CD4-positive T helper 1 cells in hepatitis B virus transgenic mice. **J Immunol**; 159(4):2001-8,1997.
- Fujiyama, S., Yoshida, K., Sato, T., Shimada, H., Deguchi, T. Immunogenicity and safety of recombinant yeast-derived hepatitis B vaccine in haemodialysis patients. **Hepatogastroenterology**; 37 Suppl 2:140-4,1990.
- Germain, R.N. MHC-dependent antigen processing and peptide presentation: providing ligands for T lymphocyte activation. **Cell**; 76(2):287-99,1994.
- Gilson, R.J.C., Hawkins, A.E., Beecham, M.R., Ross, E., Waite, J., Briggs, M., McNally, T., Kelly, G.E., Tedder, R.S., Weller, I.V.D. Interactions between HIV and hepatitis B virus in homosexual men: effects on the natural history of infection. **AIDS**; 11(5):597-606,1997.

- Goldin, R.D., Fish, D.E., Hay, A., Waters, J.A., McGarvey, M.J., Main, J., Thomas, H.C. Histological and immunohistochemical study of hepatitis B virus in human immunodeficiency virus infection. **J Clin Pathol**; 43(3):203-5,1990.
- Goolsby, P.L. Erythema nodosum after Recombivax HB hepatitis B vaccine [letter]. **N Engl J Med**; 321(17):1198-9,1989.
- Grob, P.J., Binswanger, U., Zaruba, K., Joller-Jemelka, H.I., Schmid, M., Hacki, W., Blumberg, A., Abplanalp, A., Herwig, W., Iselin, H., et al. Immunogenicity of a hepatitis B subunit vaccine in hemodialysis and in renal transplant recipients. **Antiviral Res** ; 3(1):43-52,1983.
- Guan, R., Tay, H.H., Choong, H.L., Yap, I., Woo, K.T. Hepatitis B vaccination in chronic renal failure patients undergoing haemodialysis: the immunogenicity of an increased dose of a recombinant DNA hepatitis B vaccine. **Ann Acad Med Singapore** ; 19(6):793-7,1990.
- Hadler, S.C., Francis, D.P., Maynard, J.E., Thompson, S.E., Judson, F.N., Echenberg, D.F., Ostrow, D.G., O'Malley, P.M., Penley, K.A., Altman, N.L., et al. Long-term immunogenicity and efficacy of hepatitis B vaccine in homosexual men. **N Engl J Med**; 315(4):209-14,1986.
- Hadler, S.C., Margolis, H.S. Hepatitis B immunization: vaccine types, efficacy, and indications for immunization. **Curr Clin Top Infect Dis** ; 12:282-308,1992.
- Harrison, L.H., do Lago, R.F., Friedman, R.K., Rodrigues, J., Santos, E.M., de Melo, M.F., Moulton, L.H., Schechter, M. Incident HIV infection in a high-risk, homosexual, male cohort in Rio de Janeiro, Brazil. **J Acquir Immune Defic Syndr** ; 21(5):408-12,1999.
- Hauser, P., Voet, P., Simoen, E., Thomas, H.C., Petre, J., De Wilde, M., Stephenne, J. Immunological properties of recombinant HBsAg produced in yeast. **Postgrad Med J**; 63(Suppl 2):83-91,1987.
- Herroelen, L., de Keyser, J., Ebinger, G. Central-nervous-system demyelination after immunisation with recombinant hepatitis B vaccine. **Lancet**; 338(8776):1174-5,1991.

- Hilleman, M.R., Buynak, E.B., Roehm, R.R., Tytell, A.A., Bertland, A.U., Lampson, G.P. Purified and inactivated human hepatitis B vaccine: progress report. **Am J Med Sci**; 270(2):401-4,1975.
- Hirsch, R.C., Lavine, J.E., Chang, L.J., Varmus, H.E., Ganem, D. Polymerase gene products of hepatitis B viruses are required for genomic RNA packaging as well as for reverse transcription. **Nature**; 344(6266):552-5,1990.
- Hollinger, F.B. Factors influencing the immune response to hepatitis B vaccine, booster dose guidelines, and vaccine protocol recommendations. **Am J Med**; 87(3A):36S-40S,1989.
- Hourvitz, A., Mosseri, R., Solomon, A., Yehezkeli, Y., Atsmon, J., Danon, Y.L., Koren, R., Shouval, D. Reactogenicity and immunogenicity of a new recombinant hepatitis B vaccine containing Pre S antigens: a preliminary report. **J Viral Hepat**; 3(1):37-42.,1996.
- Jabaaïj, L., Grosheide, P.M., Heijtkink, R.A., Duivenvoorden, H.J., Ballieux, R.E., Vingerhoets, A.J. Influence of perceived psychological stress and distress on antibody response to low dose rDNA hepatitis B vaccine. **J Psychosom Res**; 37(4):361-9,1993.
- Jacobson, I.M., Dienstag, J.L., Zachoval, R., Hanrahan, B.A., Watkins, E., Rubin, R.H. Lack of effect of hepatitis B vaccine on T-cell phenotypes. **N Engl J Med**; 311(16):1030-2,1984.
- Jilg, W., Schmidt, M., Deinhardt, F., Zachoval, R. Hepatitis B vaccination: how long does protection last? [letter]. **Lancet**; 2(8400):458,1984.
- Jilg, W., Schmidt, M., Deinhardt, F. Persistence of specific antibodies after hepatitis B vaccination. **J Hepatol**; 6(2):201-7,1988.
- Jilg, W., Schmidt, M., Deinhardt, F. Vaccination against hepatitis B: comparison of three different vaccination schedules. **J Infect Dis**; 160(5):766-9,1989.
- Jilg, W., Schmidt, M., Deinhardt, F. Four-year experience with a recombinant hepatitis B vaccine. **Infection**; 17(2):70-6,1989.

- Jones, C.D., Page, M., Bacon, A., Cahill, E., Bentley, M., Chatfield, S.N. Characterization of the T- and B-cell immune response to a new recombinant pre-S1, pre-S2 and SHBs antigen containing hepatitis B vaccine (Hepagene); evidence for superior anti-SHBs antibody induction in responder mice. **J Viral Hepat**; 5 Suppl 2:5-8.,1998.
- Kamel, M., el Manialawi, M., Miller, F.D. Recombinant hepatitis B vaccine immunogenicity in presence of hepatitis C virus seropositivity [letter]. **Lancet**; 343(8896):552,1994.
- Kaplanski, G., Retornaz, F., Durand, J., Soubeyrand, J. Central nervous system demyelination after vaccination against hepatitis B and HLA haplotype [letter]. **J Neurol Neurosurg Psychiatry**; 58(6):758-9,1995.
- Kaufmann, R., Mondorf, A.W., Uthemann, H., Bauer, H., Prince, A.M. Hepatitis B vaccine: safety study in anti-HBs seronegative human volunteers. **Dev Biol Stand**; 54:229-35,1983.
- Kingsley, L.A., Rinaldo, C.R., Lyter, D.W., Valdiserri, R.O., Belle, S.H., Ho, M. Sexual transmission efficiency of hepatitis B virus and human immunodeficiency virus among homosexual men. **JAMA**; 264(2):230-4,1990.
- Klinkert, M.Q., Theilmann, L., Pfaff, E., Schaller, H. Pre-S1 antigens and antibodies early in the course of acute hepatitis B virus infection. **J Virol**; 58(2):522-5.,1986.
- Koziol, D.E., Saah, A.J., Odaka, N., Munoz, A. A comparison of risk factors for human immunodeficiency virus and hepatitis B virus infections in homosexual men. **Ann Epidemiol**; 3(4):434-41,1993.
- Krogsgaard, K., Lindhardt, B.O., Nielson, J.O., Anderson, P., Kryger, P.e.a. The influence of HTLV-III infection on the natural history of hepatitis B virus infection in male homosexual HBsAg carriers. **Hepatology**; 7:37-41,1987.
- Kroon, F.P., Rimmelzwaan, G.F., Roos, M.T., Osterhaus, A.D., Hamann, D., Miedema, F., van Dissel, J.T. Restored humoral immune response to influenza vaccination in HIV-infected adults treated with highly active antiretroviral therapy. **Aids**; 12(17):F217-23.,1998.

- Krugman, S., Giles, J.P., Hammond, J. Viral hepatitis, type B (MS-2 strain) prevention with specific hepatitis B immune serum globulin. **Jama**; 218(11):1665-70,1971.
- Krugman, S., Giles, J.P., Hammond, J. Viral hepatitis, type B (MS-2 strain). Studies on active immunization. **Jama**; 217(1):41-5,1971.
- Krugman, S., Holley, H.P., Jr., Davidson, M., Simberkoff, M.S., Matsaniotis, N. Immunogenic effect of inactivated hepatitis B vaccine: comparison of 20 microgram and 40 microgram doses. **J Med Virol**; 8(2):119-21,1981.
- Landers, T.A., Greenberg, H.B., Robinson, W.S. Structure of hepatitis B Dane particle DNA and nature of the endogenous DNA polymerase reaction. **J Virol**; 23(2):368-76,1977.
- Lebovics, E., Dworkin, B.M., Heier, S.K., Rosenthal, W.S. The hepatobiliary manifestations of human immunodeficiency virus infection. **Am J Gastroenterol**; 83(1):1-7,1988.
- Lemon, S.M., Thomas, D.L. Vaccines to prevent viral hepatitis. **N Engl J Med**; 336(3):196-204,1997.
- Leroux-Roels, G., Van Hecke, E., Michielsens, W., Voet, P., Hauser, P., Petre, J. Correlation between in vivo humoral and in vitro cellular immune responses following immunization with hepatitis B surface antigen (HBsAg) vaccines. **Vaccine**; 12(9):812-8,1994.
- Leroux-Roels, G., Desombere, I., Cobbaut, L., Petit, M.A., Desmons, P., Hauser, P., Delem, A., De Grave, D., Safary, A. Hepatitis B vaccine containing surface antigen and selected preS1 and preS2 sequences. 2. Immunogenicity in poor responders to hepatitis B vaccines. **Vaccine**; 15(16):1732-6,1997.
- Lindsay, K.L., Herbert, D.A., Gitnick, G.L. Hepatitis B vaccine: low postvaccination immunity in hospital personnel given gluteal injections. **Hepatology**; 5(6):1088-90,1985.
- Loke, R.H., Murray-Lyon, I.M., Coleman, J.C., Evans, B.A., Zuckerman, A.J. Diminished response to recombinant hepatitis B vaccine in homosexual men with HIV antibody: an indicator of poor prognosis. **J Med Virol**; 31(2):109-11,1990.

- Lundgren, J.D., Pedersen, C., Clumeck, N., Gatell, J.M., Johnson, A.M., Ledergerber, B., Vella, S., Phillips, A., Nielsen, J.O. Survival differences in European patients with AIDS, 1979-89. The AIDS in Europe Study Group. **Bmj**; 308(6936):1068-73,1994.
- Manegold, C., Hannoun, C., Wywiol, A., Dietrich, M., Polywka, S., Chiwakata, C.B., Gunther, S. Reactivation of hepatitis B virus replication accompanied by acute hepatitis in patients receiving highly active antiretroviral therapy. **Clin Infect Dis**; 32(1):144-8.,2001.
- Marsano, L.S., Greenberg, R.N., Kirkpatrick, R.B., Zetterman, R.K., Christiansen, A., Smith, D.J., DeMedina, M.D., Schiff, E.R. Comparison of a rapid hepatitis B immunization schedule to the standard schedule for adults. **Am J Gastroenterol**; 91(1):111-5,1996.
- Maupas, P., Goudeau, A., Coursaget, P., Drucker, J., Bagros, P. Immunisation against hepatitis B in man. **Lancet**; 1(7974):1367-70,1976.
- Maupas, P., Goudeau, A., Coursaget, P., Drucker, J., Bagros, P., Baudin, S., Geslin, N. Vaccine against hepatitis B--18 months prevention in a high risk setting. **Med Microbiol Immunol (Berl)**; 166(1-4):109-18,1978.
- McLean, A.A., Shaw, R., Jr. Hepatitis B vaccine [letter]. **Ann Intern Med**; 97(3):451,1982.
- McMaster, K.R.d., Roper, J.K., Carter, J.B. Intradermal hepatitis B vaccination in a 300-bed primary care hospital: experience with a recombinant vaccine in a four-dose schedule. **Am J Infect Control**; 21(6):283-8,1993.
- McNair, A.N., Main, J., Thomas, H.C. Interactions of the human immunodeficiency virus and the hepatotropic viruses. **Semin Liver Dis**; 12(2):188-96,1992.
- Mendes-Correa, M.C., Barone, A.A., Cavaleiro, N., Tengan, F.M., Guastini, C. Prevalence of hepatitis B and C in the sera of patients with HIV infection in Sao Paulo, Brazil. **Rev Inst Med Trop Sao Paulo**; 42(2):81-5.,2000.
- Milich, D.R., Thornton, G.B., Neurath, A.R., Kent, S.B., Michel, M.L., Tiollais, P., Chisari, F.V. Enhanced immunogenicity of the pre-S region of hepatitis B surface antigen. **Science**; 228(4704):1195-9.,1985.

- Milich, D.R., McLachlan, A., Chisari, F.V., Kent, S.B., Thorton, G.B. Immune response to the pre-S(1) region of the hepatitis B surface antigen (HBsAg): a pre-S(1)-specific T cell response can bypass nonresponsiveness to the pre-S(2) and S regions of HBsAg. **J Immunol**; 137(1):315-22.,1986.
- Miller, K.D., Gibbs, R.D., Mulligan, M.M., Nutman, T.B., Francis, D.P. Intradermal hepatitis B virus vaccine: immunogenicity and side-effects in adults. **Lancet**; 2(8365-66):1454-6,1983.
- Monteyne, P., Andre, F.E. Is there a causal link between hepatitis B vaccination and multiple sclerosis? **Vaccine**; 18(19):1994-2001,2000.
- Ockenga, J., Tillmann, H.L., Trautwein, C., Stoll, M., Manns, M.P., Schmidt, R.E. Hepatitis B and C in HIV-infected patients. Prevalence and prognostic value. **J Hepatol**; 27(1):18-24,1997.
- Odaka, N., Eldred, L., Cohn, S., Munoz, A., Fields, H.A., Fox, R., Solomon, R., Kaslow, R., Polk, B.F. Comparative immunogenicity of plasma and recombinant hepatitis B virus vaccines in homosexual men. **Jama**; 260(24):3635-7,1988.
- Ohnuma, H., Machida, A., Takai, E., Tsuda, F., Miyamoto, H., Tanaka, T., Oda, K., Usuda, S., Nakamura, T., Miyakawa, Y., et al. Translation products of pre-S(1), pre-S(2) regions and the S gene of hepatitis B virus: susceptibility of their antigenic activities to treatment with heat, urea, formalin or pepsin. **Clin Exp Immunol**; 66(3):709-15,1986.
- Ohnuma, H., Machida, A., Okamoto, H., Tsuda, F., Sakamoto, M., Tanaka, T., Miyakawa, Y., Mayumi, M. Allelic subtypic determinants of hepatitis B surface antigen (i and t) that are distinct from d/y or w/r. **J Virol**; 67(2):927-32,1993.
- Papaevangelou, G., Roumeliotou-Karayannis, A., Vissoulis, C., Richardson, S.C., Krugman, S. Immunogenicity of a five-microgram dose of hepatitis B vaccine. **J Med Virol**; 15(1):65-9,1985.
- Pastore, G., Santantonio, T., Monno, L., Milella, M., Luchena, N., Angarano, G. Effects of HIV superinfection on HBV replication in a chronic HBsAg carrier with liver disease. **J Hepatol**; 7(2):164-8.,1988.

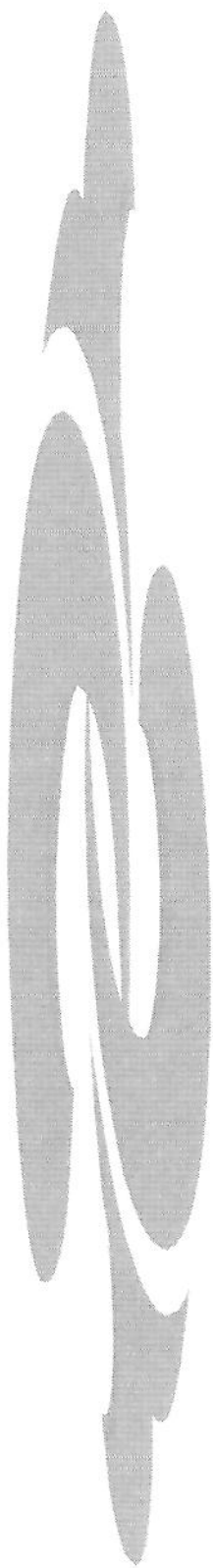
- Perrillo, R.P., Regenstein, F.G., Roodman, S.T. Chronic hepatitis B in asymptomatic homosexual men with antibody to human immunodeficiency virus. **Ann Intern Med**; 105:382-3,1986.
- Petre, J., Van Wijnendaele, F., De Neys, B., Conrath, K., Van Opstal, O., Hauser, P., Rutgers, T., Cabezon, T., Capiau, C., Harford, N., et al. Development of a hepatitis B vaccine from transformed yeast cells. **Postgrad Med J**; 63(Suppl 2):73-81,1987.
- Petry, L.J., Weems, L.B.d., Livingstone, J.N.d. Relationship of stress, distress, and the immunologic response to a recombinant hepatitis B vaccine. **J Fam Pract**; 32(5):481-6,1991.
- Player, V.A., White, D. Comparison of an ELISA system for the quantification of hepatitis B antibody with an automated and a semi-automated system. **J Virol Methods**; 45(1):67-72.,1993.
- Pozzilli, P., Arduini, P., Visalli, N., Sutherland, J., Pezzella, M., Galli, C., Corradini, S.G., Biasio, L., Gale, E.A., Andreani, D. Reduced protection against hepatitis B virus following vaccination in patients with type 1 (insulin-dependent) diabetes. **Diabetologia**; 30(10):817-9,1987.
- Raimondo, G., Stemler, M., Schneider, R., Wildner, G., Squadrito, G., Will, H. Latency and reactivation of a precore mutant hepatitis B virus in a chronically infected patient. **J Hepatol**; 11(3):374-80,1990.
- Ramon Torrell, J.M., Salas, C.M., Goicouria, C.C., Garcia, C.I., Joradana, J.M.E. Respuesta inmunitaria a la vacuna contra la hepatitis B obtenida por ingeniería genética. **Revista Clinica Española**; 188(2):68 - 71,1991.
- Redfield, R.R., Innis, B.L., Scott, R.M., Cannon, H.G., Bancroft, W.H. Clinical evaluation of low-dose intradermally administered hepatitis B virus vaccine. A cost reduction strategy. **Jama** ; 254(22):3203-6,1985.
- Renard, J.L., Guillamo, J.S., Ramirez, J.M., Taillia, H., Felten, D., Buisson, Y. Acute transverse cervical myelitis following hepatitis B vaccination. Evolution of anti-HBs antibodies. **Presse Med** ; 28(24):1290-2,1999.

- Rodriguez-Rosado, R., Garcia-Samaniego, J., Soriano, V. Hepatotoxicity after introduction of highly active antiretroviral therapy [letter]. **Aids** ; 12(10):1256,1998.
- Rogerson, S.J., Nye, F.J. Hepatitis B vaccine associated with erythema nodosum and polyarthritis. **Bmj** ; 301(6747):345,1990.
- Roome, A.J., Walsh, S.J., Cartter, M.L., Hadler, J.L. Hepatitis B vaccine responsiveness in Connecticut public safety personnel. **Jama** ; 270(24):2931-4,1993.
- Rumi, M., Colombo, M., Romeo, R., Boschini, A., Zanetti, A., Gringeri, A., Mannucci, P.M. Suboptimal response to hepatitis B vaccine in drug users. **Arch Intern Med**; 151(3):574-8,1991.
- Rustgi, V.K., Hoofnagle, J.H., Gerin, J.L., Gelmann, E.P., Reichert, C.M., Cooper, J.N., Macher, A.M. Hepatitis B virus infection in the acquired immunodeficiency syndrome. **Ann Intern Med** ; 101(6):795-7,1984.
- Sadovnick, A.D., Scheifele, D.W. School-based hepatitis B vaccination programme and adolescent multiple sclerosis [letter]. **Lancet** ; 355(9203):549-50,2000.
- Scharschmidt, B.F., Held, M.J., Hollander, H.H., Read, A.E., Lavine, J.E., Veereman, G., McGuire, R.F., Thaler, M.M. Hepatitis B in patients with HIV infection: relationship to AIDS and patient survival. **Ann Intern Med**; 117(10):837-8,1992.
- Scolfaro, C., Fiammengio, P., Balbo, L., Madon, E., Tovo, P.A. Hepatitis B vaccination in HIV-1-infected children: double efficacy doubling the paediatric dose. **Aids**; 10(10):1169-70.,1996.
- Shaw, F.E., Jr., Guess, H.A., Roets, J.M., Mohr, F.E., Coleman, P.J., Mandel, E.J., Roehm, R.R., Jr., Talley, W.S., Hadler, S.C. Effect of anatomic injection site, age and smoking on the immune response to hepatitis B vaccination. **Vaccine** ; 7(5):425-30,1989.
- Sinicco, A., Raiteri, R., Sciandra, M., Bertone, C., Lingua, A., Salassa, B., Gioannini, P. Coinfection and superinfection of hepatitis B virus in patients infected with human immunodeficiency virus: no evidence of faster progression to AIDS. **Scand J Infect Dis** ; 29(2):111-5,1997.

- Solomon, R.E., VanRaden, M., Kaslow, R.A., Lyter, D., Visscher, B., Farzadegan, H., Phair, J. Association of hepatitis B surface antigen and core antibody with acquisition and manifestations of human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) infection. **Am J Public Health** ; 80(12):1475-8,1990.
- Spandau, D.F., Lee, C.H. trans-activation of viral enhancers by the hepatitis B virus X protein. **J Virol** ; 62(2):427-34,1988.
- Stajich, G.V., Lopez, G.P., Harry, S.W., Sexson, W.R. Iatrogenic exposure to mercury after hepatitis B vaccination in preterm infants. **J Pediatr** ; 136(5):679-81.,2000.
- Stastny, P., Ball, E.J., Dry, P.J., Nunez, G. The human immune response region (HLA-D) and disease susceptibility. **Immunol Rev**; 70:113-53,1983.
- Stratton, K.R., Howe, C.J., Johnston, R.B., Jr. Adverse events associated with childhood vaccines other than pertussis and rubella. Summary of a report from the Institute of Medicine. **Jama**; 271(20):1602-5,1994.
- Stucchi R. Avaliação da resposta imunológica à vacina contra hepatite B aplicada pelas vias intradérmica ou intramuscular em profissionais da saúde de hospital universitário: seguimento de 5 anos. Tese de doutoramento, Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas, Campinas – SP, 1996.
- Struve, J., Aronsson, B., Frenning, B., Granath, F., von Sydow, M., Weiland, O. Intramuscular versus intradermal administration of a recombinant hepatitis B vaccine: a comparison of response rates and analysis of factors influencing the antibody response. **Scand J Infect Dis** ; 24(4):423-9,1992.
- Sulkowski, M.S., Thomas, D.L., Chaisson, R.E., Moore, R.D. Hepatotoxicity associated with antiretroviral therapy in adults infected with human immunodeficiency virus and the role of hepatitis C or B virus infection. **Jama**; 283(1):74-80,2000.
- Sullivan, P.S., Hanson, D.L., Dworkin, M.S., Jones, J.L., Ward, J.W. Effect of influenza vaccination on disease progression among HIV-infected persons. **Aids**; 14(17):2781-5.,2000.

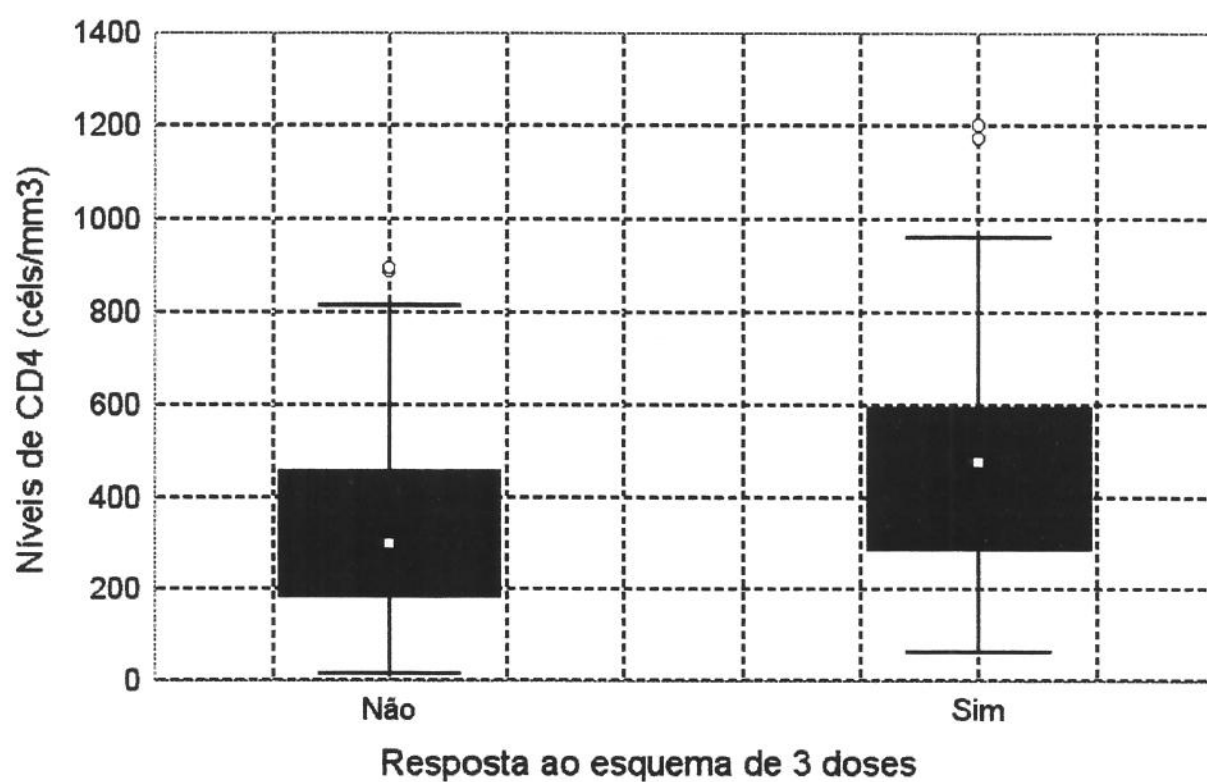
- Taylor, P.E., Stevens, C.E., Rodriguez de Cordoba, S., Rubenstein, P. Hepatitis B virus and human immunodeficiency virus: possible interactions. In: Zuckerman AJ, ed. Viral hepatitis and liver disease. New York: Alan R. Liss, 1988: 198-200.
- Tourbah, A., Gout, O., Liblau, R., Lyon-Caen, O., Bougniot, C., Iba-Zizen, M.T., Cabanis, E.A. Encephalitis after hepatitis B vaccination: recurrent disseminated encephalitis or MS? **Neurology**; 53(2):396-401,1999.
- Twu, J.S., Lee, C.H., Lin, P.M., Schloemer, R.H. Hepatitis B virus suppresses expression of human beta-interferon. **Proc Natl Acad Sci U S A** ; 85(1):252-6,1988.
- Twu, J.S., Schloemer, R.H. Transcription of the human beta interferon gene is inhibited by hepatitis B virus. **J Virol**; 63(7):3065-71,1989.
- Twu, J.S., Chu, K., Robinson, W.S. Hepatitis B virus X gene activates kappa B-like enhancer sequences in the long terminal repeat of human immunodeficiency virus 1. **Proc Natl Acad Sci U S A**; 86(13):5168-72,1989.
- Twu, S.J., Detels, R., Nelson, K., Visscher, B.R., Kaslow, R., Palenicek, J., Phair, J. Relationship of hepatitis B virus infection to human immunodeficiency virus type 1 infection. **J Infect Dis**; 167(2):299-304,1993.
- Ukena, T., Esber, H., Bessette, R., Parks, T., Crocker, B., Shaw, F.E., Jr. Site of injection and response to hepatitis B vaccine [letter]. **N Engl J Med**; 313(9):579-80,1985.
- Usonis, V., Kuhn, P., Brede, H.D., Doerr, H.W. Humoral immune response after hepatitis-B-vaccination: kinetics of anti-HBs antibodies and demonstration of HLA antigens. **Zentralbl Bakteriol Mikrobiol Hyg [A]**; 262(3):377-84,1986.
- Valdez, H., Smith, K.Y., Landay, A., Connick, E., Kuritzkes, D.R., Kessler, H., Fox, L., Spritzler, J., Roe, J., Lederman, M.B., et al. Response to immunization with recall and neoantigens after prolonged administration of an HIV-1 protease inhibitor-containing regimen. ACTG 375 team. AIDS Clinical Trials Group. **Aids** ; 14(1):11-21.,2000.
- Vento, S., Di Perri, G., Garofano, T., Concia, E., Bassetti, D. Reactivation of hepatitis B in AIDS. **Lancet** ; 2(8654):108-9.,1989.

- Wainwright, R.B., Bulkow, L.R., Parkinson, A.J., Zanis, C., McMahon, B.J. Protection provided by hepatitis B vaccine in a Yupik Eskimo population--results of a 10-year study. **J Infect Dis** ; 175(3):674-7,1997.
- Wakita, T., Kakumu, S., Shibata, M., Yoshioka, K., Ito, Y., Shinagawa, T., Ishikawa, T., Takayanagi, M., Morishima, T. Detection of pre-C and core region mutants of hepatitis B virus in chronic hepatitis B virus carriers. **J Clin Invest**; 88(6):1793-801,1991.
- Weber, D.J., Rutala, W.A., Samsa, G.P., Bradshaw, S.E., Lemon, S.M. Impaired immunogenicity of hepatitis B vaccine in obese persons [letter]. **N Engl J Med**; 314(21):1393,1986.
- Weissman, J.Y., Tsuchiyose, M.M., Tong, M.J., Co, R., Chin, K., Ettenger, R.B. Lack of response to recombinant hepatitis B vaccine in nonresponders to the plasma vaccine. **Jama**; 260(12):1734-8,1988.
- Wismans, P.J., van Hattum, J., Mudde, G.C., Endeman, H.J., Poel, J., de Gast, G.C. Is booster injection with hepatitis B vaccine necessary in healthy responders? A study of the immune response. **J Hepatol**; 8(2):236-40,1989.
- Wong, E.K., Bodsworth, N.J., Slade, M.A., Mulhall, B.P., Donovan, B. Response to hepatitis B vaccination in a primary care setting: influence of HIV infection, CD4+ lymphocyte count and vaccination schedule. **Int J STD AIDS** ; 7(7):490-4,1996.
- Wood, R.C., MacDonald, K.L., White, K.E., Hedberg, C.W., Hanson, M., Osterholm, M.T. Risk factors for lack of detectable antibody following hepatitis B vaccination of Minnesota health care workers. **Jama**; 270(24):2935-9,1993.
- Zanetti, A.R., Mannucci, P.M., Tanzi, E., Moroni, G.A., De Paschale, M., Morfini, M., Carnelli, V., Tirindelli, M.C., De Biasi, R., Ciavarella, N., et al. Hepatitis B vaccination of 113 hemophiliacs: lower antibody response in anti-LAV/HTLV-III-positive patients. **Am J Hematol**; 23(4):339-45,1986.



8. *ANEXOS*

Gráfico 1: Resposta ao esquema de 3 doses da vacina de hepatite B em 109 pacientes portadores do HIV e contagem de linfócitos T CD4.



Classificação da infecção pelo HIV – CDC, 1992

(extraído de: *Manual de HIV/AIDS, Rachid & Schechter, 5ª edição*)

Categorias Clínicas			
	A	B	C
	Assintomático, Linfadenopatia Generalizada Persistente ou Infecção Aguda	Sintomático, não A, não C	Condições indicativas de AIDS
> 500/mm ³	A1	B1	C1
200 a 499/mm ³	A2	B2	C2
< 200/mm ³	C1	C2	C3

Obs.: 1. Contagem de CD4 < 200/mm³ é definidora de AIDS, independentemente de manifestações clínicas.

2. Categoria clínica B: condições devem ser atribuídas ao HIV ou ter curso modificado pela infecção pelo HIV (por exemplo, candidíase oral ou vaginal, dermatite seborréica etc.) 3. Categoria clínica C: condições definidoras de AIDS de acordo com a definição do CDC de 1987, acrescidas de câncer cervical invasivo, pneumonia bacteriana recorrente (+ de 2 episódios em 1 ano) e tuberculose pulmonar.

