Daniela Vinhas Bertolini

**Imunogenicidade da vacina meningocócica
conjugada do grupo C em adolescentes e
adultos jovens com aids**

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

Programa de Pediatria
Orientadora: Dra. Heloísa Helena de Sousa
Marques

São Paulo

2014

Daniela Vinhas Bertolini

**Imunogenicidade da vacina meningocócica
conjugada do grupo C em adolescentes e
adultos jovens com aids**

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

Programa de Pediatria
Orientadora: Dra. Heloísa Helena de Sousa
Marques

(Versão corrigida. Resolução CoPGr 5890, de 20 de dezembro de 2010.

A versão original está disponível na Biblioteca FMUSP)

São Paulo

2014

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

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

©reprodução autorizada pelo autor

Bertolini, Daniela Vinhas

Imunogenicidade da vacina meningocócica conjugada do grupo C em adolescentes e adultos jovens com aids / Daniela Vinhas Bertolini. -- São Paulo, 2014.

Tese(doutorado)--Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.
Programa de Pediatria.

Orientadora: Heloísa Helena de Sousa Marques.

Descritores: 1.HIV 2.Síndrome de imunodeficiência adquirida 3.Vacinas meningocócicas 4.Imunização 5.Ensaio de anticorpos bactericidas séricos 6.Ensaio de imunoadsorção enzimática 7.Infecções por HIV/imunologia 8.Infecções por HIV/prevenção & controle 9.Criança 10.Adolescente 11.Adulto jovem

USP/FM/DBD-27/14

Dedicatória

*Ao meu amado João pelo seu amor,
compreensão e apoio incondicional.*

*As minhas princesas Giovanna e Luana, razão
do meu viver, fonte de amor, carinho e energia sempre.*

Agradecimentos

Agradeço inicialmente a Deus, que me deu força e equilíbrio para realizar o trabalho e superar todos os obstáculos impostos no transcorrer destes anos. Agradeço muito a Ele, também, por colocar pessoas maravilhosas em meu caminho que muito me ajudaram, apoiaram, torceram e vibraram com cada conquista.

Aos meus pais, Roberto e Adozinda que me forneceram toda a base e ferramentas necessárias, me trilhando na vida para que atingisse meus objetivos. Sem eles, nada disso teria sido possível. Minha gratidão e amor eterno.

Aos meus irmãos, Roberta, Marcel e Peter por todo o apoio sempre. Em especial para minha amada irmã Roberta, amiga e fiel companheira de todos os momentos.

À Dra. Heloísa Helena de Sousa Marques, orientadora e mentora, meu agradecimento eterno por guiar meus caminhos na Infectologia Pediátrica desde o princípio. Agradeço pela grande oportunidade e confiança de ter me orientado e acompanhado nesse projeto, o acolhimento, paciência, compreensão, incentivo e valorização de ideias, oportunidade de convívio e principalmente pelo aprendizado constante, sendo exemplo de um grande mestre.

À Dra. Helena Keiko Sato, por todo aprendizado na Infectologia Pediátrica, especialmente na área das vacinas, mundo que me apresentou e fascinou. Também minha mentora. Agradeço muito pela amizade, companheirismo, gentileza de sempre me orientar e apoiar em momentos críticos da pesquisa.

À Luciana Scarlazar Costa, por sua competência e imensurável ajuda em todas as análises estatísticas. Agradeço por todos os aprendizados, apoio, respeito e confiança creditado ao projeto e a mim e, principalmente, pela verdadeira amizade desenvolvida, consequente a todos os nossos contatos.

À Dra Silvia Figueiredo Costa, responsável pelo Laboratório de Bacteriologia do Instituto de Medicina Tropical da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo - Brasil (Laboratório de Investigação Médica, LIM-54, IMT), pela confiança depositada em mim e pela grande oportunidade de instalação e padronização das técnicas laboratoriais em seu laboratório. Sem esse fundamental apoio, nada disso teria sido possível. Agradeço igualmente a Inneke Marie van der Heijden, pelo apoio técnico nessa etapa, assim como, o incentivo e atenção dedicado durante a realização de toda a pesquisa e confecção dos artigos. Estendo meus agradecimentos especiais a Bruno Stuart de Castro e Tadeu Pernichelli, responsáveis pela realização dos testes nas amostras, pelo apoio e aprendizados oferecidos a mim na bancada.

À Maria Cecília O. Gorla e Angela Brandão da Bacteriologia, do Instituto Adolfo Lutz pelo suporte técnico oferecido durante a fase de implantação e padronização das técnicas laboratoriais.

Ao Dr. George Carlone e sua equipe, do Centers for Disease Control and Prevention (CDC), Division of Bacterial Diseases, Meningitis and Vaccine-Preventable Diseases Branch, que gentilmente forneceu a cepa de

meningococo sorogrupo C e os soros controles, essenciais para padronização das técnicas laboratoriais, além de prover suporte técnico nessa etapa do estudo.

Ao Dr. Raymond Borrow, da Manchester Medical Microbiology Partnership, Health Protection Agency, United Kingdom, pela assessoria técnica durante implantação e padronização das técnicas, além de discussão no estabelecimento dos correlatos de proteção adotados para o estudo.

Aos Professores, Dr. Alfredo Elias Gilio, Dra. Cristina Miuki Abe Jacob e Dra. Daisy Maria Machado, que colaboraram imensamente para o enriquecimento do estudo com as valiosas sugestões feitas na qualificação.

À Adriana Balduino de Azevedo, enfermeira do Setor de Pediatria – Hospital-Dia do Centro de Referência e Treinamento em DST/Aids – Programa Estadual São Paulo, pela sua valiosa colaboração na coleta das amostras e realização dos testes rápidos nos adolescentes.

À Maria das Graças Costa Cavalcante do laboratório do Centro de Referência e Treinamento em DST/Aids – Programa Estadual São Paulo e Patrícia Palmeira do Instituto da Criança, pelo armazenamento das amostras até encaminhamento destas ao Instituto de Medicina Tropical.

Às Dras. Mariliza Henrique da Silva, chefe do Setor de Pediatria – Hospital-Dia do Centro de Referência e Treinamento em DST/Aids – Programa Estadual de DST/Aids São Paulo e Cristina Mendes de Almeida, chefe do SAE DST/Aids – Lapa – Programa Municipal de DST/Aids da Cidade de São Paulo, pela compreensão, apoio e colaboração durante todo transcorrer do estudo.

À Dra Cláudia Maria Menezes Aben-Athar Ivo e Dr. Sidnei Rana Pimentel do Centro de Referência e Treinamento em DST/Aids – Programa Estadual São Paulo e Dra. Samantha Brasil Andrade do Instituto da Criança – HCFMUSP pelo encaminhamento e colaboração na seleção dos pacientes participantes do estudo.

Às funcionárias das Salas de Vacinas do Centro de Referência e Treinamento em DST/Aids – Programa Estadual São Paulo e do Instituto da Criança do Hospital das Clínicas da Universidade de São Paulo, por toda colaboração e apoio na vacinação dos pacientes do estudo.

As minhas tias e tio, Vera, Rosa e Rodolpho e aos primos - irmãos Luciana, Juliana e Rodolpho por toda torcida sempre.

A todos os amigos, em especial a Eliana Galano e Derli Oliveira, do Centro de Referência e Treinamento em DST/Aids – Programa Estadual São Paulo, Dalva Helena Gadioli Cortez, do Conjunto Hospitalar do Mandaqui, Maria do Socorro Carneiro Ferrão, do Instituto de Infectologia Emílio Ribas e Armanda Arias Garrido e Célio Almeida de Carvalho, do SAE DST/Aids – Lapa – Programa Municipal da Cidade de São Paulo, pela amizade, apoio e colaboração nestes anos.

Ao Padre Jorge Pierozan, o Padre Rocha, pelas eternas palavras de “Força e Coragem”, que tanto me impulsionaram nestes anos da pós-graduação.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico do Brasil – CNPq, pelo financiamento oferecido ao estudo.

Finalizo, agradecendo de forma muitíssimo especial a todos os adolescentes e familiares envolvidos no estudo, do Centro de Referência e

Treinamento em DST/Aids, do Instituto da Criança, aos responsáveis e adolescentes da Associação Marly Cury, PIVI (Projeto de Incentivo à Vida) e Abrigo Reviver, pela colaboração, disponibilidade e entendimento da importância de estudos que possibilitem o avanço dos conhecimentos na área de HIV/Aids.

“Entrega o teu caminho ao Senhor;
confia nele, e Ele o fará.”

Salmos 37:5

Esta tese está de acordo com as seguintes normas, em vigor no momento desta publicação:

Referências: adaptado de *International Committee of Medical Journals Editors* (Vancouver).

Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina. Divisão de Biblioteca e Documentação. *Guia de apresentação de dissertações, teses e monografias*. Elaborado por Anneliese Carneiro da Cunha, Maria Julia A.L. Freddi, Maria F. Crestana, Marinalva de S. Aragão, Suely Campos Cardoso, Valéria Vilhena. 3a ed. São Paulo: Divisão de Biblioteca e Documentação; 2011.

Abreviaturas dos títulos dos periódicos de acordo com *List of Journals Indexed in Index Medicus*.

Sumário

1. INTRODUÇÃO.....	1
1.1 Panorama geral da aids.....	2
1.2 Aids: alterações imunológicas e apresentações clínicas	3
1.3 Aids e meningites.....	5
1.4 Aids e vacinas.....	6
1.5 Doença Meningocócica e vacinas meningocócicas	9
1.5.1 Alterações imunológicas e fisiopatologia da doença.....	9
1.5.2 Epidemiologia da doença.....	11
1.5.3 Vacinas meningocócicas.....	14
2. OBJETIVOS.....	18
2.1 Geral	18
2.2 Específicos.....	18
3. MÉTODOS.....	19
3.1 Desenho do estudo.....	19
3.2 Critérios de inclusão	22
3.3 Local do estudo.....	24
3.4. Aspectos Éticos	24
3.5 Financiamento	25
3.6 Avaliação laboratorial.....	25

3.7 Análise Estatística.....	29
4. RESULTADOS.....	32
4.1 Resultados gerais	32
4.2 Resposta à vacina do Meningococo	33
4.3 Níveis de anticorpos antes e após a vacina.....	37
4.4 Relação entre as técnicas SBA x ELISA.....	39
4.5 Grupo A – HIV: características e associações com a resposta vacinal .	43
4.6 Resposta à revacinação	57
4.7 Eventos adversos	60
5. DISCUSSÃO	62
5.1 Considerações gerais	62
5.2 Considerações sobre resposta vacinal	63
5.3 Considerações sobre as técnicas SBA e ELISA.....	677
5.4 Considerações sobre as características do grupo HIV e resposta vacinal	711
5.5 Considerações sobre eventos adversos	73
6. CONCLUSÃO	75
7. COMENTÁRIOS FINAIS.....	76
ANEXOS.....	78
Anexo 1: Formulário Grupo A	78
Anexo 2: Formulário Grupo B	81
Anexo 3: Formulário 2 Grupo A	84

Anexo 4: Termo de Aprovação da Comissão de Ética do Centro de Referência e Treinamento em DST/Aids	86
Anexo 5: Termo de Aprovação da Comissão de Ética do Instituto da Criança - HCFMUSP	87
Anexo 6: Termos de Consentimento dos Grupos A e B	88
Anexo 7: Descrição da técnica de SBA	113
Anexo 8: Descrição da técnica de ELISA	119
Anexo 9: Tabelas descritivas dos pacientes do grupo A.....	121
REFERÊNCIAS	126
APÊNDICES	147
Artigo publicado – Vaccine 30 (2012) 5482-5486.	147
Artigo a ser submetido	152

Listas

Lista de Figuras

- Figura 1.** Média geométrica de titulação (GMT) dada pelo teste de SBA (escala logarítmica) e respectivo intervalo de confiança de 95%, antes e após 1 mês de vacinação, de acordo com os grupos 355
- Figura 2.** Média geométrica de concentração (GMC) dada pelo teste ELISA e respectivo intervalo de confiança de 95%, antes e após 1 mês de vacinação, de acordo com os grupos 35
- Figura 3.** Relação entre os níveis de SBA e ELISA para os anticorpos do meningococo sorogrupo C, no momento pré-vacinal, nos grupos HIV (A) e saudáveis.(B) 39
- Figura 4.** Relação entre os níveis de SBA e ELISA para os anticorpos do meningococo sorogrupo C, um mês após a vacinação, nos grupos HIV (A) e saudáveis.(B) 400
- Figura 5.** Relação entre os níveis de SBA e ELISA para os anticorpos do meningococo sorogrupo C, após a aplicação da vacina nos indivíduos do grupo HIV (A) que receberam a segunda dose da vacina 411
- Figura 6.** Relação entre os níveis de SBA e ELISA para os anticorpos do meningococo sorogrupo C, após a aplicação da vacina nos indivíduos, para o grupo dos que não receberam vacina polissacarídica prévia. 422

Lista de Tabelas

Tabela 1 - Doença Meningocócica: Casos e Porcentagens por sorogrupo – Estado de São Paulo – 1998 a 2013.	135
Tabela 2 - Estatística descritiva para os pacientes dos grupos A e B	32
Tabela 3 - Comparação entre grupos para SBA e ELISA pré e pós-vacina MCC-CRM ₁₉₇	344
Tabela 4 - Resposta à vacina de acordo com os títulos de SBA dos pacientes dos dois grupos, categorizados de acordo com o critério de proteção.....	366
Tabela 5 - Resposta à vacina, de acordo com os títulos de SBA.....	37
Tabela 6 - Comparação entre SBA (GMT) e ELISA (GMC) pré e pós-vacina (1 dose), de acordo com os grupos de vacinação (vacina MCC-CRM ₁₉₇) .	38
Tabela 7 - Descrição dos pacientes do grupo A, de acordo com parâmetros clínicos e laboratoriais (Classificação CDC, CD4 absoluto e percentual no momento da vacinação, Carga Viral no momento da vacinação, falha terapêutica e presença de sintomatologia)	43
Tabela 8 - Descrição dos pacientes do grupo A, de acordo com parâmetros clínicos e terapêuticos (Tempo de uso de antirretroviral, classes de drogas antirretrovirais utilizadas, presença de doença definidora de aids).....	45
Tabela 9 - Estatística descritiva para as variáveis clínicas.....	47
Tabela 10 - Descrição dos pacientes do grupo A com relação à resposta à vacina e parâmetros clínicos e laboratoriais (Classificação CDC, CD4 absoluto e percentual no momento da vacinação, Carga Viral no momento da vacinação, falha terapêutica e presença de sintomatologia).....	48
Tabela 11 - Descrição dos pacientes do grupo A com relação à resposta à vacina e parâmetros clínicos e de terapia ARV.	50

Tabela 12 - Descrição dos pacientes do grupo A com relação à resposta à vacina e parâmetros clínicos, laboratoriais e de terapia ARV.....	52
Tabela 13 - Descrição dos pacientes previamente protegidos (SBA pré-vacinal ≥ 8) antes da primeira dose da vacina.....	54
Tabela 14 - Descrição dos pacientes do grupo A com relação à proteção prévia e parâmetros clínicos e laboratoriais (Classificação CDC, CD4 absoluto e percentual, Carga Viral, falha terapêutica e presença de sintomatologia).....	56
Tabela 15 - Descrição individual dos pacientes do grupo A	121
Tabela 16 - Descrição individual dos pacientes do grupo A	123
Tabela 17 - Descrição dos pacientes que receberam a 2ª dose da vacina .	58
Tabela 18 - Comparação entre as médias com respectivo intervalo de confiança, medianas, valores mínimos e máximos de SBA pós-vacinal atingido pelo grupo A, subdividido nos grupos respondedores a 1 ou 2 doses de vacina (vacina MCC-CRM ₁₉₇)	59
Tabela 19 - Ocorrência de eventos adversos dentro dos grupos A e B	60
Tabela 20 – Eventos adversos com a vacina nos grupos A e B.....	61

Lista de Siglas

Aids	Síndrome da Imunodeficiência Humana Adquirida
ARV	Antirretroviral
BHI	Brain Heart Infusion
BVS	Biblioteca Virtual em Saúde
CAPPesq	Comissão de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa do HCFMUSP
CDC	Centers for Disease Control and Prevention
CD4	Linfócitos T-CD4
CD8	Linfócitos T-CD8
CNPq	Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico do Brasil
CO2	Dióxido de carbono
CV	Carga Viral do HIV
DM	Doença Meningocócica
DO	Densidade óptica
DST	Doença Sexualmente Transmissível
ELISA	Enzyme-Linked Immunosorbent Assay
GMC	Média geométrica de concentração
GMT	Média geométrica de titulação
HAART	Highly active antirretroviral treatment
HCFMUSP	Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo
HDL	High Density Lipoproteins
HIV	Vírus da Imunodeficiência Humana
H1N1	Influenza A subtipo H1N1
HPV	Human papiloma virus
IC	Intervalo de confiança
IE	Inibidores de Entrada – antagonistas do CCR5

IF	Inibidores de Fusão
IgA	Imunoglobulina A
IgG	Imunoglobulina G
IgM	Imunoglobulina M
II	Inibidores de Integrase
IL	Interleucina
IMC	Índice de massa corpórea
IMT	Instituto de Medicina Tropical
IP	Inibidores de Protease
ITRN	Inibidores da Transcriptase Reversa Análogos de Nucleosídeo/Nucleotídeo
ITRNN	Inibidores da Transcriptase Reversa Não Análogos de Nucleosídeo
LDL	Low Density Lipoproteins
LIM	Laboratório de Investigação Médica
LPS	Lipopolissacarídeos
NIBSC	National Institute for Biological Standards and Control
OMS	Organização Mundial da Saúde
PBS-Brij 35	Solução tampão para o ELISA de meningococo
PNPP	p-nitrofenil fosfato dissódico
Ps-mHSA	Polissacarídeo capsular – albumina humana metilada
SBA	Ação bactericida no soro
Siclon	Sistema de Controle Logístico de Medicamento
SIM	Sistema de Informação de Mortalidade
Sinan	Sistema de Informação de Agravos de Notificação
Siscel	Sistema de Controle de Exames Laboratoriais
SPSS	Statistical Package for the Social Sciences
TRECs	T-cell receptor excision circle

T60	Tempo de 60 minutos
VCN	Vancomicina, Colistina, Nistatina

Lista de Abreviaturas

Dr(a). doutor(a)

ed. edição

et al. e outros

n número de indivíduos

na não avaliado

p. página

Lista de Símbolos

kg	quilograma
log	logaritmo
mcg/mL	micrograma por mililitro
mg/dL	miligrama por decilitro
mL	mililitro
mm ³	milímetro cúbico
m ²	metro quadrado
ufc	unidade formadora de colônia
ufc/mL	unidade formadora de colônia por mililitro
vs	versus
µg/mL	micrograma por mililitro
µL	microlitro
%	porcentagem
>	maior
<	menor
≥	maior ou igual
≤	menor ou igual
-	negativo
+	positivo
—	intervalo entre dois extremos indicados, incluindo os próprios extremos
=	igual
x	vezes
°C	Grau Celsius

RESUMO

Bertolini DV. Imunogenicidade da vacina meningocócica conjugada do grupo C em adolescentes e adultos jovens com aids [Tese]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 2014.

Pacientes infectados pelo HIV apresentam resposta de imunogenicidade menor àquela obtida pela população geral com a imunização de rotina. A vacina meningocócica C conjugada é indicada para essa população, não existindo pesquisas prévias que avaliassem a imunogenicidade desta, para esse grupo específico. O estudo realizou essa avaliação comparando a resposta vacinal entre os pacientes infectados e não infectados pelo HIV, as relações dessa resposta com parâmetros clínicos e laboratoriais da infecção pelo vírus e os eventos adversos à vacinação. Utilizou-se as técnicas ensaios de anticorpos bactericidas séricos ou ação bactericida no soro (SBA) e o enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). Tratou-se de um ensaio clínico, envolvendo 92 pacientes, com idades entre 10-20 anos, sendo 43 infectados e 49 não infectados pelo HIV. Após a vacinação, 72,1% do grupo HIV+ e 100% do grupo HIV- foram considerados protegidos. Os pacientes do grupo HIV+ não respondedores à vacinação foram revacinados, tendo sido respondedores a essa nova dose 40% destes. Portanto, 81,4% dos pacientes infectados pelo HIV adquiriram proteção com a vacina (após uma ou duas doses). Foi encontrada correlação da resposta vacinal com o número de esquemas antirretrovirais previamente utilizados e carga viral pré-vacinação, não havendo outras associações com os demais parâmetros clínicos e laboratoriais da infecção pelo HIV. Pacientes com adequada resposta vacinal tenderam a ser os de menor idade. Efeitos colaterais ocorreram em 16,3% no grupo HIV+ e em 44% no HIV-. Conclui-se que a vacina meningocócica C conjugada é segura e efetiva para uso em adolescentes e adultos jovens com aids, embora a resposta de anticorpos seja menor do que a observada em indivíduos saudáveis. Isso indica a necessidade de discussão de novos esquemas de imunização em infectados

pelo HIV, objetivando uma proteção mais efetiva contra doença meningocócica.

Descritores: HIV, Síndrome de imunodeficiência adquirida, Vacinas meningocócicas, Imunização, Ensaio de anticorpos bactericidas séricos, Ensaio de imunoadsorção enzimática, Infecções por HIV/imunologia, Infecções por HIV/prevenção & controle, Criança, Adolescente, Adulto jovem.

ABSTRACT

Bertolini DV. Immunogenicity of a meningococcal serogroup C conjugate vaccine in AIDS adolescents and young adults [Thesis]. São Paulo: “Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo”; 2014.

Children and adolescents infected with HIV typically have a weaker response to immunization in comparison with the healthy population. The meningococcal C conjugate vaccine is routinely recommended for those individuals. No studies, however, have evaluated the antibody response to this vaccine in HIV-infected patients yet. In this study, we compared the antibody response to the meningococcal C conjugate vaccine between HIV-infected and HIV-uninfected patients using the serum bactericidal antibody assay (SBA) and the enzyme-linked immunoabsorbent assay (ELISA). Additional objectives were to determine whether the acquired immunity correlated with clinical and laboratory features of HIV infection, and to evaluate the vaccine side effects in this population. This clinical trial included 92 patients aged 10 to 20 years old: 43 HIV-infected and 49 HIV-uninfected patients. After one single dose of the vaccine, 72.1% of the HIV-infected and 100% of the HIV-uninfected patients were considered protected. Of the HIV-infected patients (non-responders in first dose) who received a second dose of the vaccine, only 40% reached protective antibody levels. Overall, 81.4% of the HIV-infected patients reached protective antibody titres (after one or two doses of the vaccine). The antibody response in HIV-infected patients correlated with the number of prior antiretroviral therapy schedules and with the pre-vaccination viral load, but with no other clinical features or laboratory tests. Patients with adequate vaccinal response tended to be younger. Side effects occurred in 16.3% and 44% of the HIV-infected and HIV-uninfected groups, respectively. In conclusion, the meningococcal serogroup C conjugate vaccine proved to be safe and effective in HIV-infected adolescents and young adults, although their antibody response was weaker than that of HIV-uninfected patients. These results suggest that the

immunization schedule for HIV-infected patients should be re-evaluated, in order to assure more effective protection against the meningococcal disease in this population.

Descriptors: HIV, Acquired immunodeficiency syndrome, Meningococcal vaccines, Immunization, Serum bactericidal antibody assay, Enzyme-linked immunosorbent assay, HIV infections/immunology, HIV infections/prevention & control, Child, Adolescent, Young adult.

1. INTRODUÇÃO

A Síndrome da Imunodeficiência Humana Adquirida - Aids é até atualidade, tema que move a comunidade científica, motivando esforços globais dos pesquisadores, no encontro não apenas da cura, mas de melhorias constantes na qualidade de vida oferecidas aos pacientes infectados pelo HIV. Estudos com novas drogas antirretrovirais potentes e seguras com minimização da possibilidade de eventos adversos, medidas profiláticas para infecções oportunistas, vacinas não apenas contra o HIV, mas também, para doenças imunopreveníveis nesta população específica são assuntos amplamente abordados, sendo este último de grande importância, pois, causa impacto direto na morbidade relacionada à infecção pelo HIV.

Quando estabelecemos uma relação entre a doença meningocócica e a aids, conseguimos curiosamente encontrar algumas semelhanças entre o comportamento de ambas. A preocupação e inquietude causada na comunidade científica, além do receio e alarde promovido na população geral é, respeitando-se as devidas proporções, semelhante, já que a doença meningocócica, assim como a aids, é considerada ainda um grave problema de saúde pública, com potencial alto de evolução para óbito ou para graves sequelas, caso o tratamento não seja instituído em momento adequado.

O desenvolvimento de vacinas para prevenção da doença meningocócica tem evoluído muito com o passar dos anos, alcançando avanços relevantes em termos de proteção, porém, a disponibilidade universal destas, infelizmente não é uma realidade, o que propicia ainda significativa susceptibilidade da população geral a essa terrível doença.

Os pacientes com aids que vivem em nosso país, têm indicação e garantia de imunização com a vacina meningocócica C conjugada, segundo

o Programa Nacional de Imunizações, até os 13 anos de idade. Desta forma, ainda um grande contingente da população infectada pelo HIV permanece susceptível à doença meningocócica, o que nos remete novamente a inquietude do risco atribuído a esses pacientes, não apenas pela situação epidemiológica em que vivemos, mas também, pela imunodepressão apresentada que naturalmente traz uma susceptibilidade maior a este grupo específico.

1.1 Panorama geral da aids

Após mais de 30 anos de sua identificação, a aids pode ser considerada a maior pandemia do século XX, sendo a sexta principal causa de morte no mundo segundo dados da Organização Mundial de Saúde (OMS) de 2011 e a terceira considerando-se apenas países de baixa renda^{1,2}. No ano de 2012, a OMS estimou haver 35,3 milhões de pessoas vivendo com HIV/aids em todo o mundo, sendo 32,1 milhões de adultos e 3,2 milhões de crianças menores de 15 anos. Estima-se que no mesmo ano ocorreram aproximadamente 2,3 milhões de novas infecções, sendo 300.000 em crianças, com 1,6 milhões de mortes em consequência de aids, sendo destas 210.000 em crianças³.

Segundo dados de 2010, do Sistema de Informação de Mortalidade (SIM) do Ministério da Saúde do Brasil, a aids encontra-se na 15ª posição como causa básica de morte em nosso país⁴. Os dados nacionais oficiais do último Boletim Epidemiológico do Ministério da Saúde (ano base 2013), até junho de 2013, notificados no Sinan (Sistema de Informações de Agravos de Notificação), declarados no SIM e registrados no Siscel/Siclon (Sistema de Controle de Exames Laboratoriais / Sistema de Controle Logístico de Medicamentos), contabilizaram 686.478 casos de aids, sendo 21.447 em crianças abaixo de 15 anos, 12.840 entre jovens de 15 à 19 anos e 59.356 entre 20 a 24 anos⁵. Do total de casos notificados, 379.045 (55,2% do total de casos registrados no Brasil) estão na região Sudeste do Brasil, sendo 217.367 casos em São Paulo, segundo dados do Boletim Epidemiológico da Secretaria de Estado da Saúde de São Paulo⁶.

Estima-se no Brasil, 718.000 pessoas vivendo com HIV/Aids, sendo observado tendência de aumento das taxas de prevalência da infecção pelo HIV nas populações mais jovens em todo Brasil⁵.

1.2 Aids: alterações imunológicas e apresentações clínicas

A aids é a manifestação mais grave e avançada da infecção pelo retrovírus humano HIV. A virulência do HIV resulta da sua capacidade de alterar a resposta imune normal e induzir uma disfunção imune crônica e progressiva. O indivíduo infectado torna-se conseqüentemente, vulnerável a infecções e neoplasias, comportando-se a aids como uma patologia de caráter consumptivo com potencial desfecho no óbito caso haja a evolução natural da doença^{1,7-9}.

As alterações imunológicas desencadeadas pelo vírus são complexas e heterogêneas, podendo ocorrer distúrbios em todos os setores do sistema imunológico. A depleção lenta e progressiva dos linfócitos T CD4+ circulantes é a alteração mais marcante da infecção pelo HIV e resulta numa imunodeficiência celular que permite a instalação de infecções oportunistas.

Antes mesmo de haver queda significativa de linfócitos T CD4+, verificam-se alterações na sua função, com perda progressiva de sua capacidade de reação a antígenos de memória, diminuição da resposta de hipersensibilidade tardia e alteração na capacidade de produzir citocinas responsáveis pela sinalização para outras células do sistema imunológico. As alterações nos linfócitos T CD8 e células “natural killer” também são características da doença⁷.

A imunidade humoral também se encontra desequilibrada na medida em que progride a infecção pelo HIV. Ocorre ativação policlonal dos linfócitos B, levando à produção espontânea, muitas vezes excessiva de imunoglobulinas, porém, com inabilidade funcional destas frente a antígenos T dependentes e independentes, apresentando uma resposta específica ruim. Nota-se uma hipergamaglobulinemia, principalmente, às custas de IgG e IgA⁷.

Os defeitos na resposta imune humoral estão presentes na maioria das crianças infectadas pelo HIV e, em geral, neste grupo, precedem a deficiência das células T e as alterações da imunidade celular, resultando em infecções bacterianas recorrentes, causadas por agentes comuns à faixa etária, principalmente germes encapsulados como *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae*, *Neisseria meningitidis*, entre outros^{8,9}.

A imaturidade do sistema imune do feto, recém-nascido e lactente, desencadeia diferenças na apresentação da aids na criança e no adulto. A disfunção imune humoral é habitualmente mais grave e precoce em crianças, o que propicia uma evolução e progressão da doença mais rápida do que nos adultos. A história natural da infecção pelo HIV no adulto caracteriza-se pela instalação de progressiva imunodeficiência, principalmente celular, com aparecimento, assim como nas crianças, de várias infecções, porém com possibilidade de outras manifestações como as neoplasias ou infecções oportunistas¹⁰⁻¹².

A infecção pelo HIV nas crianças pode apresentar grande variedade de apresentações clínicas, desde a ausência total de manifestações até a apresentação completa da síndrome. As infecções bacterianas recorrentes podem ser a primeira manifestação da doença nesta faixa etária. Elas incluem desde quadros leves a moderados, como otite média aguda ou crônica, sinusites, infecções cutâneas e do trato urinário, que se caracterizam pela elevada frequência, até infecções graves como pneumonias, abscessos de órgãos profundos, osteomielite, artrite séptica, septicemia, bacteremia, meningites, entre outras. As infecções são responsáveis por significativa morbidade, antes mesmo que o paciente tenha o diagnóstico de Aids, sendo reiterado que os agentes etiológicos isolados são os encontrados nas infecções que ocorrem na infância, em crianças sem imunodeficiência, incluindo entre eles a *Neisseria meningitidis*¹⁰.

1.3 Aids e meningites

Estudos apontam que a incidência de meningites bacterianas parece ser maior em pacientes infectados pelo HIV do que na população geral. Um estudo populacional realizado na Espanha indicou que indivíduos adultos infectados com contagens de CD4 maiores que 200 células/mm³ têm risco 40 a 50 vezes maior que a população geral de apresentar meningite bacteriana, enquanto que aqueles com contagens inferiores a 200 células/mm³ têm risco de cerca de 400 vezes maior. A etiologia encontrada foi o meningococo e pneumococo e a resposta ao tratamento foi semelhante àquela da população geral¹².

A infecção pelo HIV, já foi descrita em publicações anteriores, como um fator de risco para o desenvolvimento da doença meningocócica, havendo correlação com maiores taxas de mortalidade desta, neste grupo específico. Stephens et al realizaram estudo observacional prospectivo em Atlanta, durante cinco anos, de casos de doença meningocócica. Na faixa etária entre 25 a 49 anos, 46% dos casos apresentavam alguma doença de base ou situação de risco, sendo uma das situações identificadas, a infecção pelo HIV. Foi observado que o risco de doença meningocócica foi maior entre adultos infectados pelo HIV (estimativa anual de doença meningocócica entre os pacientes com HIV 11,2/100.000 adultos vs 1,3/100.000 na população geral local)¹³.

Cohen et al realizaram estudo de vigilância de coorte, na África do Sul, durante quatro anos, comparando-se a incidência da doença meningocócica entre indivíduos infectados e não infectados pelo HIV, avaliando se o HIV poderia ser um fator de risco para mortalidade e bacteremia entre os pacientes com doença meningocócica. A incidência de doença meningocócica em indivíduos infectados pelo HIV foi elevada em todas as faixas etárias avaliadas (2,5/100.000 em não infectados pelo HIV vs 11,3/100.000 em infectados pelo HIV). A incidência de meningite meningocócica foi maior entre pacientes infectados pelo HIV (2,1/100.000 em não infectados pelo HIV vs 7,5/100.000 em infectados pelo HIV).

Infecção pelo HIV foi relacionada a maiores taxas de bacteremia (0,41/100.000 entre não infectados vs 3,5/100.000 entre infectados pelo HIV). A taxa de mortalidade foi de 20% entre os infectados pelo HIV vs 11% entre os não infectados. Concluiu-se no estudo que os indivíduos com infecção pelo HIV apresentaram maior risco para doença meningocócica, com maiores possibilidades de bacteremia e óbito¹⁴.

O mais recente estudo que evidenciou essa relação foi o realizado Miller et al, do *New York City Department of Health and Mental Hygiene*, Queens, New York, em fase de publicação. Tratou-se de um estudo de coorte retrospectiva, realizado na cidade de New York, entre os anos 2000 a 2011, com estudo de casos de doença meningocócica que ocorressem em pessoas de 15 a 64 anos, comparando-se as taxas de incidência entre pessoas infectadas e não infectadas pelo HIV, sendo incluídos 265 casos. A taxa de incidência anual de doença meningocócica foi de 0,39/100.000 pessoas. O risco relativo de doença meningocócica entre infectados pelo HIV foi 10,0 (95% IC, 7,2 a 14,1). Encontrou-se, ainda, relação das taxas de CD4 com a possibilidade de doença meningocócica. Concluiu-se que as pessoas infectadas pelo HIV apresentam risco aumentado para doença meningocócica e que a vacinação rotineira para esse grupo com vacinas meningocócicas deve ser avaliado¹⁵.

Não estão disponíveis dados oficiais no Brasil sobre a incidência de doença meningocócica ou meningites em crianças e adolescentes infectados pelo HIV.

1.4 Aids e vacinas

O grande progresso no combate à infecção pelo HIV é decorrente da inter-relação entre o avanço do conhecimento da patogênese da doença, a disponibilização de drogas antirretrovirais novas e potentes, o desenvolvimento e a aplicação de testes mais precisos para monitorar o tratamento, além da aplicação de medidas profiláticas que visam evitar o

adoecimento dos pacientes, o que inclui uso de profilaxias com antimicrobianos e vacinas¹.

Como enfatizado previamente, as crianças infectadas pelo HIV são mais susceptíveis a manifestações de caráter infeccioso, muitas vezes, causadas por patógenos preveníveis por vacinas e, desse modo, a vacinação é considerada um dos pilares do tratamento do HIV, visto que pode influenciar diretamente na morbidade causada pela doença^{16,17}.

Várias publicações confirmam o importante impacto do uso das vacinas na diminuição da incidência de doenças infecciosas na população geral. Estudos mais recentes trouxeram grandes exemplos desse impacto com uso das vacinas conjugadas, mostrando a redução da incidência de doenças invasivas causadas pelo *Haemophilus influenzae*, *Streptococcus pneumoniae*, e *Neisseria meningitidis*¹⁸⁻²⁴.

Pacientes pediátricos infectados pelo HIV apresentam resposta de imunogenicidade e eficácia vacinal menor, quando comparada àquela obtida pelas crianças saudáveis com a imunização de rotina^{16,17,25-28}. Foi realizado por Moss et al, amplo estudo de revisão bibliográfica, exemplificando as baixas respostas vacinais obtidas pelos indivíduos infectados pelo HIV, como 38% à vacina de tétano, 40% à difteria, 25% a alguns sorotipos de pneumococo, 42% ao sarampo, havendo uma grande variedade de descrições de resposta a depender das condições clínicas, imunológicas, virológicas dos pacientes analisados, além da sua situação terapêutica em relação ao uso da HAART (highly active antiretroviral therapy)²⁹.

O dano imune desencadeado pelo HIV, associado à replicação viral praticamente constante parece interferir de maneira significativa no desenvolvimento da memória imunológica induzida pelas vacinas. Alguns estudos sugerem que a introdução precoce da terapia antirretroviral poderia prevenir essa lesão ao sistema imunológico, o que preservaria em parte a resposta às vacinas. Observa-se que a despeito da elevação do número e melhora da função do linfócito T-CD4 após a introdução da HAART, as

anormalidades dos linfócitos B podem persistir, acarretando em um prejuízo final a resposta vacinal. Outras pesquisas mostram que a efetividade e a segurança das vacinas em crianças infectadas pelo HIV variam com a idade da vacinação e com o estado imunológico no momento da aplicação^{16,17,30}.

Estudos recentes de Cotugno et al e Rainwater-Lovett et al, mostraram a semelhança dos anteriores que apesar do uso da HAART alterar de forma importante o curso da infecção pelo HIV, a reconstituição imune dos pacientes pediátricos pode não ser plenamente alcançada. No compartimento de células T, a despeito de haver uma recuperação numérica dessas, a função pode permanecer persistentemente prejudicada. O compartimento das células B também é bastante afetado na infecção pelo HIV, com prejuízo intenso nas células de memória, o que pode não ser totalmente restaurado com uso da HAART^{31,32}.

Tanto a resposta primária como a secundária de anticorpos pode estar danificada, além da capacidade de manutenção de anticorpos em níveis protetores. Estudos realizados com anticorpos do sarampo obtidos pós-vacinação em pacientes com aids exemplificam bem esse prejuízo, já que mostram boas correlações com o número de células B de memória em pacientes saudáveis após imunização. Geralmente, um pior resultado de produção de anticorpos e manutenção destes pós vacina do sarampo, é obtido em crianças verticalmente infectadas pelo HIV^{31,32}.

O momento da introdução da terapia antirretroviral também se mostrou crucial nestas publicações. A perda de células B de memória ocorre em fase inicial da infecção pelo HIV e o momento da introdução da terapia poderia alterar a capacidade de reconstituição destas células em crianças. Pacientes que iniciam o tratamento antirretroviral no primeiro ano de vida apresentam prejuízos tanto numérico quanto funcional, muito menores das células B de memória^{31,32}.

Apesar desses dados, de maneira geral, a imunização neste grupo de pacientes é considerada válida, segura e benéfica, com baixa incidência de

efeitos adversos, com exceção feita às vacinas de vírus ou bactérias vivas que podem apresentar sérios efeitos colaterais, em pacientes com importante comprometimento imunológico^{16,17}.

O *Centers for Disease Control and Prevention* (CDC), o Guia de Tratamento Clínico da Infecção pelo HIV em Pediatria e o Manual dos Centros de Referência para Imunobiológicos Especiais do Ministério da Saúde do Brasil, indicam um amplo e completo calendário vacinal para os pacientes infectados pelo HIV. Uma das vacinas indicadas na população pediátrica infectada pelo HIV, no Brasil e em vários países, é a vacina meningocócica conjugada do grupo C³³⁻³⁵.

1.5 Doença Meningocócica e vacinas meningocócicas

1.5.1 Alterações imunológicas e fisiopatologia da doença

A doença meningocócica (DM) é uma enfermidade bacteriana aguda, grave, causada pela *Neisseria meningitidis* (meningococo), que são diplococos Gram negativos, imóveis, não esporulados, capsulados. A estrutura do meningococo é composta de uma cápsula externa, parede celular, membrana externa, membrana citoplasmática e massa protoplasmática interna³⁶.

A camada externa da parede celular é formada pelo polissacarídeo capsular de natureza antigênica que possibilita classificar o meningococo em sorogrupos; atualmente são conhecidos 12 sorogrupos: A, B, C, D, 29E, H, I, K, L, W, X, Y e Z. O polissacarídeo capsular exerce fundamental importância na determinação da toxicidade e no poder imunogênico dos meningococos, sendo eles sorogrupo-específicos e induzindo a formação de anticorpos IgM e IgG ambos com ação bactericida através de dois mecanismos. O primeiro deles atua como anticorpos opsonizantes, juntamente com o complemento, aumentando a fagocitose pelos polimorfonucleares. A segunda via possível é através da ligação da IgG ou IgM ao meningococo, ativação da cascata do complemento e lesão da parede ou membrana celular por componentes terminais do complemento C₈ e C₉. Essa ativação acontece através da via

clássica do complemento pela interação do anticorpo com o antígeno capsular da bactéria^{36,37}.

A camada mais externa do meningococo (membrana externa) é constituída por uma mistura complexa de lipopolissacarídeos (LPS) e proteínas encravadas entre a dupla camada lipídica, as OMP. O complexo lipopolissacarídeo-endotoxina (LPS) é um complexo macromolecular com alta toxicidade, apresentando estreita relação com a severidade da doença por desencadear fenômeno em cascata com alteração da resposta imune do hospedeiro. A membrana externa contém de três a cinco proteínas principais (PMEs), subdivididas em cinco diferentes classes estruturais, com base no peso molecular. Essas classes são responsáveis pela especificidade do sorotipo e subtipo proteico. A identificação descritiva de uma cepa de *Neisseria meningitidis* é representada pela sequência sorogrupo:sorotipo:subtipo, designada então como fórmula antigênica. Exemplo: *Neisseria meningitidis* B:4:P1.15, onde B é o sorogrupo, 4 o sorotipo e P1.15 o subtipo³⁶⁻³⁸.

A nasofaringe é colonizada por meningococos, através de estruturas fenotípicas na sua superfície, as pili (ou adesinas), as quais permitem a sua adesão à mucosa em receptores específicos CD46 e CD66. Este é um fator importante para o estabelecimento do estado de portador. Através da ação de uma protease, a anti-IgA, o meningococo consegue inativar a IgA secretória local, mantendo sua sobrevivência na célula epitelial. Utilizando-se de componentes proteicos da membrana externa que impedem a maturação do fagossoma da célula, a bactéria vence a primeira barreira, conseguindo atingir a corrente sanguínea. Estando na circulação, sua cápsula polissacarídica garante sua proteção contra mecanismos imunes como o sistema complemento e a fagocitose leucocitária, possibilitando que o meningococo chegue até diferentes locais como supra renal, coração, pulmão, pele e meninges^{37,38}.

A bactéria presente no sangue, não bloqueada pelo sistema imunológico libera endotoxinas (LPS), ocasionando processo inflamatório em

cascata, com alterações hemodinâmicas graves decorrentes de lesão endotelial, vasodilatação, coagulação intravascular disseminada, falência miocárdica, trombose intravascular, necrose hemorrágica na pele e supra renais, resultando em colapso circulatório e choque podendo evoluir para hemorragia e falência de múltiplos órgãos, encefalopatia isquêmica e óbito^{37,38}.

A bactéria circulante consegue, também, atravessar a barreira hematoencefálica, atingindo o espaço subaracnoideo, onde a deficiência dos sistemas de defesa locais pela falta de complemento, imunoglobulinas e fagócitos, propicia a proliferação bacteriana. A partir de então, inicia-se o processo inflamatório, com liberação das endotoxinas determinando a alteração da permeabilidade da barreira, diminuição do transporte de glicose e aumento exagerado da passagem de albumina e leucócitos desencadeando o edema cerebral vasogênico, citotóxico e intersticial. Essas alterações em conjunto, resultam em aumento da pressão intracraniana, diminuição do fluxo sanguíneo cerebral e lesão em sistema nervoso central^{37,38}.

1.5.2 Epidemiologia da doença

A doença meningocócica é, ainda hoje, um sério problema de saúde pública, estando associada a elevadas taxas de morbidade e letalidade no Brasil e no mundo. Considerando-se todo o globo, 90% dos casos de doença meningocócica são causados pelos sorogrupos A, B ou C, sendo os demais atribuídos aos sorogrupos W e Y³⁹.

O Brasil registrou, na década de 1970, a maior epidemia de doença meningocócica do país, causada pelos meningococos A e C; a taxa de incidência que era de 2,1 casos / 100 mil habitantes em 1970, chegou a atingir a marca de 179 casos / 100 mil habitantes em 1974. A epidemia permitiu a primeira grande experiência com o uso das vacinas polissacarídicas A e C em larga escala, resultando no controle da epidemia em 1975⁴⁰.

A década de 1980 iniciou-se com baixa incidência da doença (1 caso/100 mil habitantes), com o sorogrupo B tornando-se prevalente sobre o C e praticamente desaparecendo casos do sorogrupo A. Houve novo ápice do número de casos em 1996, ainda com principal responsável o sorogrupo B. Entretanto em 2002, registrou-se aumento na proporção de casos atribuídos ao sorogrupo C, assumindo esse sorogrupo a liderança nas estatísticas da doença meningocócica, situação que se mantém até os dias atuais em todo Brasil⁴⁰.

Os últimos dados do Centro de Vigilância Epidemiológica (SINAN/Divisão de Doenças de Transmissão Respiratória- São Paulo-Brasil), de dezembro de 2012, mostraram que o sorogrupo C foi responsável por 75,3% de todos os casos identificados de doença meningocócica no estado de São Paulo neste ano⁴¹. A Tabela 1 apresenta dados preliminares do ano de 2013 no Estado de São Paulo, mostrando ser o sorogrupo C responsável por 69,9% dos casos até o início do mês de dezembro. O coeficiente de incidência da doença no Brasil, tem se mantido em torno de 1,5 a 2 casos / 100 mil habitantes / ano e é o maior encontrado na América Latina. Como grande parte das meningites são notificadas sem o isolamento do agente etiológico, a incidência real da doença meningocócica é desconhecida, sendo provável ser maior que a divulgada.

Tabela 1 - Doença Meningocócica: Casos e Porcentagens por sorogrupo – Estado de São Paulo – 1998 a 2013

SOROG	B		C		W135		Y		OUTROS		TOTAL	
ANO	casos	%	casos	%	casos	%	casos	%	casos	%	casos	%
1998	367	63,4	197	34,0	12	2,1	0	0,0	3	0,5	579	100,0
1999	370	64,1	185	32,1	14	2,4	1	0,2	7	1,2	577	100,0
2000	369	60,0	221	35,9	22	3,6	0	0,0	3	0,5	615	100,0
2001	246	54,5	177	39,2	22	4,9	1	0,2	5	1,1	451	100,0
2002	228	50,9	197	44,0	15	3,3	2	0,4	6	1,3	448	100,0
2003	164	37,6	252	57,8	14	3,2	3	0,7	3	0,7	436	100,0
2004	187	35,8	303	58,0	24	4,6	1	0,2	7	1,3	522	100,0
2005	154	30,2	328	64,3	16	3,1	7	1,4	5	1,0	510	100,0
2006	125	24,3	352	68,3	26	5,0	2	0,4	10	1,9	515	100,0
2007	91	16,5	420	76,2	32	5,8	4	0,7	4	0,7	551	100,0
2008	98	14,3	512	75,0	58	8,5	8	1,2	7	1,0	683	100,0
2009	86	12,1	557	78,6	52	7,3	13	1,8	1	0,1	709	100,0
2010	90	10,7	686	81,9	47	5,6	9	1,1	6	0,7	838	100,0
2011	110	13,1	657	78,3	44	5,2	24	2,9	4	0,5	839	100,0
2012	116	15,3	570	75,3	34	4,5	33	4,4	4	0,5	757	100,0
2013	109	21,3	358	69,9	26	5,1	19	3,7	0	0,0	512	100,0

Fonte: SINAN/DDTR/CVE/CCD/SES-SP – dados em 02/12/2013

OBS: TOTAL = total dos sorogradados

A taxa de sequelas permanentes da doença varia de 11 a 19% nos sobreviventes, podendo ocorrer surdez, déficits neurológicos, amputação de extremidades (dedos, membros, orelhas, etc), extensas cicatrizes cutâneas, entre outras. A taxa de mortalidade pela doença, seguindo sua história natural (sem tratamento instituído) é de 70 a 90%. Em países desenvolvidos a mortalidade é de 7 a 11% nos períodos endêmicos e acima de 20% nos epidêmicos. Em nosso meio, a letalidade da doença, infelizmente, permanece bastante elevada, situando-se em torno de 20%^{42,43}. Não há dados epidemiológicos locais específicos de doença meningocócica na população de pacientes infectados pelo HIV.

Tem-se observado nos últimos anos, elevação da incidência da doença meningocócica na faixa etária dos adolescentes e adultos jovens, sendo essa tendência observada não apenas no Brasil, mas também, em outros locais do mundo⁴⁴⁻⁴⁸. No ano de 2012, 21,4% dos casos registrados no estado de São Paulo, ocorreram entre 10 a 19 anos; em 2013, dados preliminares, até início de dezembro, mostraram 21,1% dos casos nessa faixa etária⁴⁹. Alguns dos últimos surtos vividos em nosso país, como o ocorrido em Porto Seguro – Bahia em outubro de 2009, ilustrou essa tendência, onde todos os casos participantes tinham idades entre 10 a 29 anos, com pico de incidência de 15 a 19 anos, segundo Nota Técnica do Ministério da Saúde⁵⁰. O mesmo pôde ser observado nos surtos ocorridos no Guarujá (São Paulo) e São José do Rio Preto (São Paulo) em 2008^{51,52}. Por conta disso os calendários de vacinação atuais da Sociedade Brasileira de Pediatria e Sociedade Brasileira de Imunizações, têm orientado e reforçado a importância da vacinação nestas faixas etárias^{53,54}.

1.5.3 Vacinas meningocócicas

As vacinas polissacarídicas disponíveis oferecem proteção para os sorogrupos A,B,C,W e Y. Tais vacinas, assim como ocorre com outras vacinas polissacarídicas não conjugadas, geram resposta imune inadequada em crianças abaixo de 2 anos de idade em função da ausência de resposta consistente a antígenos T independentes nesta faixa etária. Outra característica importante dessas vacinas é que, mesmo nos pacientes acima de 2 anos de idade, a proteção conferida é de duração limitada, não sendo capazes de induzirem memória imunológica. Apresentam, ainda, a possibilidade de induzir hiporesponsividade em doses subsequentes. Isso faz com que as vacinas polissacarídicas não sejam usadas de maneira rotineira, estando indicadas apenas em presença de surtos ou epidemias^{47,55-57}.

A conjugação dos polissacarídeos meningocócicos às proteínas carreadoras (toxina diftérica mutante atóxica [CRM 197] ou o toxóide tetânico) muda a natureza da resposta antipolissacarídica para uma resposta

T dependente. As células B, ao reconhecerem o polissacarídeo, processam o carreador proteico conjugado e apresentam os epítomos peptídicos às células T CD4+. Esse complexo antigênico induz a produção de níveis elevados de anticorpos, inclusive em lactentes jovens, com maior avidéz e maior atividade bactericida sérica. Induzem, ainda, a formação de populações de linfócitos B de memória, de duração prolongada, propiciando uma excelente resposta anamnésica (efeito booster) na reexposição. Além disso, essas vacinas têm a capacidade de reduzir a colonização em nasofaringe, diminuindo o número de portadores entre os vacinados e a transmissão da doença na população (imunidade de rebanho)⁵⁸⁻⁶².

O mecanismo imunológico da resposta vacinal às vacinas conjugadas envolve várias etapas em comum àquelas comprometidas pela ação do HIV. Apesar disso, é conhecido e descrito na literatura, resposta as vacinas conjugadas do *Haemophilus influenzae* e *Streptococcus pneumoniae*, nesta população, com diminuição da eficácia em relação a população imunocompetente, mas com níveis ainda bastante aceitáveis de proteção²⁵⁻²⁸.

Na população pediátrica infectada pelo HIV, a vacina meningocócica preconizada pelos consensos e manuais, na grande maioria dos países, é a vacina meningocócica conjugada do grupo C.

A eficácia da vacina conjugada contra o meningococo C é extremamente elevada na população imunocompetente, atingindo taxas superiores a 95%^{23,24,39,57,60}.

Estudos clínicos previamente publicados descrevem o uso da vacina em populações de imunodeprimidos, mostrando respostas muito variáveis a depender da imunodepressão presente. O primeiro deles foi realizado com pacientes adultos esplenectomizados, mostrando resposta de anticorpos adequada em torno de 80% dos vacinados⁶³. O segundo estudo abordando população de imunodeprimidos, avaliou pacientes oncológicos, mostrando respostas de anticorpos extremamente variáveis dependendo do tipo de

câncer, proximidade de quimioterapia, estado clínico dos pacientes, deixando como conclusão que a resposta pode ser muito variável neste grupo de pacientes⁶⁴. Estudo abordando pacientes com artrite idiopática juvenil, na vigência de tratamento imunossupressor mostrou que a vacina foi efetiva no grupo, não acarretando nenhuma piora na evolução da doença de base⁶⁵. Outras publicações se seguiram, com prematuros, pacientes com esferocitose, transplantados mostrando também resultados bastante diversos⁶⁶⁻⁶⁸.

Apesar de todos esses estudos abordarem pacientes imunodeprimidos, os achados não podem ser estendidos para as crianças e adolescentes portadoras de HIV, devido à peculiaridade dos distintos quadros de imunodepressão avaliados nestes estudos. Não houve até nosso estudo, nenhuma pesquisa prévia de avaliação da eficácia específica da vacina do meningococo C conjugada (isolada) na população infectada pelo HIV.

Durante o transcorrer de nossa pesquisa, foi publicado, estudo multicêntrico, fase I/II (IMPAACT P1065) que avaliou o uso da vacina quadrivalente conjugada (grupos A,C,Y e W) neste grupo, mostrando resposta vacinal de 52% dos pacientes infectados pelo HIV para o sorogrupo C⁶⁹. Apesar da vacina indicada nos Estados Unidos ser a quadrivalente, no Brasil e na maioria dos países do mundo a única vacina disponível em rede pública (até o presente momento), é a conjugada específica para o meningococo C. O seu uso está orientado em Manuais de Referência de Tratamento de Aids Pediátrica de diversos países, não havendo, porém, nenhum dado de literatura prévio a este estudo que comprovasse sua efetividade.

Vale ressaltar, como já descrito anteriormente, que a doença meningocócica ainda é, não apenas em nosso meio, mas também em outros locais do mundo, um sério problema de saúde pública, havendo predomínio do sorogrupo C nas infecções meningocócicas no Brasil.

Esses dados fortalecem ainda mais a necessidade da indicação da vacina contra o meningococo C para os pacientes infectados pelo HIV. Paralelamente reforçam a importância da investigação sugerida, que vem a contribuir para o conhecimento da resposta vacinal neste grupo específico, assim como seu potencial impacto na prevenção da doença meningocócica.

Destaca-se finalmente a importância de estudos que como o atual, envolvam pacientes adolescentes e adultos jovens, grupos bastante acometidos nos mais recentes surtos e epidemias de doença meningocócica e população mais prevalente dentro dos ambulatórios de aids pediátrica na atualidade. Com a diminuição importante da transmissão vertical do HIV, houve um envelhecimento da população pediátrica infectada pelo HIV atendida em serviços pediátricos especializados, representando os adolescentes e adultos jovens hoje, na maioria destes serviços, cerca de 80% da população assistida. Portanto, apesar das estatísticas da doença meningocócica na população geral, mostrar maiores prevalências dessa nas faixas etárias mais tenras, neste grupo específico, infectados pelo HIV, o estudo se justifica entre os adolescentes e adultos jovens pelo atual perfil de nossa população assistida.

Torna-se importante ainda pontuar, que os adolescentes e adultos jovens infectados pelo HIV do Brasil, são privilegiados com acesso a vacina meningocócica C conjugada pelos setores públicos, segundo Manuais de Referência do Ministério da Saúde, apenas até idade limítrofe de 13 anos^{33,34,70,71}, permanecendo um grande contingente destes ainda sem acesso a vacinação, portanto susceptíveis a essa terrível patologia, podendo o estudo contribuir para a avaliação se a ampliação da faixa etária com acesso a vacina é válida e adequada.

2. OBJETIVOS

2.1 Geral

Avaliar a resposta de anticorpos à vacina do meningococo C conjugada em adolescentes e adultos jovens com aids.

2.2 Específicos

- Avaliar a diferença da resposta de anticorpos entre os pacientes infectados e não infectados pelo HIV.
- Correlacionar a resposta encontrada com parâmetros clínicos e laboratoriais da infecção pelo HIV, sendo eles a classificação clínica e imunológica do CDC, nível de CD4 e carga viral do HIV no momento da vacinação, nadir de CD4, presença de falha terapêutica no momento da avaliação, estado clínico do paciente (sintomático ou não no momento da vacinação), idade.
- Observar os eventos adversos pós-vacinação nos grupos dos pacientes infectados e não infectados pelo HIV.
- Avaliar a resposta de anticorpos no grupo de pacientes que necessitar de uma segunda dose de vacina, por falta de resposta imunológica considerada protetora a primeira dose.

3. MÉTODOS

3.1 Desenho do estudo

Ensaio clínico, não randomizado, com delineamento intragrupo (delineamento de série temporal). Foi efetuada análise prospectiva de uma amostra cumulativa dos pacientes pediátricos, adolescentes e adultos jovens, infectados pelo HIV (grupo A) e dos adolescentes e adultos jovens hígidos, não infectados pelo HIV (grupo B), pareados por idade. O tamanho da amostra foi calculado considerando-se uma proporção esperada de 60% de pacientes com títulos SBA (ação bactericida no soro) ≥ 8 após a vacinação, assumindo que a proporção verdadeira seja em torno de 90%. Assim, foram necessárias 40 pacientes em cada grupo (considerou-se 20% de perdas no cálculo do tamanho da amostra). O método utilizado para o cálculo da amostra foi o teste de hipótese para diferença entre proporções⁷².

Os pacientes elegíveis para o estudo foram convidados a participar da pesquisa, através de uma explanação sobre os objetivos do projeto, sendo assinado após o aceite, o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido pelos próprios pacientes (caso tivessem mais de 18 anos) ou pelos responsáveis legais por esses (vide maiores detalhes no tópico Aspectos Éticos).

A primeira visita constava de preenchimento de um formulário, pelo pesquisador, baseado em dados de prontuário e de entrevista com os próprios pacientes e responsáveis legais. O prontuário foi pesquisado em todos os casos do grupo A e naqueles quando havia disponibilidade dessa documentação no grupo B. O formulário constava de dados demográficos, classificação clínica e imunológica do CDC, níveis de CD4 e carga viral atuais do momento da vacinação, presença de falha terapêutica atual ou prévia, estado clínico do paciente, presença de dislipidemia prévia, uso de

antibióticos e rifampicina no momento da pesquisa, presença de vacinação polissacarídica prévia com vacina meningocócica A/C ou B/C prévia. No grupo B, o formulário utilizado foi o mesmo, diferenciando-se apenas por não apresentar dados relacionados à infecção pelo HIV (carga viral e CD4 e presença de falha terapêutica) e pela pesquisa de doenças de base ou uso de drogas imunodepressoras (Vide Anexo 1 e 2).

Nesta primeira visita era realizada a primeira coleta de sangue (10mL) para avaliação dos marcadores sorológicos de imunidade contra o meningococo C, coincidente com a data dos controles habituais de contagem de CD4 e carga viral do HIV, quando se tratava do grupo A. Imediatamente após a coleta, o paciente recebia uma dose da vacina conjugada contra o meningococo C. Não foi permitida a administração de nenhum outro imunobiológico concomitante com a vacina meningocócica, para evitar a interferência na observação dos efeitos adversos à vacinação.

Após 30 dias da vacinação, o paciente retornava ao serviço para segunda visita, onde era indagado sobre a ocorrência de eventos adversos posteriores, relacionados à vacina, sendo incorporadas essas informações ao formulário. Todos os participantes do estudo foram orientados no momento da vacinação, caso apresentassem eventos adversos a essa, que entrassem em contato com os pesquisadores imediatamente para que toda a orientação necessária fosse realizada. A segunda coleta laboratorial (10mL) foi efetuada nesta visita para nova avaliação dos marcadores sorológicos de imunidade contra o meningococo C, com a comparação dos títulos pré e pós-vacinais, possibilitando então a avaliação da resposta de anticorpos à vacina.

Os pacientes que não atingissem os níveis de proteção estabelecidos no estudo, sendo esses baseados nos definidos para a população normal^{39,73,74} (único dado disponível em literatura, já que não há esse dado específico para a população HIV), foram convocados a novamente comparecerem ao serviço de saúde para receberem uma segunda dose de vacina, ocorrendo nestes casos, nova coleta laboratorial (10 mL) pré e pós

30 dias da revacinação, com reavaliação dos marcadores sorológicos de imunidade contra o meningococo C em ambos os momentos, possibilitando então a avaliação da nova resposta de anticorpos à segunda dose de vacina.

Nos pacientes pertencentes ao grupo B que apresentassem sua situação sorológica do HIV desconhecida, foi realizado o teste rápido para o HIV prévio à coleta de exames e vacinação. Os testes rápidos, quando indicados, foram realizados, também, após consentimento prévio dos pacientes ou responsáveis legais. O teste utilizado foi o *Rapid Check* (lote 090401) da Biomanguinhos, realizado por profissional capacitado. O restante do fluxo (visitas e coletas) ocorreu da mesma forma em ambos os grupos.

A vacina utilizada no estudo foi a vacina meningocócica do grupo C, conjugada – CRM₁₉₇ (oligossacarídeo meningocócico C conjugado com proteína CRM₁₉₇ de *Corynebacterium diphtheriae*), Chiron Vaccines, Novartis, vacina disponibilizada pelo Ministério da Saúde do Brasil na ocasião da pesquisa.

As bases de dados utilizadas para pesquisa bibliográfica foram BVS (Biblioteca Virtual em Saúde) – Bireme, Pubmed/Medline, Biblioteca Cochrane BVS, Embase, Scopus e Web of Science, sendo utilizadas todas as referências relevantes pertinentes ao tema proposto. As bases foram acessadas periodicamente durante todo o período do estudo para que as referências estivessem constantemente atualizadas. Os descritores utilizados para pesquisa foram vaccine, meningococcal, meningococcal vaccines, meningococcal conjugate vaccine, meningococcal disease, serogroup C meningococcus, immunization, HIV, acquired immunodeficiency syndrome, serological correlate, immune response, immunogenicity, effectiveness, serum bactericidal antibody assay, enzyme-linked immunosorbent assay, pediatrics, child, adolescent, young adult. Além das bases, foram pesquisados também, frequentemente, sites oficiais do Ministério da Saúde do Brasil, Secretaria de Estado da Saúde de São Paulo

(Centro de Vigilância Epidemiológica), *Centers for Disease Control and Prevention* (CDC).

Após todos os dados terem sido coletados e as amostras analisadas, um segundo formulário foi utilizado, com o intuito de agregar maiores informações para análises estatísticas mais aprofundadas da relação da resposta vacinal com parâmetros relacionados com a infecção pelo HIV.

Esse segundo formulário foi preenchido pela pesquisadora, apenas dos integrantes do grupo A, baseado em dados de prontuário, sem a entrevista com os pacientes, constando de dados clínicos e laboratoriais. Dentre os dados clínicos foram pesquisados: data de início do uso de antirretroviral, tempo de uso deste, número de esquemas antirretrovirais utilizados, quais classes de drogas antirretrovirais foram utilizadas até a pesquisa, peso, estatura, índice de massa corpórea (utilizada fórmula para cálculo $IMC = \text{Peso (kg)} / \text{Altura (m)}^2$) dos pacientes no momento da vacinação, presença de doenças definidoras de aids até a participação no estudo. Os dados laboratoriais constavam de pesquisa de todas as dosagens de CD4/CD8 e carga viral ao longo do acompanhamento dos pacientes, para verificação da maior e menor carga viral, média, mediana, desvio padrão destas, nadir de CD4 e maior CD4 apresentado no seguimento, média, mediana, desvio padrão destes, além dos dados de dosagem de CD4/CD8 e carga viral relacionados aos momentos pré e pós-revacinação, no grupo participante. Definido nadir de CD4 como o menor valor de CD4 observado ao longo de todo o acompanhamento do paciente (Vide Anexo 3).

3.2 Critérios de inclusão

Os critérios de inclusão estabelecidos foram:

Grupo A: * ser infectado pelo HIV, com aids.

* ter entre 10 a 20 anos de idade.

* possuir contagem de linfócitos T CD4 ≥ 100 células/mm³.

Grupo B: * ser não infectado pelo HIV.

* ter entre 10 a 20 anos de idade.

Os critérios de exclusão específicos estabelecidos para cada grupo foram:

Grupo A: * receber imunoglobulina mensal como parte do tratamento do HIV, ou ter interrompido esse tipo de terapêutica há menos de 6 meses.

Grupo B: * possuir doenças imunossupressoras de base.

Os critérios de exclusão gerais estabelecidos para ambos os grupos foram:

* ter recebido vacina conjugada contra o meningococo C previamente.

* ter antecedente de doença meningocócica prévia, ou meningite de etiologia indeterminada.

* estar em uso de corticoide (doses imunossupressoras), outras drogas imunossupressoras ou quimioterapia.

* apresentar dislipidemia significativa no momento da coleta.

* apresentar agamaglobulinemia ou hipogamaglobulinemia.

* estar gestante.

A dislipidemia citada acima, foi definida segundo os critérios estabelecidos pela Diretriz Brasileira para a Prevenção da Aterosclerose na Infância e na Adolescência, da Sociedade Brasileira de Cardiologia, sendo considerado dislipidemia toda alteração nas dosagens de colesterol total e frações e triglicérides, ou seja, colesterol total > 170mg/dL, HDL-colesterol < 45mg/dL, LDL-colesterol $\geq$ 130mg/dL e triglicérides $\geq$ 130mg/dL⁷⁵.

O uso de antibióticos ou rifampicina no momento da coleta e vacinação funcionou como motivo de adiamento dos procedimentos, já que estes,

assim como a dislipidemia, tecnicamente poderiam interferir nos resultados dos testes laboratoriais realizados nas amostras. Os pacientes em uso de antibióticos e rifampicina eram orientados a retornar para coleta e vacinação 10 dias após a suspensão destes.

3.3 Local do estudo

O estudo foi realizado no Ambulatório de Pediatria do Centro de Referência e Treinamento em DST/Aids do Programa Estadual São Paulo - Brasil e no Ambulatório de Infectologia Pediátrica do Instituto da Criança do Hospital das Clínicas da Universidade de São Paulo - Brasil. Nestes dois ambulatórios foram selecionados pacientes que compuseram o grupo A, já que se tratam de serviços que atendem pacientes infectados pelo HIV.

Os indivíduos do grupo B foram selecionados dentre os familiares dos pacientes do grupo A (por exemplo primos, irmãos) e em locais que abrigam adolescentes da cidade de São Paulo, alguns deles abrigos “mistos”, de pacientes portadores de HIV e adolescentes saudáveis. Nestes casos os abrigos foram convidados a participar do estudo, sendo considerado o responsável legal pelos adolescentes os dirigentes da instituição.

3.4. Aspectos Éticos

O projeto foi aprovado pelas Comissões de Ética e Pesquisa do Centro de Referência e Treinamento em DST/Aids (protocolo de pesquisa n° 026/2008 aprovado em sessão de 24/11/2008) e do Instituto da Criança - CAPPesq do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (protocolo de pesquisa n° 0344/09, aprovado em sessão de 06/05/2009). Vide Anexo 4 e 5.

Os adolescentes e adultos jovens elegíveis para a pesquisa e seus responsáveis legais que se mostrassem interessados em fazer parte do estudo assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, cujo conteúdo foi lido e as dúvidas esclarecidas junto ao entrevistador. Na carta de informação, foram descritos todos os objetivos e métodos pertinentes ao

conhecimento do paciente ou responsável, tais como a forma de coleta, o destino dos dados e das amostras coletadas, bem como a forma sigilosa com que as informações consideradas confidenciais seriam tratadas. As informações foram armazenadas em Bancos de Dados protegidos, acessíveis apenas aos investigadores. A vacina utilizada está licenciada há vários anos, havendo ampla experiência clínica com seu uso, mostrando-se de forma geral, bastante segura com possibilidade mínima de efeitos colaterais graves. Assim, o presente protocolo foi considerado de risco mínimo para seus participantes, não havendo quebra dos princípios éticos que regem a pesquisa clínica.

O transporte de material biológico (sangue) dos centros envolvidos no estudo para o laboratório foi realizado respeitando todas as normas de biossegurança.

Vide Anexo 6 para Termos de Consentimento dos grupos A e B.

3.5 Financiamento

O estudo foi financiado pelo CNPq (Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico do Brasil, processo número 478687/2008-7), não havendo nenhum grau de interesse ou comprometimento de empresas com o estudo.

3.6 Avaliação laboratorial

A avaliação laboratorial dos marcadores sorológicos foi realizada no Laboratório de Bacteriologia do Instituto de Medicina Tropical da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo - Brasil (Laboratório de Investigação Médica, LIM-54, IMT), onde foram realizados os exames de ELISA e Ensaio de anticorpos bactericidas séricos ou Ação bactericida no soro (SBA). Os exames de carga viral do HIV e dosagem de CD4/CD8 foram feitos nos laboratórios do Centro de Referência e Treinamento em DST/Aids do Programa Estadual São Paulo e no Laboratório Central do Hospital das Clínicas (HCFMUSP).

Os marcadores sorológicos são utilizados para inferir a efetividade da vacina, em algumas populações e situações específicas, como na doença meningocócica, onde estudos de eficácia clínica são de difícil realização. O licenciamento da vacina meningocócica C conjugada no Reino Unido em 1999, foi realizado baseado em estudos de imunogenicidade e tolerabilidade, sem a realização de estudos de eficácia clínica onde seria observada redução dos casos clínicos com o passar do tempo. Outros países adotaram posteriormente os mesmos critérios. Isso ocorreu devido ao fato da doença meningocócica ser considerada de relativa baixa incidência na ocasião nestes países, o que dificultaria as pesquisas habituais de eficácia clínica, sendo considerados satisfatórios os estudos de imunogenicidade (baseados na realização e utilização do SBA como correlato de proteção) para inferir a efetividade da vacina possibilitando seu licenciamento pelas autoridades regulatórias locais⁷⁶.

Imunogenicidade é a capacidade de um produto, agente ou substância gerar uma resposta imune com produção de anticorpos; no caso específico das vacinas meningocócicas, a imunogenicidade é a capacidade destas induzirem a produção de anticorpos bactericidas, conferindo proteção aos indivíduos vacinados. A mensuração dessa resposta de anticorpos relacionada ao grau de proteção obtido é definida como correlato de proteção.

O *gold standard* de correlato de proteção contra infecção meningocócica em indivíduos saudáveis é a titulação de SBA ≥ 4 usando complemento humano, obtido a partir dos clássicos estudos realizados pelo Dr. Goldschneider em recrutas norte americanos na década de 1960⁷⁷. Nesse estudo foi definido que esse seria o menor título de ação bactericida no soro necessário para considerar o indivíduo vacinado protegido. Decorrente da indisponibilidade de quantidades suficientes de complemento humano, os laboratórios o substituíram por complemento de filhotes de coelho. Apesar dos títulos SBA usando complemento de coelho não corresponderem com exatidão aos títulos SBA com complemento humano,

admite-se que utilizando complemento obtido de filhotes de coelho, títulos SBA ≥ 8 , seriam correlacionados à proteção^{58,73,74,78}. Outros parâmetros utilizados em algumas publicações, como correlatos de proteção para infecção meningocócica com a vacina conjugada do meningococo C, em pacientes saudáveis, seriam títulos SBA ≥ 128 ou elevação de 4 vezes os títulos SBA pré e pós-vacinação⁷⁹.

Uma maneira adicional de se verificar a presença de imunidade é a constatação de elevação significativa nos títulos de anticorpos (dosados pelo ELISA) após a vacina, sendo considerado a titulação mínima aceitável como protetora 2 mcg/mL⁸⁰⁻⁸³.

Destaca-se que a única técnica laboratorial aceita internacionalmente como padrão ouro de correlato de proteção é SBA^{73,74}. Estudos anteriores com as vacinas polissacarídicas e conjugadas para meningococo, mostram a possibilidade de incompatibilidades nos resultados de ELISA e SBA, sendo muitas vezes limitada a extrapolação das medidas de concentração de anticorpo anticapsular no soro para predizer a capacidade bactericida destes e consequentemente definir a proteção do indivíduo⁸⁴⁻⁸⁸.

Não existe em literatura, definição de parâmetros de correlato de proteção específicos para populações em situações de imunodepressão. Não foi demonstrado da mesma forma a relação entre as técnicas de ELISA e SBA nestas circunstâncias.

Na pesquisa, por se tratar de pacientes imunodeprimidos (infecção pelo HIV) foram estabelecidos como critérios mínimos aceitáveis de proteção conferida pela vacina nível SBA ≥ 8 e elevação dos títulos de SBA pré e pós-vacinal de no mínimo 4 titulações. Foram adotados dois critérios para aumentar a segurança da presença de proteção conferida pela vacina, assegurando dessa forma, níveis protetores mais efetivos considerados na avaliação dos resultados alcançados. Consideramos o paciente protegido apenas quando alcançasse ambos os critérios.

O teste de SBA foi realizado utilizando-se complemento de filhote de coelho - Pel-Freez Biologicals, cepa Meningococo sorogrupo C: C11, fenótipo C:16:P1.7^a,1 e soros de controle do CDC, sendo os dois últimos gentilmente fornecidos pelo *Centers for Disease Control and Prevention* (CDC), *Division of Bacterial Diseases, Meningitis and Vaccine-Preventable Diseases Branch*, através do Dr. George Carlone, Chefe do Laboratório. Além dos soros de controle do CDC, foram também utilizados no teste do SBA o soro de controle padrão CDC1992, produzidos pelo *National Institute for Biological Standards and Control* (NIBSC, Blanche Lane, South Mimms, Potters Bar, Herts, UK).

Com relação ao ELISA, foi avaliada a diferença estatística dos títulos de anticorpos pré e pós-vacinal, considerando-se como parâmetro mínimo aceitável de proteção níveis de 2mcg/mL na amostra pós-vacinal. A pesquisa dos anticorpos da classe IgG foi feita por ELISA caseiro (sem utilização de kits comercializados, já que esses não são disponíveis para esse teste específico), utilizando como antígeno Polissacarídeo capsular de *Neisseria meningitidis* sorogrupo C (NIBSC) e os mesmos soros controles utilizados no teste SBA.

Os pacientes que não atingiram os parâmetros de SBA necessários para proteção, foram considerados desprotegidos sendo então convidados à revacinação. Os pacientes incluídos neste grupo, foram submetidos aos mesmos critérios para avaliação da resposta de anticorpos posteriormente alcançada com a segunda dose de vacina.

Ambas as técnicas utilizadas, SBA e ELISA, foram instaladas e padronizadas em laboratório de referência no Brasil, segundo protocolos internacionalmente aceitos, seguindo todos os preceitos necessários, já que nenhum dos dois testes adotados existiam como rotina em laboratórios do Brasil^{73,74,77,89-93}. A padronização incluiu o desenvolvimento de manuais internos do LIM-54, onde todos os procedimentos foram detalhadamente descritos, com todas as instruções específicas para a realização das aferições, contribuindo para que as técnicas fossem desenvolvidas de forma

uniforme durante todo o estudo. Além disso, durante a padronização das técnicas, o efeito de erro aleatório de qualquer fonte, foi reduzido através de inúmeras repetições das medições e uso da média de duas ou mais leituras. Essa estratégia aumentou muito a precisão das aferições. A precisão foi finalmente avaliada com a reprodutibilidade de aferições repetidas de soros padrões fornecidos pelo CDC (soros controles números 323,268,414,415), que possuíam titulações conhecidas de SBA e ELISA.

Após essas etapas terem sido cumpridas, as técnicas foram iniciadas com as amostras envolvidas no estudo. Houve cegamento das amostras para a equipe do laboratório. Antes da instalação do processo de padronização todos os funcionários do laboratório foram vacinados com a mesma vacina utilizada no estudo, já que o teste de SBA, envolve a participação de um agente vivo, *Neisseria meningitidis*, havendo um risco inerente ao procedimento, que envolve toda equipe do laboratório.

As amostras do estudo estão todas armazenadas em freezer a - 80°C, devidamente identificadas, no LIM-54 IMT, disponíveis para eventuais consultas que por ventura forem necessárias.

Segue no Anexo 7 e 8, descrição das técnicas de SBA e ELISA utilizadas no estudo.

3.7 Análise Estatística

Os resultados do ELISA e SBA foram expressos por meio de médias geométricas de concentração e titulação (GMC e GMT) e seus respectivos intervalos de confiança. A relação entre os títulos destes e variáveis clínicas e laboratoriais do HIV foi avaliada por meio do teste de qui-quadrado ou teste exato de Fischer.

A presença de efeitos colaterais por grupo foi descrita por meio de porcentagem simples e a comparação entre grupos foi feita pelo teste qui-quadrado ou teste exato de Fisher.

Para a comparação entre os grupos em relação aos resultados do ELISA e SBA, foi utilizado o teste t-Student ou Man-Whitney. Para se comparar os grupos em relação à proporção de pacientes com títulos SBA ≥ 8 e elevação dos títulos de SBA pré e pós-vacinal de no mínimo 4 titulações, foi utilizado o teste de qui-quadrado ou teste exato de Fischer. As diferenças entre as titulações pré e pós-vacinação (ELISA e SBA) foram investigados pelo teste t-Student pareado ou Wilcoxon. Os níveis de anticorpos, por grupo e por momento, também foram apresentados por meio de gráficos para a média e seu respectivo intervalo de confiança.

Para medir o grau de relacionamento linear entre os níveis de titulação de SBA e ELISA nas amostras dos grupos estudados foi calculado o coeficiente de correlação de Pearson, nos momentos pré e pós-vacinação. Para a visualização do relacionamento linear foi empregado o diagrama de dispersão (*scatter plot*). A análise de regressão linear simples foi empregada para verificar o quanto o ELISA pode explicar da variação nos níveis do SBA e qual é o seu incremento (coeficiente de regressão). Para as análises, os níveis de SBA e ELISA foram transformados em logaritmos (base 10).

As demais variáveis do estudo, sócio-demográficas, clínicas ou terapêuticas (referentes ao uso do antirretroviral), foram descritas por meio de estatística descritiva – média, desvio padrão, valores mínimos e máximos, mediana - para as quantitativas contínuas, e proporções (porcentagens) para as qualitativas. Para algumas análises de relações de variáveis quantitativas foi feito o teste de aderência à curva Normal (Shapiro-Wilk).

A avaliação das associações entre as variáveis clínicas qualitativas e resposta à vacina foi realizada através do teste de qui-quadrado. Para verificar a relação entre as variáveis quantitativas e resposta à vacina foi feito o teste t-Student, ou o equivalente não paramétrico (Kruskal Wallis).

Para todos os testes estatísticos foi considerado um nível de significância de 5%. O pacote estatístico utilizado nas análises foi o SPSS

versão 17.0 (*Statistical Package for the Social Sciences, version 17.0* - SPSS Inc., Chicago, IL, USA).

4. RESULTADOS

4.1 Resultados gerais

Foram incluídos no estudo o total de 92 indivíduos (idade média=13,9 anos; IC95%: 13,3 – 14,4 anos), no período de maio a dezembro de 2009. No grupo A (infectados pelo HIV, com aids) foram 43 pacientes (idade média=13,8 anos; IC95%: 13,0 – 14,5 anos), enquanto que no grupo B (não infectados pelo HIV) foram 49 adolescentes e adultos jovens (idade média=13,9 anos; IC95%: 13,1 – 14,6). Inicialmente, o grupo B foi composto de 50 indivíduos, porém houve perda de seguimento de um dos casos, por abandono ao protocolo de estudo. Outra perda ocorreu no grupo de pacientes submetidos à revacinação (grupo A), por abandono de seguimento. Nenhuma outra perda foi registrada em ambos os grupos.

Os grupos de vacinação foram semelhantes com relação ao sexo e a idade, o que era esperado em relação à idade já que houve o pareamento dos casos no início do estudo. Com relação ao sexo, 52,7% eram mulheres e 47,3% homens e esta proporção se manteve nos grupos de estudo (Tabela 2).

Tabela 2 - Estatística descritiva para os pacientes dos grupos A e B

Variáveis	Grupos de vacinação		p_valor
	A (n=43)	B (n=50)	
Idade (IC95%)	13,8 (13,0 – 14,5)	13,9 (13,1 – 14,6)	0,84 ¹
Sexo	n (%)	n (%)	
Masculino	18 (41,9)	26 (52,0)	0,33 ²
Feminino	25 (58,1)	24 (48,0)	

¹ Teste de Mann-Whitney, comparação de médias.

² Teste de associação pelo qui-quadrado.

IC: Intervalo de Confiança.

Todos os pacientes do grupo A estavam sob tratamento com terapia antirretroviral altamente ativa (HAART). Considerando-se o grupo A, 42 pacientes foram infectados pelo HIV de forma vertical e apenas 1 dos pacientes sob a forma horizontal.

4.2 Resposta à vacina do Meningococo

Os níveis médios de resposta pós-vacinação foram maiores no grupo de indivíduos saudáveis quando comparados com os pacientes HIV, tanto para o teste do ELISA ($p=0,001$) quanto para o do SBA ($p<0,001$) (Tabela 3). Esta comparação pode também ser observada nas Figuras 1 e 2.

Quando se analisou o SBA com o ponto de corte de 8 títulos, observou-se que no grupo de pacientes HIV, 18,6% dos pacientes apresentaram valores inferiores a 8, enquanto que 81,4% apresentaram valores maiores ou iguais a 8 após a vacinação. Para o grupo B, a totalidade dos pacientes (100%) apresentou valores iguais ou superiores a 8 após a vacinação. Com relação à elevação de 4 vezes a titulação do SBA inicial, notou-se que 31 pacientes do grupo HIV (72,1%) obtiveram este parâmetro após a vacina, enquanto que a totalidade de sujeitos do outro grupo apresentou esta elevação (Tabela 4).

Tabela 3 - Comparação entre grupos para SBA e ELISA pré e pós-vacina MCC-CRM₁₉₇

Variáveis	Grupos de vacinação		p_valor
	A (n=43)	B (n=49)	
Antes MCC-CRM₁₉₇			
SBA médio-GMT (IC95%)	19,95 (4,48 – 35,43)	39,96 (13,09 – 66,83)	0,081 ¹
Nível SBA < 8	36 (83,7)	32 (65,3)	0,044 ²
Nível SBA ≥ 8	7 (16,3)	17 (34,7)	
ELISA médio-GMC (IC95%)	0,86 (0,36 – 1,36)	2,27 (1,26 – 3,29)	0,004 ¹
Após MCC-CRM₁₉₇			
SBA médio-GMT (IC95%)	500,33 (266,51 – 734,14)	2873,47 (2019,10 – 3727,73)	< 0,001 ¹
Nível SBA < 8	8 (18,6)	-	na
Nível SBA ≥ 8	35 (81,4)	49 (100,0)	
ELISA médio-GMC (IC95%)	9,86 (4,75 – 14,97)	18,71 (11,98 – 25,42)	0,001 ¹
Nível SBA ≤ 128	20 (46,5)	-	na
Nível SBA > 128	23 (53,5)	49 (100,0)	

¹ Teste de Mann-Whitney, comparação de médias² Teste de associação pelo qui-quadrado

GMC – média geométrica de concentração

GMT – média geométrica de titulação

IC: Intervalo de Confiança

na: não avaliado

Figura 1. Média geométrica de titulação (GMT) dada pelo teste de SBA (escala logarítmica) e respectivo intervalo de confiança de 95%, antes e após 1 mês de vacinação, de acordo com os grupos

Figura 2. Média geométrica de concentração (GMC) dada pelo teste ELISA e respectivo intervalo de confiança de 95%, antes e após 1 mês de vacinação, de acordo com os grupos

Tabela 4 - Resposta à vacina de acordo com os títulos de SBA dos pacientes dos dois grupos, categorizados de acordo com o critério de proteção

Títulos SBA pós-vacinação	Grupo A - HIV		Grupo B - Hígidos	
	No.	(%)	No.	(%)
< 8	8	(18,6)	-	-
≥ 8	35	(81,4)	49	(100)
< 4 vezes pré	12	(27,9)	-	-
≥ 4 vezes pré	31	(72,1)	49	(100)
Total	43	(100)	49	(100)

Considerou-se resposta positiva à 1ª dose da vacina os pacientes que tiveram SBA pós-vacinal ≥ 8 e elevação deste 4x o SBA inicial. Assim, pela combinação de critérios de proteção, no grupo HIV, 31 pacientes responderam positivamente à vacina (72,1%) e foram considerados protegidos, enquanto que 12 pacientes tiveram resposta negativa e considerados desprotegidos (Tabela 5). No grupo de indivíduos saudáveis houve 100% de proteção com dose única da vacina. Caso tivesse sido adotado como correlato de proteção níveis de SBA > 128 , a resposta de proteção a vacina teria sido 53,5% no grupo A, mantendo-se 100% no grupo B. Observou-se ainda, que dentro do grupo HIV respondedores à vacina, 5 dos 31 pacientes (11,6%) apresentaram resposta vacinal limítrofe, ou seja atingiram após a vacinação exatamente SBA = 8 ou ascensão apenas de 4x a titulação pré para pós-vacinal.

Tabela 5 - Resposta à vacina, de acordo com os títulos de SBA

Variáveis	Grupo A - HIV		Grupo B - hígidos		p_valor ¹
	nº.	(%)	nº.	(%)	
Resposta à vacina					
Positiva	31	(72,1)	49	(100)	n.a
Negativa	12	(27,9)	-	-	
Total	43	100	49	100	

¹ Teste de associação pelo qui-quadrado.

n.a. : não avaliado

A avaliação pós-vacinal mostrou que 30 pacientes do grupo A atingiram níveis de ELISA acima de 2mcg/ml, enquanto o SBA mostrou 31 pacientes com titulações acima de 4 vezes o SBA inicial. O único caso que apresentou incompatibilidade entre os testes havia apresentado SBA limítrofe para proteção. Assim, foram indicados para a revacinação os 12 pacientes considerados desprotegidos pela combinação de critérios de proteção estabelecidos.

Todos os soros analisados de ambos os grupos, não se mostraram lipêmicos.

4.3 Níveis de anticorpos antes e após a vacina

Quando se fez a comparação dos níveis de SBA antes e depois da vacina segundo grupos de vacinação, observou-se que houve aumento nos níveis médios de SBA após a vacina tanto para o grupo A quanto para o grupo B (Figura 1). A mesma situação ocorreu para os níveis do ELISA, que pode ser observado na Figura 2 (Tabela 6).

Tabela 6 - Comparação entre SBA (GMT) e ELISA (GMC) pré e pós-vacina (1 dose), de acordo com os grupos de vacinação (vacina MCC-CRM₁₉₇)

	Momento da vacina		p_valor ¹
	pré	pós	
	Média (IC95%)	Média (IC95%)	
Grupo A - SBA	19,95 (4,48 – 35,43)	500,33 (266,51 – 734,14)	<0,001
Grupo B - SBA	39,96 (13,09 – 66,83)	2873,47 (2019,10 – 3727,73)	<0,001
Grupo A – ELISA	0,86 (0,36 – 1,36)	9,86 (4,75 – 14,97)	<0,001
Grupo B – ELISA	2,27 (1,26 – 3,29)	18,71 (11,98 – 25,42)	<0,001

¹ teste de Wilcoxon.

Os níveis médios de SBA antes da vacina são estatisticamente semelhantes quando se faz a comparação entre os dois grupos (média_A=19,95, média_B=39,96; p=0,081) (Tabela 3). Quando se compara os grupos para o SBA pré-vacinal com o ponto de corte de 8 títulos, observa-se uma associação significativa entre os níveis de SBA e os grupos de vacinação, mostrando uma maior proporção de pessoas com níveis de SBA < 8 no grupo HIV (Tabela 3). Em relação ao teste do ELISA, o nível médio do grupo de saudáveis (B) antes da vacina é estatisticamente superior ao nível do grupo HIV (A) (média_A=0,86, média_B=2,27; p=0,004) (Tabela 3 e Figuras 1 e 2). No momento pré-vacinal, os níveis de ELISA variaram de 0 a 7.44 mcg/mL nos pacientes do grupo HIV (A) e de 0 a 19 mcg/mL no grupo de saudáveis (B).

Com relação aos níveis médios de SBA após a vacinação, observa-se que o grupo B apresenta um valor médio de SBA significativamente superior quando comparado ao valor médio do grupo A (média_A=500,33, média_B=2873,47; p=<0,001). O mesmo ocorre para os níveis do Elisa (média_A= 9,86, média_B=18,71; p=0,001). Nota-se respostas de diferentes magnitudes quando comparamos os grupos (Tabela 3 e 6). No momento pós-vacina, os níveis de ELISA variaram de 0 a 73.10 mcg/mL no grupo HIV e de 2.03 a 81,00 mcg/mL no grupo de saudáveis.

4.4 Relação entre as técnicas SBA x ELISA

A Figura 3 apresenta a relação entre os níveis de SBA e ELISA para os grupos estudados, no momento pré-vacinal. O coeficiente de correlação foi positivo e significativo entre as magnitudes de SBA e ELISA para o grupo HIV (A) ($r=0.62$; $p=0.006$); o coeficiente de regressão do ELISA foi de 0.81 ($p=0.006$), mostrando que a cada unidade do logaritmo do ELISA aumenta-se o logaritmo do SBA em 0,81. O modelo explicou 40% da variância total do SBA. Com relação ao grupo de saudáveis (B), o coeficiente de correlação foi não significativo para os níveis de SBA e ELISA antes da vacina ($r=0.24$; $p=0.168$).

Figura 3. Relação entre os níveis de SBA e ELISA para os anticorpos do meningococo sorogrupo C, no momento pré-vacinal, nos grupos HIV (A) e saudáveis (B)

A Figura 4 mostra a relação entre os níveis de SBA e ELISA um mês após a vacinação, nos grupos estudados. O coeficiente de correlação entre SBA e ELISA foi significativo para o grupo dos pacientes HIV (A) ($r=0.62$; $p<0.001$) e o coeficiente de regressão do ELISA foi de 1.06, mostrando que a cada unidade do ELISA aumentam-se os títulos de SBA em 1.06. O modelo de regressão explicou 38% da variabilidade dos títulos de SBA. Para o grupo dos saudáveis (B), o coeficiente de correlação não se mostrou significativo ($r=0.23$; $p=0.110$).

Figura 4. Relação entre os níveis de SBA e ELISA para os anticorpos do meningococo sorogrupo C, um mês após a vacinação, nos grupos HIV (A) e saudáveis (B)

Tanto no momento pré-vacinal quanto no pós-vacinal as correlações entre os níveis de ELISA e SBA foram significativas para os sujeitos do grupo HIV (A).

Para os indivíduos do grupo HIV (A) que receberam a 2ª dose da vacina, também, foi realizada a análise de correlação entre os níveis de SBA e ELISA e esta relação está representada na Figura 5. O coeficiente de correlação foi significativo, $r = 0,84$ ($p = 0,019$) e o coeficiente de regressão foi de 0.95, mostrando que a cada unidade do ELISA, aumentam-se os títulos de SBA em 0.95. O modelo linear simples explicou 64% da variância total dos títulos de SBA.

Figura 5. Relação entre os níveis de SBA e ELISA para os anticorpos do meningococo sorogrupo C, após a aplicação da vacina nos indivíduos do grupo HIV (A) que receberam a segunda dose da vacina

Do total de pacientes incluídos, seis deles (quatro HIV- e dois HIV+) haviam recebido previamente ao estudo vacina meningocócica polissacarídica. As análises de correlação foram repetidas excluindo-se esses indivíduos. As análises para os sujeitos do grupo HIV (A) não sofreram alterações. Porém para os sujeitos do grupo saudáveis, na fase pós-vacinação, a magnitude da correlação entre os níveis de SBA e ELISA sofreu um aumento e tornou-se significativa ($r=0,38$; $p=0,012$) (Figura 6). Assim, o coeficiente de correlação foi significativo e para cada unidade do logaritmo do ELISA, aumenta-se o logaritmo dos títulos de SBA em 0,32. O coeficiente de determinação da regressão foi de 14%.

Figura 6. Relação entre os níveis de SBA e ELISA para os anticorpos do meningococo sorogrupo C, após a aplicação da vacina nos indivíduos, para o grupo dos que não receberam vacina polissacarídica prévia

4.5 Grupo A – HIV: características e associações com a resposta vacinal

Avaliando-se às características clínicas do grupo HIV, a maioria dos pacientes apresentavam as categorias B e C da classificação clínica (74,4%) e 2 ou 3 da imunológica do CDC (83,8%), possuíam contagem de CD4 absoluto acima de 350 células/mm³ (86%) com percentual deste igual ou maior que 25% (69,8%), carga viral abaixo do limite de detecção (58,1%) e também não possuíam falha terapêutica no momento do estudo (74,4%). A Tabela 7 apresenta em detalhes essas características do grupo A.

Tabela 7 - Descrição dos pacientes do grupo A, de acordo com parâmetros clínicos e laboratoriais (Classificação CDC, CD4 absoluto e percentual no momento da vacinação, Carga Viral no momento da vacinação, falha terapêutica e presença de sintomatologia)

Variáveis	Categoria	n	%
Classificação Clínica CDC	N	1	2,3
	A	10	23,3
	B	17	39,5
	C	15	34,9
Classificação Imunológica CDC	1	7	16,2
	2	16	37,2
	3	20	46,6
CD4 absoluto (células/mm ³)	< 200	3	7,0
	200 – 350	3	7,0
	> 350	37	86,0

% CD4	< 15%	7	16,3
	15% - 24%	6	14,0
	>=25%	30	69,8
Carga Viral (cópias/mL)	< 50	25	58,1
	50 – 500.000	16	37,2
	> 500.000	2	4,7
Falha terapêutica	Clínica	-	-
	Imunológica	3	7,0
	Viroológica	8	18,6
	Sem falha	32	74,4
Sintomático	Sim	3	7,0
	Não	40	93,0
Total		43	100,0

Nota-se, ainda, que a maioria do grupo apresentava uso de antirretroviral prévio por tempo prolongado (entre 6 a 15 anos de uso), muitos deles apresentando histórico de doença definidora de aids, com grande experimentação de classes de drogas antirretrovirais, quase que na sua totalidade dos Inibidores da Transcriptase Reversa Análogos de Nucleosídeo/Nucleotídeo (ITRN), Não Análogos de Nucleosídeo (ITRNN), além dos Inibidores de Protease (IP). Mais de 90% dos participantes não utilizaram as classes Inibidores de Fusão (IF) e Integrase (II), e a totalidade deles não utilizou a classe Inibidores de Entrada – antagonistas do CCR5 (IE) (Tabela 8).

Tabela 8 - Descrição dos pacientes do grupo A, de acordo com parâmetros clínicos e terapêuticos (tempo de uso de antirretroviral, classes de drogas antirretrovirais utilizadas, presença de doença definidora de aids)

Característica	Categoria	n	%
Tempo de uso ARV ¹	0 – 5 anos	3	7,2%
	6 – 10 anos	19	45,2%
	11 – 15 anos	18	42,8%
	16 – 20 anos	2	4,8%
Classes de drogas			
ITRN	Sim	42	97,7
	Não	1	2,3
ITRNN	Sim	34	79,1
	Não	9	20,9
IP	Sim	32	74,4
	Não	11	25,6
IF	Sim	3	7,0
	Não	40	93,0
II	Sim	2	4,7
	Não	41	95,3
IE	Sim	-	-
	Não	43	100,0

Doença Def.AIDS	Sim	19	44,2
	Não	24	55,8
Total		43	100,0

[†] Um paciente do Grupo A não utilizava drogas ARV

A Tabela 9 mostra a estatística descritiva para outras variáveis clínicas do grupo A. Todas as variáveis com $p > 0,05$ apresentaram aderência à curva normal.

Avaliando-se dentro do grupo A, os não respondedores a vacina, nota-se que a maioria possui a classificação clínica B e C do CDC e imunológica 3, tem CD4 absoluto acima de 350 e percentual superior a 25% e ainda, não apresenta falha terapêutica no momento do estudo (Tabela 10). Com relação à carga viral, apenas dois pacientes do grupo de não respondedores apresentaram carga viral acima de 500.000 cópias/mL na ocasião da vacinação. A totalidade deles não estava em uso de antibióticos e nem rifampicina durante a vacinação. Observa-se na Tabela 10 que o grupo de não respondedores é semelhante ao grupo de respondedores com relação às variáveis clínicas e laboratoriais descritas nessa tabela, não se encontrando em nenhum dos testes estatísticos realizadas diferenças significativas nesses parâmetros avaliados.

Tabela 9 - Estatística descritiva para as variáveis clínicas

Variável	Média (dp)	Mediana	Mínimo	Máximo	p_valor [#]
Número ESQARV	3,6 (2,1)	3,0	0,0	9,0	0,10
Idade	13,8 (2,5)	14,0	10,0	19,0	0,09
Tempo uso ARV (ano)	12,9 (15,5)	11,0	2,0	18,0	< 0,01
Peso (Kg)	44,9 (12,9)	44,0	24,4	70,0	0,21
Estatura (m)	1,5 (0,1)	1,5	1,3	1,8	0,57
IMC (kg/m ²)	18,9 (3,4)	18,0	13,0	28,0	0,21
Carga Viral Média	58631,0 (64244,1)	33083,0	781,0	285460,0	0,06
CD4 Médio	817,1 (340,1)	760,0	339,0	1638,0	0,67
Nadir CD4	362,6 (246,0)	281,0	28,0	1017,0	0,21
Carga Viral					
Pré 1ª dose ¹	55329,0 (166207,3)	7382,0	91,0	750000,0	< 0,01
Pós 1ª dose ²	8155,4 (17587,9)	2500,0	94,0	80000,0	< 0,01
Pré 2ª dose ³	22346,0 (28830,7)	9953,0	485,0	80000,0	0,04
Pós 2ª dose ⁴	51736,0 (121863,8)	8731,0	616,0	352786,0	< 0,01
CD4					
Pré 1ª dose	747,7 (371,2)	662,0	165,0	1678,0	0,11
Pós 1ª dose	827,7 (461,7)	742,0	180,0	2447,0	< 0,01
Pré 2ª dose	764,4 (259,7)	730,0	385,0	1215,0	0,78
Pós 2ª dose	672,2 (325,9)	606,5	378,0	1390,0	0,04

¹ 23 observações com cargas virais indetectáveis, não sendo computadas nos cálculos.² 22 observações com cargas virais indetectáveis, não sendo computadas nos cálculos.³ 3 observações com cargas virais indetectáveis, não sendo computadas nos cálculos.⁴ 2 observações indetectáveis.

NúmeroESQARV= número de esquemas ARV utilizados

Teste de aderência à curva normal (Shapiro- Wilk).

Observações:

As cargas virais acima do limite máximo de detecção foram consideradas para efeito de cálculo e análise (CV pré e pós 1ª e 2ª dose da vacina) como sendo o valor máximo mensurável pelo método.

No cálculo das médias foram adotados como critério a utilização do valor máximo mensurável pelo método no caso das cargas virais acima do limite máximo de detecção e excluída as cargas virais indetectáveis, sendo portanto essa a média de todas as cargas virais detectáveis.

Dos pacientes indetectáveis pré e pós 1ª dose de vacina, 22 deles tinham essa situação concordante em ambos os momentos. Apenas 1 paciente coincidiu as cargas virais indetectáveis pré e pós 2ª dose da vacina.

As dosagens de carga viral e CD4 pós-dose foram colhidas em data coincidente com os controles habituais do paciente, sendo dosagens em torno de 90-120 dias pós-vacina.

Tabela 10 - Descrição dos pacientes do grupo A com relação à resposta à vacina e parâmetros clínicos e laboratoriais (Classificação CDC, CD4 absoluto e percentual no momento da vacinação, Carga Viral no momento da vacinação, falha terapêutica e presença de sintomatologia)

Variáveis	Categoria	Resposta à vacina MCC-CRM ₁₉₇				p-valor [†]
		Sim		Não		
		n	%	n	%	
Classificação Clínica CDC	N	1	3,2	-	-	-
	A	8	25,8	2	16,7	
	B	12	38,7	5	41,7	
	C	10	32,3	5	41,7	
Classificação Imunológica CDC	1	6	19,4	1	8,3	0,62
	2	11	35,4	4	33,3	
	3	14	45,2	7	58,4	

CD4 absoluto	< 200	2	6,5	1	8,3	-
(células/mm ³)	200 – 350	3	9,7	-	-	
	> 350	26	83,9	11	91,7	
% CD4	< 15%	3	9,7	4	33,3	-
	15% - 24%	5	16,1	1	8,3	
	>=25%	23	74,2	7	58,3	
Carga Viral	< 50	20	64,5	5	41,7	-
(cópias/mL)	50 – 500.000	11	35,5	5	41,7	
	> 500.000	-	-	2	16,7	
SBA pré ≥ 8	Sim	6	19,4	1	8,3	0,65
	Não	25	80,6	11	91,7	
Falha terapêutica	CI+im+virol	6	19,4	5	41,7	0,24
	Sem falha	25	80,6	7	58,3	
Sintomático	Sim	2	6,5	1	8,3	1,00
	Não	29	93,5	11	91,7	
Total		31	100,0	12	100,0	

¹ Teste de associação pelo qui-quadrado ou teste exato de Fisher

Observação: Para as variáveis classificação do CDC, CD4 absoluto, % CD4 e carga viral não foi possível realizar o teste de associação.

Na Tabela 11 verifica-se que os grupos respondedor e não respondedor à vacina são também homogêneos (percentuais semelhantes; $p>0,05$) com relação ao tempo de uso de ARV, às classes de drogas ARV previamente utilizadas e histórico de doença definidora de aids. Nota-se apenas, que as classes de drogas consideradas para esquemas de resgate, Inibidores de Fusão e Integrase foram utilizadas quase que na sua totalidade por pacientes não respondedores à vacina.

Tabela 11 - Descrição dos pacientes do grupo A com relação à resposta à vacina e parâmetros clínicos e de terapia ARV

Característica	Categoria	Resposta		
		Sim n (%)	Não n (%)	p_valor
		31 (72,1)	12 (27,9)	
Tempo de ARV ¹	> 10 anos	14 (46,7)	6 (50,0)	0,88
	< 10 anos	16 (53,3)	6 (50,0)	
Classes de drogas				
ITRN	Sim	30 (96,8)	12 (100,0)	n.a
	Não	1 (3,2)	-	
ITRNN	Sim	23 (74,2)	11 (91,7)	0,40
	Não	8 (25,8)	1 (8,3)	
IP	Sim	23 (74,2)	9 (75,0)	~1,00
	Não	8 (25,8)	3 (25,0)	
IF	Sim	1 (3,2)	2 (16,7)	0,18
	Não	30 (96,8)	10 (83,3)	
II	Sim	-	2 (16,7)	n.a
	Não	31 (100,0)	10 (83,3)	
IE	Sim	-	-	n.a
	Não	31 (100,0)	12 (100,0)	

Doença Def.AIDS	Sim	13 (41,9)	6 (50,0)	0,89
	Não	18 (58,1)	6 (50,0)	
Total		31 (100,0)	12 (100,0)	

¹ 1 paciente não estava em uso de ARV, não sendo computado nessa variável

Observou-se, quando se fez a comparação de médias entre os grupos, diferença destas com relação ao número de esquemas de drogas ARV previamente utilizados, ou seja, os respondedores à primeira dose da vacina apresentavam número menor de esquemas de drogas ARV até a data da vacinação quando comparado ao número de esquemas dos não respondedores. Na comparação da idade, observou-se uma tendência de que os respondedores eram os mais novos, porém, a significância estatística foi limítrofe ($p=0,08$). Avaliando-se o tempo de uso de drogas ARV em número de anos, nota-se que o tempo em anos do grupo respondedor é superior ao não respondedor. Considerando-se e unindo ambos os resultados, idade e tempo de uso de ARV, concluímos que o grupo respondedor iniciou o uso das drogas ARV mais precocemente, já que são os mais novos e com mais tempo de uso. Esse fato pode ser comprovado com o cálculo da média de idade de início dos ARV, notando-se uma média de 42,5 meses (3,5 anos) para os respondedores x 50,3 meses (4,2 anos) para os não respondedores.

Com relação à carga viral prévia à primeira dose da vacina, verifica-se que houve diferença estatisticamente significativa, sendo a média no grupo respondedor inferior à média do grupo não respondedor. Para as demais variáveis não foram observadas diferenças estatisticamente significativas, inclusive para níveis de CD4 médio e nadir de CD4. A Tabela 12 ilustra esses parâmetros avaliados acima.

Tabela 12 - Descrição dos pacientes do grupo A com relação à resposta à vacina e parâmetros clínicos, laboratoriais e de terapia ARV

Variável	Comparação de médias		p_valor [#]
	Resposta		
	Sim	Não	
NúmESQARV	3,2	4,8	0,04
Núm de classes de ARV	2,5	3,0	0,30 ^{##}
Idade	13,4	14,8	0,08
Tempo uso ARV	13,5	11,1	0,98 ^{##}
Peso (Kg)	43,3	49,0	0,23
Estatura (m)	1,5	1,5	0,47
IMC (kg/m ²)	18,4	20,1	0,21
Carga Viral Média	55944,0	65572,3	0,97 ^{##}
CD4 Médio	822,1	804,1	0,87
Nadir CD4	376,9	327,8	0,56
Carga Viral			
Pré 1ª dose	16264,0	113925,5	0,05 ^{##}
Pós 1ª dose	3362,0	15345,4	0,31 ^{##}
CD4			
Pré 1ª dose	782,9	657,0	0,42
Pós 1ª dose	863,8	734,6	0,43

NúmESQARV= número de esquemas ARV utilizados.

[#] Teste t-Student (comparação de médias).

^{##} Kruskal Wallis Test (equivalente ao teste t, porém é não paramétrico).

Não foram encontradas associações significativas entre a grande maioria das características clínicas e laboratoriais dos pacientes infectados pelo HIV e a resposta de anticorpos, excetuando-se apenas as diferenças encontradas com relação à média de idade dos grupos respondedores e não respondedores à vacina, número de esquemas ARV previamente utilizados e carga viral prévia à vacinação. Notou-se uma tendência que os pacientes que iniciaram drogas ARV mais precocemente, fossem os melhores respondedores. Dos 10 pacientes que iniciaram drogas ARV antes de 12 meses de vida, 100% foram respondedores à vacina, representando esses 32,2% dos pacientes do grupo A respondedores à vacinação. Dos 9 pacientes que iniciaram drogas ARV entre 12 a 24 meses, 5 foram respondedores e 4 não respondedores, porém, dentre desse subgrupo (não respondedores), 3 deles eram considerados pelos médicos que os assistiam, como não aderentes ao tratamento ARV. Considerando-se o restante dos parâmetros avaliados, ambos os grupos, respondedores e não respondedores apresentavam o mesmo perfil clínico, imunológico e virológico.

Com relação à proteção prévia a vacinação (SBA prévio ≥ 8), 7 pessoas já estavam previamente protegidas, sendo 6 pessoas do grupo de respondedores à primeira dose da vacina e 1 pessoa não respondedora. A Tabela 13 descreve as características desse grupo específico.

Tabela 13 - Descrição dos pacientes previamente protegidos (SBA pré- vacinal ≥ 8) antes da primeira dose da vacina

Variáveis	categoria	n	%
Classificação Clínica CDC	N	-	-
	A	3	42,9
	B	3	42,9
	C	1	14,3
Classificação Imunológica CDC	1	2	28,5
	2	1	14,3
	3	4	57,2
CD4 absoluto (células/mm ³)	< 200	-	-
	200 – 350	1	14,3
	> 350	6	85,7
% CD4	< 15%	1	14,3
	15% - 24%	1	14,3
	$\geq 25\%$	5	71,4
Carga Viral (cópias/mL)	< 50	3	42,9
	50 – 500.000	4	57,1
	> 500.000	-	-
Falha terapêutica	Clínica	-	-
	Imunológica	-	-
	Viológica	1	14,3
	Sem falha	6	85,7
Sintomático	Sim	-	-
	Não	7	100,0

Vacina A/C prévia	Sim	1	14,3
	Não	6	85,7
Vacina B/C prévia	Sim	-	-
	Não	7	100,00
Total		7	100,0

Um único paciente previamente protegido antes da aplicação da vacina, havia recebido a vacina meningocócica polissacarídica A/C prévia, há 8 anos da pesquisa. Dos 43 pacientes do grupo A (grupo total), 2 haviam recebido a vacina A/C prévia (um há 8 anos e outro há 11 anos da pesquisa), enquanto 37 não haviam recebido e para 4 tal informação era ignorada. Com relação à vacina B/C prévia, 39 pacientes não haviam recebido e 4 não possuíam esta informação. Observa-se que 6 dos 7 pacientes com resposta de proteção prévia à vacina, não haviam recebido a vacina A/C anteriormente e a totalidade deles também não apresentavam histórico de vacinação B/C prévia.

A Tabela 14 faz um comparativo das características dos pacientes previamente protegidos (com SBA ≥ 8 antes da vacinação) com aqueles previamente desprotegidos (SBA < 8 antes da vacinação). Observa-se que os grupos são semelhantes para a maioria das variáveis analisadas ($p > 0,05$).

Tabela 14 - Descrição dos pacientes do grupo A com relação à proteção prévia e parâmetros clínicos e laboratoriais (Classificação CDC, CD4 absoluto e percentual, Carga Viral, falha terapêutica e presença de sintomatologia)

Variáveis		Categoria	Resposta prévia SBA ≥ 8				p-valor ¹
			Sim		Não		
			n	%	n	%	
Classificação Clínica CDC	N+A	3	42,8	8	22,2	0,35	
	B+C	4	57,2	28	77,8		
Classificação Imunológica CDC	1	2	28,6	5	13,9	-	
	2	1	14,3	14	38,9		
	3	4	57,1	17	47,2		
CD4 absoluto (células/mm ³)	Até 350	1	14,3	5	13,9	1,00	
	> 350	6	85,7	31	86,1		
% CD4	Até 24%	2	28,6	11	30,6	1,00	
	>=25%	5	71,4	25	69,4		
Carga Viral (cópias/mL)	< 50	3	42,9	22	61,1	0,43	
	>=50	4	57,1	14	38,9		
Falha terapêutica	Clínica+imuno+virologica	1	14,3	10	27,8	0,65	
	Sem falha	6	85,7	26	72,2		
Sintomático	Sim	-		3	8,3	-	
	Não	7	100,0	33	91,7		
Vacina previa	A/C	Sim	1	14,3	1	2,8	0,33
		Não	6	85,7	31	86,1	

Vacina previa	B/C	Sim	-	-	-
		Não	7	100,0	32 88,9
Total			7	100,0	36 100,0

¹ Teste de associação pelo qui-quadrado ou teste exato de Fisher.

O Anexo 9 apresenta as Tabelas 15 e 16 com a descrição dos casos do grupo A individualmente.

4.6 Resposta à revacinação

No momento da revacinação, dos 12 pacientes HIV encaminhados por ausência de proteção conferida pela vacina com dose única, somente 10 foram revacinados. Uma paciente foi excluída, pois estava gestante no momento desta etapa da pesquisa, o que a retirou do estudo; a outra abandonou o protocolo, havendo essa perda da amostra (essa paciente havia mudado seu local de seguimento do HIV o que dificultou seu acesso à revacinação em nosso serviço).

Dos dez pacientes revacinados somente 4 obtiveram resposta imunológica positiva à 2ª dose da vacina meningocócica conjugada, atingindo os parâmetros de proteção estabelecidos (apenas 40% de resposta a revacinação). Cinco dos dez pacientes tiveram os seus títulos absolutamente inalterados quando se fez a comparação antes e depois da segunda dose da vacina. O sexto paciente não respondedor apresentou elevação muito discreta dos títulos bactericidas, não atingindo o aumento de 4x os títulos pré-vacinais. Considerando-se o ELISA, também, apenas os mesmos 4 pacientes atingiram após a segunda dose da vacina, níveis de anticorpos > 2mcg/mL. Importante ressaltar que dos 4 pacientes respondedores à revacinação, 3 desses tiveram respostas limítrofes, ou seja, atingiram nas avaliações pós-vacinal SBA=8 ou elevação de apenas 4 titulações de SBA pré para pós-vacinal. A Tabela 17 descreve as

características do grupo submetido à revacinação, assim como, a resposta vacinal destes.

Tabela 17 - Descrição dos pacientes que receberam a 2ª dose da vacina

Variáveis		categoria	n	%
Classificação Clínica CDC		N	-	-
		A	2	20,0
		B	3	30,0
		C	5	50,0
Classificação Imunológica CDC		1	1	10,0
		2	3	30,0
		3	6	60,0
CD4 absoluto (células/mm ³)		< 200	-	-
		200-350	-	-
		> 350	10	100,0
% CD4		< 15%	1	10,0
		15% - 24%	3	30,0
		>=25%	6	60,0
Carga Viral (cópias/mL)		< 50	3	30,0
		50 – 500.000	7	70,0
		> 500.000	-	-
Nível SBA pós-vacinal		Nível SBA < 8	3	30,0
		Nível SBA ≥ 8	7	70,0
Nível SBA pós-vacinal		< 4 vezes pré	6	60,0
		≥ 4 vezes pré	4	40,0

Nível SBA	Nível SBA $\leq$ 128	10	100,0
	Nível SBA $>$ 128	-	
Resposta	Sim	4	40,0
	Não	6	60,0
Efeitos Colaterais	Sim	-	
	Não	10	100,0
Total		10	100,0

Observou-se que a magnitude de resposta de SBA entre os respondedores foi bem diferente quando comparados os valores alcançados após 1 ou 2 doses da vacina. Os respondedores da dose única alcançaram respostas de magnitudes muito superiores aos que necessitaram de duas doses para atingir a resposta protetora. Os dados são apresentados na Tabela 18.

Tabela 18 - Comparação entre as médias com respectivo intervalo de confiança, medianas, valores mínimos e máximos de SBA pós-vacinal atingido pelo grupo A, subdividido nos grupos respondedores a 1 ou 2 doses de vacina (vacina MCC-CRM₁₉₇)

Parâmetros	SBA	
	1 dose	2 doses
Média (IC95%)	690,6 (389,4–991,7)	56 (30,5-81,5)
Mediana	512	64
Valor mínimo e máximo	32-4096	32-64

O tempo médio decorrido entre as duas doses da vacina foi de 347,3 dias (desvio-padrão = 68,5 dias, mediana = 312 dias, tempo mínimo = 259 e máximo = 458 dias).

Considerando-se a somatória da resposta à vacina meningocócica conjugada, obtida nos pacientes infectados pelo HIV submetidos a uma ou duas doses desta, a percentagem total de resposta foi 81,4% (o número total de respondedores é de 35 dos 43 pacientes avaliados; 31 submetidos à dose única mais 4 à revacinação).

4.7 Eventos adversos

Os eventos adversos foram observados em 16,3% dos pacientes do grupo HIV enquanto 44% das pessoas do grupo de saudáveis estavam na mesma situação. Quando se faz a comparação entre grupos e eventos adversos, verifica-se que eles não são homogêneos, ou seja, existe associação significativa entre eles ($p=0,004$), mostrando que os indivíduos saudáveis apresentaram maior proporção de eventos adversos à vacina, quando comparadas com os do grupo HIV (Tabela 19).

Tabela 19 - Ocorrência de eventos adversos dentro dos grupos A e B

Variáveis	Grupo A - HIV		Grupo B - hígidos		p_valor [†]
	n.º	(%)	n.º	(%)	
Eventos adversos					
Sim	7	(16,3)	22	(44)	0,004
Não	36	(83,7)	27	(56)	
Total	43	100	49	100	

[†] Teste de associação pelo qui-quadrado.

Nenhum evento adverso foi observado no grupo da revacinação; todos os pacientes do grupo HIV que apresentaram alguma sintomatologia, foram posteriores a primeira dose de vacina administrada. Todos os eventos adversos foram leves e de rápida resolução. No grupo A 100% dos sintomas

apresentados, evoluíram com remissão espontânea, sem necessidade de uso de medicação, com média de duração da sintomatologia de 2 dias. No grupo B 91% dos pacientes apresentaram remissão espontânea da sintomatologia apresentada; o restante necessitou de medicações sintomáticas para alívio das manifestações. A duração média dos eventos adversos neste grupo foi igualmente ao grupo A, de 2 dias. Durante o transcorrer do estudo, houve um óbito no grupo A, por causa não relacionada à vacina (linfoma de Burkitt e septicemia). Os eventos adversos apresentados estão descritos na Tabela 20.

Tabela 20 – Eventos adversos com a vacina nos grupos A e B

Eventos adversos	Grupo	
	A - HIV (n = 7)	B - Hígido (n = 22)
Dor	5	20
Dor e Febre ^a	0	1
Dor, eritema e enduração	0	1
Dor e mialgia	1	0
Dor e diarreia	1	0

^aFebre definida como temperatura axilar $\geq 37.8^{\circ}\text{C}$.

5. DISCUSSÃO

5.1 Considerações gerais

A doença meningocócica é ainda um sério problema de saúde pública, estando associada a elevadas taxas de morbimortalidade no mundo e, em especial, no Brasil³⁹. Os últimos dados do Centro de Vigilância Epidemiológica (SINAN/Divisão de Doenças de Transmissão Respiratória-São Paulo-Brasil), de 2012, mostram que o sorogrupo C é responsável por 75,3% de todos os casos identificados de doença meningocócica no Estado de São Paulo. A letalidade da doença em nosso meio, infelizmente, permanece bastante elevada, situando-se em torno de 23,3%^{40,41,43,50,51}.

Tem-se observado nos últimos anos, elevação da incidência da doença meningocócica na faixa etária dos adolescentes e adultos jovens, sendo essa tendência observada não apenas no Brasil, mas também, em outros locais do mundo^{41,43,50,51}. Algumas hipóteses são formuladas para explicar o aumento da incidência de doença meningocócica neste grupo: o fato de frequentarem ou viverem em ambientes mais populosos ou aglomerações (moradias em universidades, alojamentos, quarteis, festas, grandes eventos), apresentarem comportamentos considerados de alto-risco para doença como tabagismo (ativo e passivo), desenvolvimento de atividades de contato mais próximo em situações de lazer (reuniões sociais) aumentando a probabilidade de colonização de nasofaringe, além de viagens internacionais (intercâmbios) com exposição ao meningococo inclusive, de sorotipos diferentes dos circulantes em seu país de origem.

A introdução das vacinas meningocócicas conjugadas contra o sorogrupo C tem alterado esse panorama com dramática redução da incidência da doença meningocócica causada por esse sorogrupo nos países onde foram introduzidos programas de imunização em massa^{23,24,47}.

Além do seu efeito direto, essas vacinas têm a capacidade de redução da colonização do meningococo C em nasofaringe, diminuindo dessa forma o número de portadores entre os vacinados e a transmissão da doença na população (imunidade de rebanho). Não há informação disponível até o momento do impacto de tais introduções especificamente em população infectada pelo HIV.

5.2 Considerações sobre resposta vacinal

Os pacientes pediátricos infectados pelo HIV apresentaram resposta à vacina conjugada para o meningococo C em 72,1% dos casos quando considerado a administração de dose única, como preconizado pelo Calendário Oficial do Consenso de Tratamento de Pacientes Infectados pelo HIV do Ministério da Saúde do Brasil (2010) no momento do estudo. Considerando-se a administração da segunda dose para os não respondedores, essa resposta subiu para 81,4%. O grupo B, de pacientes saudáveis, não infectados pelo HIV, atingiu níveis de proteção após a dose única da vacina em 100% dos casos, o que era esperado quando comparado com dados oficiais de estudos com a vacina em adolescentes hígidos^{79,94}.

Avaliando também um grupo de adolescentes infectados pelo HIV, Siberry et al conduziram simultaneamente a realização do nosso estudo, pesquisa fase I/II (IMPAACT P1065) de segurança e imunogenicidade com a vacina quadrivalente conjugada para o meningococo (sorogrupos A,C,Y e W conjugados com o toxóide diftérico – *Menactra*, *Sanofi-Pasteur*). Neste estudo foi adotado como parâmetro de proteção prévia níveis de SBA ≥ 128 pré-vacinal e resposta vacinal a ascensão em 4x a titulação de SBA pós-vacinal. Obteve-se resposta ao sorogrupo C em 52% dos casos, taxas inferiores às obtidas em nosso grupo. Porém neste estudo, foram adotados critérios de inclusão mais amplos, sendo incluídos indivíduos infectados pelo HIV com quaisquer níveis de CD4, mesmo aqueles com taxas de CD4 inferiores a 15% o que pode ter influenciado na resposta encontrada⁶⁹. Considerando-se níveis de SBA ≥ 128 pós-vacinal como critério de proteção,

o grupo de Siberry teve 55% dos adolescentes com HIV nesta situação vs 53,5% dos casos do grupo A do nosso estudo, sendo portanto resultados concordantes.

A superior imunogenicidade das vacinas meningocócicas conjugadas ao toxóide tetânico quando comparadas com as conjugadas ao toxóide diftérico ou ao CRM₁₉₇ (mutante natural da toxina diftérica), deve ser sempre considerada na avaliação dos estudos de resposta vacinal às vacinas meningocócicas⁷⁸.

Foi observado em nosso grupo, que nos infectados pelo HIV, duas doses da vacina promoveram melhores resultados de resposta vacinal quando comparadas com dose única. Esses resultados vêm ao encontro das publicações do *Advisory Committee on Immunization Practices* do *Centers for Disease Control and Prevention* e *American Academy of Pediatrics* de 2011 e 2013, que recomendam esquema de imunização composto de duas doses da vacina quadrivalente conjugada (sorogrupos A,C,Y e W) para pacientes infectados pelo HIV. Segundo as publicações, a infecção pelo HIV estaria incluída nas condições de imunocomprometimento que predisporiam a infecções meningocócicas, com possibilidade de redução da resposta imune à vacina meningocócica conjugada ou mesmo a necessidade de altos níveis de anticorpos bactericidas para prover proteção (essa alta concentração seria necessária para mecanismos como a opsonização, fagocitose e morte do meningococo). Por conta disso, o grupo com infecção pelo HIV estaria incluído naqueles que necessitam de duas doses no esquema primário inicial⁹⁵⁻⁹⁷.

Um segundo braço do estudo IMPAACT P1065 realizado com crianças infectadas pelo HIV de 2 a 10 anos, embasaram a necessidade de duas doses no esquema primário, indicando que nessa faixa etária, especialmente para o sorogrupo C, a taxa de pacientes que atingiam níveis considerados protetores de SBA pós-vacinal, foi maior com esquema de duas doses realizadas com intervalo de seis meses (43% após 1ª dose vs 80% após 2ª dose), sendo a titulação de SBA final, pós duas doses, bem superior a

atingida após a dose única (49% com SBA $\geq$ 128 após 1ª dose vs 80% com SBA $\geq$ 128 após 2ª dose)⁹⁸.

Nenhum estudo prévio entre adolescentes infectados pelo HIV foi realizado com esse desenho e objetivo. Nosso estudo mostrou ampliação da resposta vacinal no esquema de duas doses quanto ao número de indivíduos protegidos, porém, não no aumento da titulação de SBA em todos os respondedores. Novas pesquisas seriam necessárias neste grupo.

A conduta de utilização de duas doses no esquema primário não era a adotada no Brasil, havendo mudança da orientação em território nacional, recentemente, a partir de outubro de 2013, conforme divulgado no último Calendário Vacinal de Crianças Expostas ou Infectadas pelo HIV – 2013, do Ministério da Saúde, que passou a recomendar esquema primário de duas doses para todos os pacientes infectados que iniciassem seu esquema tardiamente, após 1 ano de idade⁹⁹.

Apesar do aumento da porcentagem de pacientes respondedores ao esquema de duas doses, devemos salientar que a resposta de anticorpos à revacinação atingiu níveis considerados protetores em apenas 40% (4/10) dos indivíduos revacinados, com respostas limítrofes em quase todos eles (3 dos 4 respondedores), restando ainda 60% (6/10) dos pacientes infectados pelo HIV deste grupo (não respondedores à 1ª dose), sem resposta de proteção após 2 doses de vacina, mostrando que a falha vacinal primária nestes pacientes é algo presente, possivelmente secundário aos danos na resposta imune desencadeados pelo HIV.

A resposta à vacinação é complexa e requer a integração de muitos componentes do sistema imune, envolvendo a participação de linfócitos B e T, células apresentadoras de antígenos, entre outras. Todas elas podem estar afetadas tanto quantitativa quanto qualitativamente no grupo HIV, podendo resultar em pior resposta de proteção primária, prejuízos na geração da memória imunológica, além de dificuldade de manutenção desta¹⁶. Um dado que pode também ter influenciado na pior resposta de proteção no grupo revacinado, foi o longo intervalo transcorrido entre as doses, o que ocorreu por questões técnicas e burocráticas do estudo.

Consideramos essa uma limitação da pesquisa, sendo necessária reavaliação deste aspecto.

A magnitude da resposta bactericida (avaliada através das titulações de SBA) obtida após a vacina nos pacientes infectados pelo HIV, se mostrou significativamente menor quando comparada aos pacientes saudáveis não infectados pelo vírus. Considerando-se o ELISA, as respostas também foram menores nos pacientes infectados do que nos pacientes saudáveis (ambas diferenças estatisticamente significantes).

Considerando-se a revacinação, a magnitude da resposta vacinal dessa fase comparada à obtida pelo grupo de pacientes infectados pelo HIV respondedores a dose única, foi significativamente menor, atingindo em quase todos os pacientes níveis bastante limítrofes de proteção. Novamente, salientamos aqui, que a disfunção imune promovida pelo HIV pode influenciar na magnitude dessas respostas.

As diferenças encontradas corresponderam às expectativas, considerando-se estudos de outras vacinas em crianças e adolescentes infectados pelo HIV, quando as respostas vacinais mostraram-se habitualmente menores do que na população saudável, inclusive para outras vacinas conjugadas^{16,17,26,29}. Exemplificando, a publicação clássica de Moss et al descreveu a resposta vacinal de vários imunobiológicos do esquema habitual, resumindo diversos estudos de outros autores, mostrando resposta protetora a vacina conjugada do *Haemophilus influenzae* em 37 a 86% dos casos, com média geométrica de títulos de anticorpos inferiores aquelas obtidas por pessoas não infectadas pelo HIV¹⁷.

Apesar dos dados encontrados terem constatado a inferioridade da resposta vacinal no grupo infectado pelo HIV em relação ao não infectado, consideramos a resposta alcançada significativa para a prevenção da doença meningocócica nessa população tão susceptível.

5.3 Considerações sobre as técnicas SBA e ELISA

Conforme já citado, é descrito em estudos anteriores com as vacinas polissacarídicas e conjugadas para meningococo, a possibilidade de incompatibilidades nos resultados de ELISA e SBA, sendo muitas vezes limitada a extrapolação das medidas de concentração de anticorpo anticapsular no soro para predizer a capacidade bactericida destes, e consequentemente, definir a proteção do indivíduo⁸⁴⁻⁸⁸.

Correlação positiva entre as técnicas de ELISA e SBA foi observada para os pacientes infectados pelo HIV, com coeficientes de correlação positivos e significativos, tanto na fase pré-vacinal quanto na pós-vacinal ($r=0.62$; $p=0.006$ pré-vacinal; $r=0.62$; $p<0.001$ pós-vacinal). Relação positiva também foi encontrada no grupo de pacientes revacinados ($r=0.84$; $p=0.019$), com coeficiente de correlação superior aos encontrados nas fases anteriores. Para os pacientes não infectados pelo HIV não foi encontrada correlação significativa entre as técnicas. No entanto, quando excluimos os pacientes que receberam vacina meningocócica polissacarídica prévia e avaliamos o grupo restante ($n=45$), obtivemos uma relação significativa ($r=0,38$; $p=0,012$). Estudos anteriores mostraram a possibilidade de hiporesponsividade à vacina meningocócica C conjugada em pacientes previamente vacinados com vacinas meningocócicas polissacarídicas^{100,101}. Esse fato pode ter exercido alguma interferência nos resultados encontrados da correlação entre as técnicas.

Hiporesponsividade é a inability do indivíduo de sustentar ou apresentar resposta imune adequada após repetidas vacinações. Os mecanismos envolvidos na hiporesponsividade ainda são desconhecidos, sendo aventada algumas hipóteses como depleção do pool de células B de memória, “fadiga” ou hiporesponsividade das mesmas, desregulação nas células dendríticas (alteração observada *in vitro*) previamente expostas ao polissacáride com indução de produção da IL-10, uma citocina imunossupressiva e diminuição da produção da IL-12, uma citocina imunoestimulatória, com prejuízo final na resposta imunológica. A

repercussão clínica dessa hiporesponsividade, também, ainda não foi determinada¹⁰¹.

Todos os estudos previamente realizados avaliaram apenas populações saudáveis, sem haver avaliações prévias da correlação das técnicas de ELISA e SBA em populações em situação de imunodepressão. Esses estudos mostram resultados conflitantes com prevalência do encontro de correlações aceitáveis do ponto de vista estatístico em alguns deles. Observa-se nas descrições anteriores que correlações melhores são encontradas em adultos do que em crianças^{84,86,102}. Além da idade, fatores como a falta de quantificação dos anticorpos da classe IgM pelo ELISA e a distribuição das subclasses de IgG, podem influenciar o resultado das correlações^{84,85,103}.

A variabilidade dos resultados pode, também, ser explicada pela escolha da técnica de ELISA empregada, mensurando anticorpos de diferentes avides. Anticorpos de alta avides são mais ativos do que os de baixa avides na obtenção da atividade bactericida complemento-mediada e opsonização; acredita-se, porém, que anticorpos de baixa avides quando em concentrações adequadas, devem conferir boa correlação com a bacteriólise ativada pelo complemento ou com a opsonização, mensuradas pela SBA. Alguns estudos, utilizaram técnica de ELISA modificado, que tem uma capacidade maior de detecção de anticorpos de alta avides, melhorando as correlações^{85,87,88}. Nosso estudo aplicou o ELISA standard nas amostras, detectando predominantemente anticorpos de baixa avides. Novos estudos poderiam ser realizados em pacientes infectados pelo HIV com a utilização de ELISA modificado.

Fatores imunológicos específicos relacionados à infecção pelo HIV podem ter influenciado nas melhores correlações encontradas em relação à população saudável. Apesar da magnitude das respostas de ELISA e SBA nos pacientes infectados pelo HIV ter sido bem inferior a dos pacientes não infectados, as correlações foram melhores. A avides dos anticorpos parece ser prejudicada pela infecção pelo HIV. Pesquisa anterior observou que

avidez de anticorpos contra o sarampo mostrou-se bem diminuída, tanto após a vacinação, quanto após a infecção natural em crianças infectadas pelo HIV comparadas com crianças não infectadas³². Outros estudos mostram que pacientes infectados pelo HIV, com longos períodos de infecção e tratamento, apresentam predominância de anticorpos anti-HIV de baixa avidez¹⁰⁴. Hipóteses para essa alteração de avidez são aventadas, como a destruição de plasmócitos e células B de memória, a disfunção da diferenciação terminal das células B, entre outras, porém nenhuma delas com confirmação realizada³². Não há estudos prévios determinando se os anticorpos anti-meningococo apresentados por eles são predominantemente de alta ou baixa avidez. Caso fossem também, predominantemente de baixa avidez, esse fato poderia explicar a melhor performance do ELISA standard nesse grupo específico na correlação com a proteção.

As correlações encontradas sugerem que na população infectada pelo HIV, a extrapolação das medidas de concentração de anticorpo anti-meningococo dosados pelo ELISA no soro para predizer o potencial bactericida, e conseqüentemente, definir a proteção do indivíduo poderia ser possível. Esses dados sugerem confiabilidade do ELISA na avaliação da resposta vacinal dos pacientes infectados pelo HIV, podendo-se considerar essa técnica como uma possibilidade para avaliação de tal resposta neste grupo específico em estudos futuros. Até a atualidade, ela ainda não poderia ser adotada como uma substituta do *gold standard* SBA, outros estudos ainda são necessários.

Tecnicamente, o SBA mostra-se muito mais complexo na sua padronização e execução quando comparado com o ELISA^{85,89}.

A técnica *gold standard* para avaliação da atividade bactericida dos anticorpos anti-meningocócicos, SBA, apresenta vários detalhes e particularidades durante sua realização, que podem trazer em algumas circunstâncias, limitações técnicas importantes além da dificuldade de reprodutibilidade do teste em diferentes laboratórios. Alguns pontos críticos da técnica são a escolha da cepa bacteriana utilizada (considerando-se

suas particularidades de cultivo e crescimento), a escolha das diluições iniciais ideais dos soros e controles, a necessidade de inativação dos soros testes e das alíquotas de complemento, a necessidade de leitura manual preferencialmente em microscópio invertido das colônias formadas demandando tempo o que limita o volume de trabalho, entre outros pontos. Além da complexidade técnica do SBA, o teste envolve o meningococo, agente extremamente infeccioso, com manuseio da própria cepa, devendo-se sempre considerar o risco inerente para equipe do laboratório durante a realização do teste.

O ELISA em contrapartida, tem procedimentos mais simplificados de padronização e realização, sendo considerado de menor risco para equipe, além de ser mais facilmente reprodutível. São altamente precisos, com elevada sensibilidade e especificidade, porém, a principal desvantagem deste método é a limitação na detecção de variedades antigênicas. Além disso, por ser uma reação enzimática, mesmo pequenas quantidades de uma ligação não específica do anticorpo primário ou secundário podem gerar resultados falso-positivos ou falso-negativos. Portanto, ao se relacionar a concentração de anticorpos com a sua capacidade bactericida, podem ocorrer resultados incompatíveis, já que as amostras analisadas podem carrear interferentes que apresentarão resultados diferentes ao se comparar os métodos.

A caracterização da correlação entre as técnicas, além do conhecimento das particularidades e dificuldades técnicas que as envolvem, são importantes para compreendermos a real significância da concentração de anticorpos antígeno-específico relacionados à vacina meningocócica conjugada do grupo C com relação a sua performance de proteção contra a doença meningocócica, neste grupo mais vulnerável que são os pacientes com Aids.

5.4 Considerações sobre as características do grupo HIV e resposta vacinal

Não foram encontradas correlações da grande maioria das características clínicas, virológicas ou imunológicas (CD4) dos pacientes infectados pelo HIV com a resposta de anticorpos, ou seja, ambos os grupos respondedores e não respondedores à vacina, ou mesmo respondedores a uma ou duas doses da vacina, apresentavam o mesmo perfil: classificação B e C do CDC, CD4 absoluto acima de 350 células/mm³ e percentual acima de 25% e cargas virais abaixo do limite de detecção em grande parte dos casos. Correlações foram encontradas com a idade, sendo que os mais jovens mostraram possibilidades melhores de resposta, com o número de esquemas antirretrovirais previamente utilizados, mostrando que indivíduos menos experimentados têm maior possibilidade de resposta vacinal e naqueles que não estavam com cargas virais indetectáveis, no momento da vacinação, quanto menores as cargas apresentadas melhores as chances de resposta. Outras correlações não foram detectadas, inviabilizando a identificação precoce mais exata de quem seriam os pacientes mais prováveis de uma boa ou má resposta vacinal à vacina contra o meningococo C conjugada. O grupo A apresentava desde a sua inclusão, características muito semelhantes, não tendo sido calculada a amostra para verificar associações entre essas variáveis, o que não nos permitiu identificar um grupo com características potenciais preditoras de uma pior resposta vacinal, sendo considerada essa outra limitação do estudo.

No estudo já descrito de Siberry et al, avaliando-se a vacina meningocócica quadrivalente conjugada em pacientes adolescentes infectados pelo HIV, foi encontrada correlações entre baixos níveis de CD4, altos níveis de carga viral e classificação clínica-imunológica B/C com piores respostas vacinais ao sorogrupo C⁶⁹. Essa correlação não foi possível em nosso estudo, devido ao menor número de participantes (92 participantes em nossa pesquisa vs 319 no estudo com a vacina quadrivalente), além de termos utilizados critérios de inclusão mais rígidos, incluindo-se apenas

pacientes com níveis de CD4 superior a 100 células/mm³, o que também não ocorreu na pesquisa em questão.

Estudos previamente realizados com vacinas não meningocócicas mostram fortes evidências da relação da resposta vacinal com o nadir de CD4 prévio do paciente. Pacientes que apresentam supressão da replicação viral por tempo prolongado, com normalização numérica do CD4 circulante, podem apresentar reconstituição funcional imune incompleta, principalmente aqueles que iniciaram HAART em estágios mais avançados da infecção pelo HIV. A reconstituição funcional imune completa é progressivamente menos provável quanto menor tiver sido o nadir de CD4 do paciente, sendo, portanto, o atraso na introdução da HAART um forte fator de risco para a não recuperação funcional do CD4, podendo isso ser demonstrado *in vivo* através de uma pior resposta vacinal a vários imunobiológicos¹⁰⁵.

A reconstituição imune após introdução da HAART é bem mais rápida em crianças menores quando comparada com crianças mais velhas e adultos. Isso é demonstrado em várias pesquisas que analisam a função tímica através das TRECs (T-cell receptor excision circle), mostrando que essa função tem papel fundamental no processo de reconstituição imune e que a função tímica é inversamente relacionada à idade, ou seja, quanto menor a idade, maior a sua importância. Em crianças infectadas pelo HIV já foi demonstrado menores taxas de TRECs, a despeito de taxas ascendentes de CD4 após HAART^{31,32}. Por conta disso a OMS e o Ministério da Saúde do Brasil, recomendam atualmente a introdução precoce do tratamento antirretroviral, visando à preservação da função tímica e, portanto, uma melhor resposta ou recuperação imunológica não apenas numérica, mas também funcional.

Foi observado no presente estudo uma tendência dos pacientes que mais precocemente receberam a medicação antirretroviral, apresentarem melhores respostas vacinais. 100% dos pacientes cujo início dos ARVs foi anterior aos 12 meses foram respondedores à vacina, reafirmando o que os estudos previamente descritos com outros imunobiológicos mostraram, que

a reconstituição imune torna-se muito menor resultando em piores respostas vacinais quanto mais tardiamente for introduzido o ARV. Outra sugestão possível frente aos resultados encontrados, foi a de que mesmo a introdução do ARV sendo precoce, a boa adesão ao tratamento é um parâmetro fundamental para a melhor reconstituição imunológica; dos 9 pacientes que introduziram ARV entre 12 a 24 meses de idade, 4 foram não respondedores à vacina, porém, destes, 3 eram considerados pelos médicos que os assistiam, como não aderentes ao tratamento, o que pôde ser comprovado pela observação de replicação viral constante em todos os anos de seguimento destes pacientes, independente dos esquemas ARV utilizados. A má adesão repercute em piora reconstituição imune, possibilitando piores respostas vacinais.

Não foi possível no estudo estabelecer a correlação do nadir do CD4 com a resposta vacinal, possivelmente pelo fato da amostra não ter sido calculada com esse propósito.

5.5 Considerações sobre eventos adversos

Estudos clínicos pré e pós-licenciamento da vacina meningocócica mostraram bom perfil de segurança e tolerabilidade. Reações leves e locais (dor, rubor, edema, endurecimento no local da aplicação) mostram-se comuns ($\geq 1\%$ e $< 10\%$) em todos os grupos etários, habitualmente sem significância clínica. Febre baixa também se mostra comum, geralmente menor de 39°C . Os eventos adversos tem duração média de 3 a 6 dias, sendo a grande maioria autolimitada com desaparecimento espontâneo. Em adolescentes e adultos os eventos adversos mais comumente observados, além dos já descritos, são cefaleia, indisposição, náuseas, mialgias e artralgias^{106,107}.

Observou-se diferença estatisticamente significativa no aparecimento de eventos adversos à vacinação entre os grupos, com prevalência maior destes dentre os não infectados pelo HIV. Nenhum evento adverso sério foi observado em ambos os grupos, mostrando-se ser a vacina, bastante

segura. Os pacientes do grupo A, por possuírem doença de base (infecção pelo HIV), são indivíduos submetidos com frequência elevada a procedimentos médicos, como coletas de exames e mesmo vacinações. Por conta disso, talvez exista tolerância maior destes a situações como dor, mialgia, entre outros, não sendo descritos por eles alterações desse tipo como eventos adversos significativos, podendo ser essa uma das explicações da situação encontrada. Não existem descrições prévias de alterações imunológicas que justifiquem a menor possibilidade de eventos adversos dentro do grupo HIV.

O estudo previamente descrito, de Siberry et al com a vacina meningocócica quadrivalente conjugada avaliou além da imunogenicidade, a segurança do imunobiológico, mostrando que os eventos adversos locais neste grupo também se mostraram menos comuns e mais leves do que os descritos com a mesma vacina em adolescentes saudáveis⁶⁹. Estudos realizados com outras vacinas, como H1N1, HPV, pneumococo conjugada entre outras, também não mostram maiores incidências de eventos adversos entre os pacientes infectados pelo HIV.

Não houve elevação da incidência de efeitos adversos à vacina no grupo de pacientes revacinados, mostrando-se a vacina também ser segura nesta situação.

6. CONCLUSÃO

Conclui-se que a vacina meningocócica conjugada contra o sorogrupo C é efetiva e segura nos pacientes pediátricos infectados pelo HIV, apesar da resposta de anticorpos alcançada ter sido inferior àquela obtida na população normal. Observou-se relação da resposta vacinal com a idade, número de esquemas antirretrovirais previamente utilizados e carga viral prévia à vacinação. Pacientes de menor idade, com menor número de esquemas antirretrovirais prévios e com baixas cargas virais previamente a vacinação apresentaram melhores respostas vacinais.

O conhecimento da diferença significativa desta resposta pode sugerir a necessidade de discussão de novos esquemas vacinais para esse grupo de pacientes com essa vacina, com a introdução de uma segunda dose rotineiramente, assegurando-se assim uma proteção mais efetiva contra doença meningocócica nos pacientes pediátricos e adolescentes infectados pelo vírus HIV.

7. COMENTÁRIOS FINAIS

Os grandes ganhos obtidos com a pesquisa foram:

→ o conhecimento da diferença significativa da resposta vacinal à vacina meningocócica conjugada contra o meningococo C entre os pacientes HIV e a população saudável, podendo colaborar para elaboração de novos esquemas vacinais ou reforçar as alterações sugeridas nestes para esse grupo específico.

→ a padronização em um laboratório de referência no Brasil (Laboratório de Bacteriologia – LIM 54 – Instituto de Medicina Tropical da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo) das técnicas laboratoriais adotadas, Ação Bactericida no Soro e Elisa para meningococo C, o que possibilita a utilização de tais exames em futuros projetos de pesquisa.

Como já descrito, a partir de 2011 nos EUA e no último semestre no Brasil, foi alterado o calendário vacinal sugerido para as crianças e adolescentes infectados pelo HIV, adotando-se o uso de duas doses no esquema primário, quando iniciado após o primeiro ano de vida, com a introdução de dose de reforço 5 anos após a última aplicação. Novos estudos ainda serão muito úteis e importantes neste grupo, com avaliação principalmente da memória imunológica nos infectados pelo HIV, que se mostra de maneira geral bem comprometida levando a perda de proteção com o evoluir dos anos da administração dos imunobiológicos. Não existem avaliações prévias especificamente da memória imunológica à vacina meningocócica conjugada para o sorogrupo C nesta população específica. Um estudo detalhado do intervalo entre o esquema primário e o reforço seriam de grande valia para determinação do momento ideal de revacinação, garantindo-se de forma mais efetiva a proteção desejada e sustentada contra a doença meningocócica. O esquema ideal entre os

infectados pelo HIV ainda é incerto. A avaliação da ampliação da proteção para outros sorotipos, especialmente o B, com as novas vacinas em estudo, também seriam bastante desejáveis.

Enfim, o universo da interface entre HIV e doença meningocócica é bastante amplo e muito ainda há para ser desvendado.

ANEXOS**Anexo 1: Formulário Grupo A****INSTRUMENTO A SER PREENCHIDO DURANTE AS AVALIAÇÕES DOS
PACIENTES****Imunogenicidade da vacina meningocócica conjugada do grupo C em
adolescentes e adultos jovens com aids****GRUPO A**

Data: _____

Caso CRT () Caso ICr () N°: _____

Nome: _____

RG: _____

Data de Nascimento: _____

Idade: _____

Nome do responsável: _____

Endereço: _____

Telefone: _____ Email: _____

Classificação da Aids CDC: N1 () N2 () N3 ()

A1 () A2 () A3 ()

B1 () B2 () B3 ()

C1 () C2 () C3 ()

CD4 no momento da vacinação: _____

Carga Viral no momento da vacinação: _____

Falha terapêutica no momento da vacinação: () clínica

() imunológica

() virológica

Uso de antibióticos no momento das coletas () Sim () Não

Uso de rifampicina no momento das coletas () Sim () Não

Dislipidemia: () Sim () Não

Sintomático: () Sim () Não

Quais sintomas:

Data da vacinação: _____

Vacina: _____ Lote: _____

Efeitos colaterais à vacina: () eritema () enduração

() dor () febre

() cefaleia () sonolência

() insônia () vômito

() náusea () diarreia

() perda de apetite

() mialgia () alt renais

() anafilaxia () irritabilidade

() outros _____

() nega

Melhora espontânea dos efeitos colaterais: () Sim () Não () não se aplica

Duração do efeito colateral: () < 1 dia () 1 dia () 2 dias

() 3 dias () 4 dias () 5 dias

() > 5 dias () não se aplica

Vacinação meningococo A+C previa: () Sim () Não quando: _____

Vacinação meningococo B+C previa: () Sim () Não

Quando: _____

Dosagem de anticorpos anti-meningococo C (Elisa):

Pré-vacina: _____

Pós-vacina: _____

SBA:

Pré-vacina: _____

Pós-vacina: _____

Paciente considerado com resposta de anticorpos adequada à vacina conjugada contra o meningococo C: () Sim () Não

Necessitou da 2º dose da vacina: () Sim () Não

Data da 2º dose da vacina: _____

Vacina: _____ Lote: _____

Dosagem de anticorpos anti-meningococo C (Elisa):

Pós 2º dose de vacina: _____

SBA:

Pós 2º dose de vacina: _____

Paciente considerado com resposta de anticorpos adequada à vacina conjugada contra o meningococo C após segunda dose aplicada:

() Sim () Não

Observações: _____

Anexo 2: Formulário Grupo B**INSTRUMENTO A SER PREENCHIDO DURANTE AS AVALIAÇÕES DOS
PACIENTES****Imunogenicidade da vacina meningocócica conjugada do grupo C em
adolescentes e adultos jovens com aids****GRUPO B**

Data: _____

Caso CRT () Caso ICr () N°: _____

Nome: _____

RG: _____

Data de Nascimento: _____

Idade: _____

Nome do responsável: _____

Endereço: _____

Telefone: _____ Email: _____

Doença de base: () Sim () Não Qual: _____

Uso de medicações imunossupressoras: () Sim () Não Qual:

Uso de antibióticos no momento das coletas () Sim () Não

Uso de rifampicina no momento das coletas () Sim () Não

Dislipidemia: () Sim () Não

Sintomático: () Sim () Não

Quais sintomas:

Data da vacinação: _____

Vacina: _____ Lote: _____

Efeitos colaterais à vacina: ☐ eritema ☐ enduração

☐ dor ☐ febre

☐ cefaleia ☐ sonolência

☐ insônia ☐ vômito

☐ náusea ☐ diarreia

☐ perda de apetite

☐ mialgia ☐ alt renais

☐ anafilaxia ☐ irritabilidade

☐ outros _____

☐ nega

Melhora espontânea dos efeitos colaterais: ☐ Sim ☐ Não

☐ não se aplica

Duração do efeito colateral: ☐ < 1 dia ☐ 1 dia ☐ 2 dias

☐ 3 dias ☐ 4 dias ☐ 5 dias

☐ > 5 dias ☐ não se aplica

Vacinação meningococo A+C previa: ☐ Sim ☐ Não quando: _____

Vacinação meningococo B+C previa: ☐ Sim ☐ Não

Quando: _____

Dosagem de anticorpos anti-meningococo C (Elisa):

Pré-vacina: _____

Pós-vacina: _____

SBA:

Pré-vacina: _____

Pós-vacina: _____

Paciente considerado com resposta de anticorpos adequada à vacina conjugada contra o meningococo C: ☐ Sim ☐ Não

Necessitou da 2º dose da vacina: ☐ Sim ☐ Não

Data da 2º dose da vacina: _____

Vacina: _____ Lote: _____

Dosagem de anticorpos anti-meningococo C (Elisa):

Pós 2º dose de vacina: _____

SBA:

Pós 2º dose de vacina: _____

Paciente considerado com resposta de anticorpos adequada à vacina conjugada contra o meningococo C após segunda dose aplicada:

() Sim () Não

Observações: _____

Média CV: _____

Mediana carga viral: _____

Valor mínimo CV: _____

Valor máximo CV: _____

Média CD4: _____

Mediana CD4: _____

Valor mínimo CD4: _____

Valor máximo CD4: _____

Nadir de CD4: _____

Doença definidora de aids anterior: () Sim () Não

Se Sim, quais:

Respondedor a 1º dose: () Sim () Não

Respondedor limítrofe: () respondedor normal () respondedor limítrofe () não se aplica

CV pré 1º dose: _____ CV pós 1º dose: _____

CV pré 2º dose: _____ CV pós 2º dose: _____

CD4 pré 1º dose: _____ CD4 pós 1º dose: _____

CD4 pré 2º dose: _____ CD4 pós 2º dose: _____

Respondedor a 2º dose: () Sim () Não

Respondedor limítrofe: () respondedor normal () respondedor limítrofe () não se aplica

Anexo 4: Termo de Aprovação da Comissão de Ética do Centro de Referência e Treinamento em DST/Aids

SECRETARIA DE ESTADO DA SAÚDE
Coordenadoria de Controle de Doenças
Centro de Referência e Treinamento DST/Aids
 Rua Santa Cruz, 81 - Vila Mariana - São Paulo - SP
 CEP 04121-000 - Fone: 5087-9911

São Paulo, 25 de Novembro de 2008.

Ofício CRT-DST/AIDS – CEP n.º 180/2008.

Ref : Ofício HD CRT-DST/AIDS n.º 049/2008

PROTOCOLO CEP n.º 026/2008: "Avaliação da Resposta de Anticorpos à Vacina Meningocócica Conjugada do Grupo C em Pacientes Pediátricos com Aids".
PARECER: APROVADO

Prezada Investigadora,

Após a análise dos referidos documentos pelos membros deste Comitê, em reunião extraordinária do dia 24/nov/2008, foi emitido parecer: **APROVADO**.

- Protocolo – 1ª Versão - datada de 14/out/2008
- Termos de Consentimento Livre e Esclarecido – 2ª Versão Local – datados de 13/nov/2008:
 - Grupo CASO – Para Responsáveis por Crianças e Adolescentes.
 - Grupo CONTROLE - Para Responsáveis por Crianças e Adolescentes.
 - Grupo CASO – Para Jovens a partir de 18 anos.
 - Grupo CONTROLE – Para Jovens a partir de 18 anos.

Solicitamos que nos seja enviado, com periodicidade de seis meses a contar desta data, um comunicado sucinto sobre o andamento do Projeto.

Colocamo-nos à disposição para qualquer esclarecimento.

Atenciosamente,

 Eduardo Ronner Lagonegro
 Coordenador do Comitê de Ética em Pesquisa
 CRT-DST/AIDS

Ilma. Srª
 Drª. Daniela Vinhas Bertolini
 Investigador Principal

Comitê de Ética em Pesquisa - CEP
 Fone/Fax: 5087-9837
 e-mail: cep@crt-saude.sp.gov.br

Anexo 5: Termo de Aprovação da Comissão de Ética do Instituto da Criança - HCFMUSP

APROVAÇÃO

A Comissão de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa - CAPPesq da Diretoria Clínica do Hospital das Clínicas e da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, em sessão de 06/05/2009, **APROVOU** o Protocolo de Pesquisa nº **0344/09**, intitulado: "**AVALIAÇÃO DA RESPOSTA DE ANTICORPOS À VACINA MENINGOCÓCICA CONJUGADA DO GRUPO C EM PACIENTES PEDIÁTRICOS COM AIDS**" apresentado pelo Departamento de **PEDIATRIA**, inclusive o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

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

Pesquisador (a) Responsável: **Dra. Heloisa Helena de Sousa Marques**

Pesquisador (a) Executante: **Dra. Daniela Vinhas Bertolini**

CAPPesq, 07 de Maio de 2009

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

Anexo 6: Termos de Consentimento dos Grupos A e B

CENTRO DE REFERÊNCIA E TREINAMENTO EM DST/AIDS – PROGRAMA ESTADUAL DST/AIDS – SÃO PAULO

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO DO GRUPO A – PARA JOVENS A PARTIR DE 18 ANOS

Titulo do protocolo de pesquisa: Avaliação da resposta de anticorpos à vacina meningocócica conjugada do grupo C em pacientes pediátricos com aids

Duração da pesquisa: aproximadamente 4 meses após o início da inclusão.

Registro da explicações do pesquisador ao paciente e/ou representante legal sobre a pesquisa.

Justificativa e objetivos da pesquisa:

Você está sendo convidado a participar desse projeto de pesquisa que tem como objetivo avaliar a resposta de anticorpos à vacina meningocócica conjugada do grupo C em pacientes pediátricos com aids. A vacina do meningococo C é indicada pelo Ministério da Saúde para todos os pacientes com HIV e destina-se à proteção contra a doença meningocócica pelo sorogrupo C, patologia com alta morbidade além de alta taxa de mortalidade.

As vacinas são um dos pilares do tratamento do HIV, já que consegue evitar doenças que podem ocorrer como intercorrências da aids (complicações infecciosas). Sabemos que algumas vacinas não tem a mesma eficácia nos pacientes com HIV quando comparadas com os pacientes sem HIV. A vacina contra o meningococo C é muito eficaz nos pacientes não infectados (acima de 95% de eficácia), porém nos pacientes com HIV essa eficácia não é conhecida. O estudo visa esclarecer essa questão.

Este estudo será desenvolvido em centros do Estado de São Paulo especializados no atendimento de portadores de HIV/aids e crianças e adolescentes deverão ser avaliados.

Procedimentos que serão utilizados e propósitos:

Durante a consulta de rotina, você será atendido pelo médico do serviço que foi designado para este estudo. Todas as informações necessárias serão retiradas de seu prontuário e algumas perguntas serão feitas. Será coletada amostra de sangue (10ml), para exames laboratoriais que avaliam a quantidade de anticorpos contra o meningococo C que você já possui. Todos estes procedimentos serão feitos durante a consulta e coleta de rotina agendada no serviço (caso haja necessidade de alguma vinda ao serviço fora da sua consulta e coleta de rotina, os pesquisadores prevêem o ressarcimento das despesas de transporte e alimentação do paciente). Imediatamente após a coleta você receberá uma dose da vacina contra o meningococo C. Após 30 dias da vacina, uma nova coleta de sangue (10ml) será necessária para repetir a dosagem de anticorpos e dessa forma realmente estabelecer qual foi a resposta de anticorpos obtida, determinando se você está efetivamente protegido contra doença meningocócica. Caso essa proteção não tenha sido obtida, uma nova dose de vacina será oferecida, com nova coleta de sangue (10ml), 30 dias após, com a mesma finalidade da anterior.

Desconfortos e riscos esperados:

Os riscos relacionados a coleta de sangue são mínimos, podendo variar de dor a picada, formação de hematoma (mancha roxa) local ou reação emocional.

Com relação à vacina, os efeitos colaterais possíveis são reações locais, como eritema (mancha avermelhada no local da injeção), enduração, dor, raramente podendo apresentar febre e irritabilidade. Em raríssimos casos descritos podem ocorrer manifestações alérgicas mais graves, como anafilaxia.

Benefícios que poderão ser obtidos:

O benefício direto do estudo é o fato de que teremos o conhecimento da resposta de anticorpos da vacina contra o meningococo C nos pacientes com HIV, sendo praticamente um marcador de sua eficácia. Os demais portadores do HIV poderão ter benefícios resultantes dos dados obtidos com esse estudo. Com esse conhecimento poderemos ter maior segurança de que com o uso da vacina você realmente estará protegido contra a doença meningocócica pelo meningococo C, caso se confirme que a produção de anticorpos foi efetiva.

Esclarecimentos dados pelo pesquisador sobre as garantias do sujeito da pesquisa:

Você terá acesso, a qualquer tempo, às informações sobre procedimentos, riscos e benefícios relacionados a pesquisa, inclusive para esclarecer quaisquer dúvidas. Poderá retirar seu consentimento a qualquer momento e deixar de participar do estudo, sem qualquer prejuízo a continuidade de seu tratamento. Todos os procedimentos realizados e informações obtidas durante o estudo serão confidenciais e mantidas em sigilo, em hipótese alguma você terá a identidade divulgada para outras pessoas ou entidades, incluindo tornar público apenas os resultados da pesquisa.

O pesquisador assume o compromisso de utilizar os dados e o material coletado somente para esta pesquisa.

Informações para contato em caso de intercorrências clínicas e reações adversas:

Haverá disponibilidade de assistência no Centro de Referência e Treinamento em DST/Aids, ou serviço determinado pela instituição, para eventuais danos a saúde, decorrentes deste estudo.

Caso você tenha alguma intercorrência, fora do seu período de visita no serviço que você faz acompanhamento, poderá entrar em contato com os pesquisador principal, Dra. Daniela Vinhas Bertolini pelo telefone (11) 5087-9877 ou no endereço Rua Santa Cruz, 81 - 2º andar.

Se você tiver dúvidas sobre seus direitos como paciente deste estudo, você poderá entrar em contato com o Coordenador do Comitê de Ética em Pesquisa, Dr. Eduardo Ronner Lagonegro pelo telefone (11) 5087-9837.

Consentimento pós esclarecido

Eu tive tempo de ler e pensar sobre todas as informações contidas neste termo de consentimento antes de participar do estudo. Considero que minha participação é voluntária e a recusa em participar deste estudo não envolverá nenhuma punição, nem perda de benefícios. Compreendo que posso retirar meu consentimento e interromper a participação a qualquer momento sem punição e sem prejuízo de tratamento médico futuro ou alternativo nesta instituição e o que meu médico(a) considerar ser de meu interesse, podendo encerrar minha participação a qualquer momento.

Nome por extenso do paciente

Data

Assinatura

Nome por extenso da testemunha

Data

Assinatura

Nome por extenso do investigador

Data

Assinatura

**CENTRO DE REFERÊNCIA E TREINAMENTO EM DST/AIDS – PROGRAMA ESTADUAL
DST/AIDS – SÃO PAULO**

**TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO DO GRUPO A - PARA
RESPONSÁVEIS POR CRIANÇAS E ADOLESCENTES.**

Título do protocolo de pesquisa: Avaliação da resposta de anticorpos à vacina meningocócica conjugada do grupo C em pacientes pediátricos com aids

Duração da pesquisa: aproximadamente 4 meses após o início da inclusão.

Registro da explicações do pesquisador ao paciente e/ou representante legal sobre a pesquisa.

Justificativa e objetivos da pesquisa:

Seu filho(a) está sendo convidado a participar desse projeto de pesquisa que tem como objetivo avaliar a resposta de anticorpos à vacina meningocócica conjugada do grupo C em pacientes pediátricos com aids. A vacina do meningococo C é indicada pelo Ministério da Saúde para todos os pacientes com HIV e destina-se à proteção contra a doença meningocócica pelo sorogrupo C, patologia com alta morbidade além de alta taxa de mortalidade.

As vacinas são um dos pilares do tratamento do HIV, já que consegue evitar doenças que podem ocorrer como intercorrências da aids (complicações infecciosas). Sabemos que algumas vacinas não tem a mesma eficácia nos pacientes com HIV quando comparadas com os pacientes sem HIV. A vacina contra o meningococo C é muito eficaz nos pacientes não infectados (acima de 95% de eficácia), porém nos pacientes com HIV essa eficácia não é conhecida. O estudo visa esclarecer essa questão.

Este estudo será desenvolvido em centros do Estado de São Paulo especializados no atendimento de portadores de HIV/aids e crianças e adolescentes deverão ser avaliados.

Procedimentos que serão utilizados e propósitos:

Durante a consulta de rotina, seu filho(a) será atendido pelo médico do serviço que foi designado para este estudo. Todas as informações necessárias serão retiradas de seu prontuário e algumas perguntas serão feitas. Será coletada amostra de sangue (10ml), para exames laboratoriais que avaliam a quantidade de anticorpos contra o meningococo C que seu filho(a) já possui. Todos estes procedimentos serão feitos durante a consulta e coleta de rotina agendada no serviço (caso haja necessidade de alguma vinda ao serviço fora da sua consulta e coleta de rotina, os pesquisadores prevêm o ressarcimento das despesas de transporte e alimentação do paciente e seu responsável). Imediatamente após a coleta, seu filho(a) receberá uma dose da vacina contra o meningococo C. Após 30 dias da vacina, uma nova coleta de sangue (10ml) será necessária para repetir a dosagem de anticorpos e dessa forma realmente estabelecer qual foi a resposta de anticorpos obtida, determinando se seu filho(a) está efetivamente protegido contra doença meningocócica. Caso essa proteção não tenha sido obtida, uma nova dose de vacina será oferecida, com nova coleta de sangue (10ml), 30 dias após, com a mesma finalidade da anterior.

Desconfortos e riscos esperados:

Os riscos relacionados a coleta de sangue são mínimos, podendo variar de dor a picada, formação de hematoma (mancha roxa) local ou reação emocional.

Com relação à vacina, os efeitos colaterais possíveis são reações locais, como eritema (mancha avermelhada no local da injeção), enduração, dor, raramente podendo apresentar febre e irritabilidade. Em raríssimos casos descritos podem ocorrer manifestações alérgicas mais graves, como anafilaxia.

Benefícios que poderão ser obtidos:

O benefício direto do estudo é o fato de que teremos o conhecimento da resposta de anticorpos da vacina contra o meningococo C nos pacientes com HIV, sendo praticamente um marcador de sua eficácia. Os demais portadores do HIV poderão ter benefícios resultantes dos dados obtidos com esse estudo. Com esse conhecimento poderemos ter maior segurança de que com o uso da vacina seu filho(a) realmente estará protegido contra a doença meningocócica pelo meningococo C, caso se confirme que a produção de anticorpos foi efetiva.

Esclarecimentos dados pelo pesquisador sobre as garantias do sujeito da pesquisa:

Você e seu filho(a) terá acesso, a qualquer tempo, às informações sobre procedimentos, riscos e benefícios relacionados a pesquisa, inclusive para esclarecer quaisquer dúvidas. Poderá retirar o consentimento a qualquer momento e deixar de participar do estudo, sem qualquer prejuízo a continuidade de seu tratamento. Todos os procedimentos realizados e informações obtidas durante o estudo serão confidenciais e mantidas em sigilo, em hipótese alguma você terá a identidade divulgada para outras pessoas ou entidades, podendo tornar público apenas os resultados da pesquisa.

O pesquisador assume o compromisso de utilizar os dados e o material coletado somente para esta pesquisa.

Informações para contato em caso de intercorrências clínicas e reações adversas:

Haverá disponibilidade de assistência no Centro de Referência e Treinamento em DST/Aids, ou serviço determinado pela instituição, para eventuais danos a saúde, decorrentes deste estudo.

Caso seu filho(a) tenha alguma intercorrência, fora do seu período de visita no serviço que faz acompanhamento, poderão entrar em contato com o pesquisador principal, Dra. Daniela Vinhas Bertolini pelo telefone (11) 5087-9877 ou no endereço Rua Santa Cruz, 81 - 2º andar.

Se você e seu filho(a) tiverem dúvidas sobre seus direitos como paciente deste estudo, poderão entrar em contato com o Coordenador do Comitê de Ética em Pesquisa, Dr. Eduardo Ronner Lagonegro pelo telefone (11) 5087-9837.

Consentimento pós esclarecido

Eu tive tempo de ler e pensar sobre todas as informações contidas neste termo de consentimento antes de participar do estudo. Considero que minha participação ou a do meu filho(a) é voluntária e a recusa em participar deste estudo não envolverá nenhuma punição, nem perda de benefícios. Compreendo que posso retirar o consentimento e interromper a participação a qualquer momento sem punição e sem prejuízo de tratamento médico futuro ou alternativo nesta instituição e o que meu médico(a) considerar ser de meu interesse, podendo encerrar minha participação a qualquer momento.

Nome por extenso dos pais ou responsáveis

Data

Assinatura

Nome por extenso da testemunha

Data

Assinatura

Nome por extenso do investigador

Data

Assinatura

**CENTRO DE REFERÊNCIA E TREINAMENTO EM DST/AIDS – PROGRAMA ESTADUAL
DST/AIDS – SÃO PAULO**

**TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO DO GRUPO B – PARA JOVENS
A PARTIR DE 18 ANOS.**

Título do protocolo de pesquisa: Avaliação da resposta de anticorpos à vacina meningocócica conjugada do grupo C em pacientes pediátricos com aids

Duração da pesquisa: aproximadamente 4 meses após o início da inclusão.

Registro da explicações do pesquisador ao paciente e/ou representante legal sobre a pesquisa.Justificativa e objetivos da pesquisa:

Você está sendo convidado à participar desse projeto de pesquisa que tem como objetivo avaliar a resposta de anticorpos à vacina meningocócica conjugada do grupo C em pacientes pediátricos com aids. A vacina do meningococo C é indicada pelo Ministério da Saúde para todos os pacientes com HIV e destina-se à proteção contra a doença meningocócica pelo sorogrupo C, patologia com alta morbidade além de alta taxa de mortalidade. A vacina também é indicada para pessoas saudáveis pelos Calendários de Vacinação da Sociedade Brasileira de Pediatria e Sociedade Brasileira de Imunizações, porém não é fornecida pelo governo e portanto não está no Calendário de Vacinação do Ministério da Saúde, estando disponível para esse grupo de pacientes apenas em clínicas privadas de vacinação.

As vacinas são um dos pilares do tratamento da pediatria, já que consegue evitar doenças que podem ser bastante graves. Sabemos que algumas vacinas não tem a mesma eficácia nos pacientes com HIV quando comparadas com os pacientes sem HIV. A vacina contra o meningococo C é muito eficaz nos pacientes não infectados (acima de 95% de eficácia), porém nos pacientes com HIV essa eficácia não é conhecida. O estudo visa esclarecer essa questão, sendo necessário para o esclarecimento desta questão a comparação da eficácia entre pacientes com e sem HIV. Você participará deste grupo controle, ou seja, do grupo sem HIV.

Este estudo será desenvolvido em centros do Estado de São Paulo especializados no atendimento de portadores de HIV/aids e crianças e adolescentes deverão ser avaliados.

Procedimentos que serão utilizados e propósitos:

Durante a consulta de rotina, você será atendido pelo médico do serviço que foi designado para este estudo. Todas as informações necessárias serão retiradas de seu prontuário e algumas perguntas serão feitas. Será coletada amostra de sangue (10ml) para exames laboratoriais, que avaliam a quantidade de anticorpos contra o meningococo C que você já possui. Todos estes procedimentos serão feitos durante a consulta de rotina agendada no serviço (caso haja necessidade de alguma vinda ao serviço fora da sua consulta e coleta de rotina, os pesquisadores prevêm o ressarcimento das despesas de transporte e alimentação do paciente). Imediatamente após a coleta você receberá uma dose da vacina contra o meningococo C. Após 30 dias da vacina, uma nova amostra de sangue (10ml) será coletada para repetir a dosagem de anticorpos e dessa forma realmente estabelecer qual foi a resposta de anticorpos obtida, determinando se você está efetivamente protegido contra doença meningocócica. Caso essa proteção não tenha sido obtida, uma nova dose da vacina será oferecida, com nova coleta de sangue (10ml) após 30 dias, com a mesma finalidade da anterior.

Desconfortos e riscos esperados:

Os riscos relacionados a coleta de sangue são mínimos, podendo variar de dor a picada, formação de hematoma (mancha roxa) local ou reação emocional.

Com relação à vacina, os efeitos colaterais possíveis são reações locais, como eritema (mancha avermelhada no local da injeção), enduração, dor, raramente podendo apresentar febre e irritabilidade. Em raríssimos casos descritos podem ocorrer manifestações alérgicas mais graves, como anafilaxia.

Benefícios que poderão ser obtidos:

O benefício direto do estudo é o fato de que teremos o conhecimento da resposta de anticorpos da vacina contra o meningococo C nos pacientes com HIV, sendo praticamente

um marcador de sua eficácia. Os demais portadores do HIV poderão ter benefícios resultantes dos dados obtidos com esse estudo. Com esse conhecimento poderemos ter maior segurança de que com o uso da vacina o paciente com HIV realmente estará protegido contra a doença meningocócica pelo meningococo C, caso se confirme que a produção de anticorpos foi efetiva. Além do benefício para o paciente com HIV, você também garantirá sua proteção para doença meningocócica, já que receberá a vacina.

Esclarecimentos dados pelo pesquisador sobre as garantias do sujeito da pesquisa:

Você terá acesso, a qualquer tempo, as informações sobre procedimentos, riscos e benefícios relacionados a pesquisa, inclusive para esclarecer quaisquer dúvidas. Poderá retirar seu consentimento a qualquer momento e deixar de participar do estudo, sem qualquer prejuízo a continuidade de sua assistência. Todos os procedimentos respeitarão a confidencialidade, sigilo e privacidade. Haverá disponibilidade de assistência no Centro de Referência e Treinamento em DST/Aids, ou serviço determinado pela instituição, para eventuais danos a saúde, decorrentes deste estudo.

Informações para contato em caso de intercorrências clínicas e reações adversas:

Caso você tenha alguma intercorrência fora do seu período de visita no serviço, que você faz acompanhamento, poderá entrar em contato com o pesquisador principal, Dra. Daniela Vinhas Bertolini pelo telefone (11) 5087-9877 ou no endereço Rua Santa Cruz, 81 – 2º andar.

Se você tiver dúvidas sobre seus direitos como paciente deste estudo, você poderá entrar em contato com o Coordenador do Comitê de Ética em Pesquisa, Dr. Eduardo Ronner Lagonegro pelo telefone (11) 5087-9837.

Consentimento pós esclarecido

Eu tive tempo de ler e pensar sobre todas as informações contidas neste termos de consentimento antes de participar do estudo. Considero que a minha participação neste estudo é voluntária e a recusa em participar no estudo não envolverá nenhuma punição, nem perda de benefícios. Também compreendo que posso retirar meu consentimento e interromper a participação a qualquer momento sem punição e sem prejuízo de tratamento médico futuro ou alternativo nesta instituição e o que meu médico(a) considerar ser de meu interesse, podendo encerrar minha participação a qualquer momento.

Nome por extenso do paciente

Data

Assinatura

Nome por extenso da testemunha

Data

Assinatura

Nome por extenso do investigador

Data

Assinatura

**CENTRO DE REFERÊNCIA E TREINAMENTO EM DST/AIDS – PROGRAMA ESTADUAL
DST/AIDS – SÃO PAULO**

**TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO DO GRUPO B – PARA
RESPONSÁVEIS POR CRIANÇAS E ADOLESCENTES.**

Titulo do protocolo de pesquisa: Avaliação da resposta de anticorpos à vacina meningocócica conjugada do grupo C em pacientes pediátricos com aids

Duração da pesquisa: aproximadamente 4 meses após o início da inclusão.

Registro da explicações do pesquisador ao paciente e/ou representante legal sobre a pesquisa.

Justificativa e objetivos da pesquisa:

Seu filho(a) está sendo convidado à participar desse projeto de pesquisa que tem como objetivo avaliar a resposta de anticorpos à vacina meningocócica conjugada do grupo C em pacientes pediátricos com aids. A vacina do meningococo C é indicada pelo Ministério da Saúde para todos os pacientes com HIV e destina-se à proteção contra a doença meningocócica pelo sorogrupo C, patologia com alta morbidade além de alta taxa de mortalidade. A vacina também é indicada para pessoas saudáveis pelos Calendários de Vacinação da Sociedade Brasileira de Pediatria e Sociedade Brasileira de Imunizações, porém não é fornecida pelo governo e portanto não está no Calendário de Vacinação do Ministério da Saúde, estando disponível para esse grupo de pacientes apenas em clínicas privadas de vacinação.

As vacinas são um dos pilares do tratamento da pediatria, já que consegue evitar doenças que podem ser bastante graves. Sabemos que algumas vacinas não tem a mesma eficácia nos pacientes com HIV quando comparadas com os pacientes sem HIV. A vacina contra o meningococo C é muito eficaz nos pacientes não infectados (acima de 95% de eficácia), porém nos pacientes com HIV essa eficácia não é conhecida. O estudo visa esclarecer essa questão, sendo necessário para o esclarecimento desta questão a comparação da eficácia entre pacientes com e sem HIV. Seu filho(a) participará deste grupo controle, ou seja, do grupo sem HIV.

Este estudo será desenvolvido em centros do Estado de São Paulo especializados no atendimento de portadores de HIV/aids e crianças e adolescentes deverão ser avaliados.

Procedimentos que serão utilizados e propósitos:

Durante a consulta de rotina, seu filho(a) será atendido pelo médico do serviço que foi designado para este estudo. Todas as informações necessárias serão retiradas de seu prontuário e algumas perguntas serão feitas. Será coletada amostra de sangue (10ml) para exames laboratoriais, que avaliam a quantidade de anticorpos contra o meningococo C que seu filho(a) já possui. Todos estes procedimentos serão feitos durante a consulta de rotina agendada no serviço (caso haja necessidade de alguma vinda ao serviço fora da sua consulta e coleta de rotina, os pesquisadores prevêem o ressarcimento das despesas de transporte e alimentação do paciente e seu responsável). Imediatamente após a coleta, seu filho(a) receberá uma dose da vacina contra o meningococo C. Após 30 dias da vacina, uma

nova amostra de sangue (10ml) será coletada para repetir a dosagem de anticorpos e dessa forma realmente estabelecer qual foi a resposta de anticorpos obtida, determinando se seu filho(a) está efetivamente protegido contra doença meningocócica. Caso essa proteção não tenha sido obtida, uma nova dose da vacina será oferecida, com nova coleta de sangue (10ml) após 30 dias, com a mesma finalidade da anterior.

Desconfortos e riscos esperados:

Os riscos relacionados a coleta de sangue são mínimos, podendo variar de dor a picada, formação de hematoma (mancha roxa) local ou reação emocional.

Com relação à vacina, os efeitos colaterais possíveis são reações locais, como eritema (mancha avermelhada no local da injeção), enduração, dor, raramente podendo apresentar febre e irritabilidade. Em raríssimos casos descritos podem ocorrer manifestações alérgicas mais graves, como anafilaxia.

Benefícios que poderão ser obtidos:

O benefício direto do estudo é o fato de que teremos o conhecimento da resposta de anticorpos da vacina contra o meningococo C nos pacientes com HIV, sendo praticamente um marcador de sua eficácia. Os demais portadores do HIV poderão ter benefícios resultantes dos dados obtidos com esse estudo. Com esse conhecimento poderemos ter maior segurança de que com o uso da vacina o paciente com HIV realmente estará protegido contra a doença meningocócica pelo meningococo C, caso se confirme que a produção de anticorpos foi efetiva. Além do benefício para o paciente com HIV, seu filho(a) também garantirá sua proteção para doença meningocócica, já que receberá a vacina.

Esclarecimentos dados pelo pesquisador sobre as garantias do sujeito da pesquisa:

Você e seu filho(a) terá acesso, a qualquer tempo, as informações sobre procedimentos, riscos e benefícios relacionados a pesquisa, inclusive para esclarecer quaisquer dúvidas. Poderá retirar o consentimento a qualquer momento e deixar de participar do estudo, sem qualquer prejuízo a continuidade de sua assistência. Todos os procedimentos respeitarão a confidencialidade, sigilo e privacidade. Haverá disponibilidade de assistência no Centro de Referência e Treinamento em DST/Aids, ou serviço determinado pela instituição, para eventuais danos a saúde, decorrentes deste estudo.

Informações para contato em caso de intercorrências clínicas e reações adversas:

Caso seu filho(a) tenha alguma intercorrência fora do seu período de visita no serviço, que ele faz acompanhamento, você poderá entrar em contato com o pesquisador principal, Dra. Daniela Vinhas Bertolini pelo telefone (11) 5087-9877 ou no endereço Rua Santa Cruz, 81 – 2º andar.

Se vocês tiverem dúvidas sobre seus direitos como paciente deste estudo, poderão entrar em contato com o Coordenador do Comitê de Ética em Pesquisa, Dr. Eduardo Ronner Lagonegro pelo telefone (11) 5087-9837.

Consentimento pós esclarecido

Eu tive tempo de ler e pensar sobre todas as informações contidas neste termos de consentimento antes de participar do estudo. Considero que a participação do meu filho(a) neste estudo é voluntária e a recusa em participar no estudo não envolverá nenhuma punição, nem perda de benefícios. Também compreendo que posso retirar o consentimento e interromper a participação a qualquer momento sem punição e sem prejuízo de tratamento médico futuro ou alternativo nesta instituição e o que meu médico(a) considerar ser de meu interesse, podendo encerrar minha participação a qualquer momento.

Nome por extenso dos pais ou responsável

Data

Assinatura

Nome por extenso da testemunha

Data

Assinatura

Nome por extenso do investigador

Data

Assinatura

HOSPITAL DAS CLÍNICAS DA FACULDADE DE MEDICINA DA UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO-HCFMUSP

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO DO GRUPO A – PARA JOVENS A PARTIR DE 18 ANOS

DADOS DE IDENTIFICAÇÃO DO SUJEITO DA PESQUISA OU RESPONSÁVEL LEGAL

1. NOME: :.....

DOCUMENTO DE IDENTIDADE Nº : SEXO : .M ☐ F ☐

DATA NASCIMENTO:/...../.....

ENDEREÇO.....Nº..... APTO:

BAIRRO:..... CIDADE

CEP:.....TELEFONE:DDD(.....).....
.....

2.RESPONSÁVEL LEGAL

NATUREZA(grau de parentesco, tutor, curador etc.)
.....

DOCUMENTO DE IDENTIDADE :.....SEXO: M ☐ F ☐

DATA NASCIMENTO.:/...../.....

ENDEREÇO: Nº APTO:

BAIRRO:.....

CIDADE:

CEP:.....
(.....)

TELEFONE:

DDD

DADOS SOBRE A PESQUISA

1. TÍTULO DO PROTOCOLO DE PESQUISA : Avaliação da resposta de anticorpos à vacina meningocócica conjugada do grupo C em pacientes pediátricos com aids

2. PESQUISADOR : Dra. Heloísa Helena de Sousa Marques e Dra. Daniela Vinhas Bertolini

CARGO/FUNÇÃO: Médicas **INSCRIÇÃO CONSELHO REGIONAL Nº** 27.873 e 85.228

UNIDADE DO HCFMUSP: Instituto da Criança

3. AVALIAÇÃO DO RISCO DA PESQUISA:

RISCO MÍNIMO X RISCO MÉDIO ☐

RISCO BAIXO ☐ RISCO MAIOR ☐

4.DURAÇÃO DA PESQUISA : aproximadamente 4 meses após o início da inclusão

HOSPITAL DAS CLÍNICAS DA FACULDADE DE MEDICINA DA UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO-HCFMUSP

Você está sendo convidado a participar desse projeto de pesquisa que tem como objetivo avaliar a resposta de anticorpos à vacina meningocócica conjugada do grupo C em pacientes pediátricos com aids. A vacina do meningococo C é indicada pelo Ministério da Saúde para todos os pacientes com HIV e destina-se à proteção contra a doença meningocócica pelo sorogrupo C, patologia com alta morbidade além de alta taxa de mortalidade.

Sabemos que algumas vacinas não tem a mesma eficácia nos pacientes com HIV quando comparadas com os pacientes sem HIV. A vacina contra o meningococo C é muito eficaz nos pacientes não infectados (acima de 95% de eficácia), porém nos pacientes com HIV essa eficácia não é conhecida. O estudo visa esclarecer essa questão.

Este estudo será desenvolvido em centros do Estado de São Paulo especializados no atendimento de portadores de HIV/aids e crianças e adolescentes deverão ser avaliados.

Procedimentos que serão utilizados e propósitos:

Durante a consulta de rotina, você será atendido pelo médico do serviço que foi designado para este estudo. Todas as informações necessárias serão retiradas de seu prontuário e algumas perguntas serão feitas. Será coletada amostra de sangue (10ml), para exames laboratoriais que avaliam a quantidade de anticorpos contra o meningococo C que você já possui. Imediatamente após a coleta você receberá uma dose da vacina contra o meningococo C. Após 30 dias da vacina, uma nova coleta de sangue (10ml) será necessária para repetir a dosagem de anticorpos e dessa forma realmente estabelecer qual foi a resposta de anticorpos obtida, determinando se você está efetivamente protegido contra doença meningocócica. Caso essa proteção não tenha sido obtida, uma nova dose de vacina será oferecida, com nova coleta de sangue (10ml), 30 dias após, com a mesma finalidade da anterior.

Desconfortos e riscos esperados:

Os riscos relacionados a coleta de sangue são mínimos, podendo variar de dor a picada, formação de hematoma (mancha roxa) local ou reação emocional.

Com relação à vacina, os efeitos colaterais possíveis são reações locais, como eritema (mancha avermelhada no local da injeção), endureção, dor, raramente podendo apresentar febre e irritabilidade. Em raríssimos casos descritos podem ocorrer manifestações alérgicas mais graves, como anafilaxia.

Benefícios que poderão ser obtidos:

O benefício direto do estudo é o fato de que teremos o conhecimento da resposta de anticorpos da vacina contra o meningococo C nos pacientes com HIV, sendo praticamente um marcador de sua eficácia. Com esse conhecimento poderemos ter maior segurança de que com o uso da vacina você realmente estará protegido contra a doença meningocócica pelo meningococo C, caso se confirme que a produção de anticorpos foi efetiva.

Esclarecimentos dados pelo pesquisador sobre as garantias do sujeito da pesquisa

Em qualquer etapa do estudo, você terá acesso aos profissionais responsáveis pela pesquisa para esclarecimento de eventuais dúvidas. O principal investigador é o Dra Heloísa Helena de Souza Marques que pode ser encontrado no Instituto da Criança Telefone(s) 3069-8673 / 3069-8515 Se você tiver alguma consideração ou dúvida sobre a ética da pesquisa, entre em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) – Rua Ovídio Pires de Campos, 225 – 5º andar – tel: 3069-6442 ramais 16, 17, 18 ou 20, FAX: 3069-6442 ramal 26 – E-mail: cappelq@hcnet.usp.br

É garantida a liberdade da retirada de consentimento a qualquer momento e deixar de participar do estudo, sem qualquer prejuízo à continuidade de seu tratamento na Instituição. Todos os procedimentos realizados e informações obtidas durante o estudo serão confidenciais e mantidas em sigilo, em hipótese alguma você terá a identidade divulgada para outras pessoas ou entidades, incluindo tornar público apenas os resultados da pesquisa.

Você tem o direito de ser mantido atualizado sobre os resultados parciais das pesquisas ou de resultados que sejam do conhecimento dos pesquisadores.

Despesas e compensações: não há despesas pessoais para o participante em qualquer fase do estudo, incluindo exames e consultas. Também não há compensação financeira relacionada à sua participação. Se existir qualquer despesa adicional, ela será absorvida pelo orçamento da pesquisa. O pesquisador assume o compromisso de utilizar os dados e o material coletado somente para esta pesquisa.

Consentimento pós esclarecido

Acredito ter sido suficientemente informado a respeito das informações que li ou que foram lidas para mim, descrevendo o estudo” **Avaliação da resposta de anticorpos à vacina meningocócica conjugada do grupo C em pacientes pediátricos com aids”**

Eu discuti com o Dra. Heloísa Helena de Souza Marques sobre a minha decisão em participar nesse estudo. Ficaram claros para mim quais são os propósitos do estudo, os procedimentos a serem realizados, seus desconfortos e riscos, as garantias de confidencialidade e de esclarecimentos permanentes. Ficou claro também que minha participação é isenta de despesas e que tenho garantia do acesso a tratamento hospitalar quando necessário. Concordo voluntariamente em participar deste estudo e poderei retirar o meu consentimento a qualquer momento, antes ou durante o mesmo, sem penalidades ou prejuízo ou perda de qualquer benefício que eu possa ter adquirido, ou no meu atendimento neste Serviço.

Assinatura do paciente/representante

Data ____ / ____ / ____

legal

Assinatura da testemunha

Data ____ / ____ / ____

para casos de pacientes menores de 18 anos, analfabetos, semi-analfabetos ou portadores de deficiência auditiva ou visual.

Declaro que obtive de forma apropriada e voluntária o Consentimento Livre e Esclarecido deste paciente ou representante legal para a participação neste estudo.

Assinatura do responsável pelo estudo _____

Data ____/____/____

**HOSPITAL DAS CLÍNICAS DA FACULDADE DE MEDICINA DA
UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO-HCFMUSP****TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO DO GRUPO A – PARA
RESPONSÁVEIS POR CRIANÇAS E ADOLESCENTES****DADOS DE IDENTIFICAÇÃO DO SUJEITO DA PESQUISA OU RESPONSÁVEL
LEGAL**

1. NOME:

DOCUMENTO DE IDENTIDADE Nº : SEXO : .M ☐ F ☐

DATA NASCIMENTO:/...../.....

ENDEREÇO.....Nº..... APTO:

BAIRRO:..... CIDADE

CEP:.....TELEFONE:DDD(.....).....
.....

2.RESPONSÁVEL LEGAL

NATUREZA(grau de parentesco, tutor, curador etc.)
.....DOCUMENTO DE IDENTIDADE :.....SEXO: M ☐ F ☐

DATA NASCIMENTO.:/...../.....

ENDEREÇO: Nº APTO:

BAIRRO:.....

CIDADE:

.....

CEP:.....
(.....)

TELEFONE:

DDD

.....

DADOS SOBRE A PESQUISA

1. TÍTULO DO PROTOCOLO DE PESQUISA : **Avaliação da resposta de anticorpos à vacina meningocócica conjugada do grupo C em pacientes pediátricos com aids**

2. PESQUISADOR : Dra. Heloísa Helena de Sousa Marques e Dra. Daniela Vinhas Bertolini

CARGO/FUNÇÃO: Médicas INSCRIÇÃO CONSELHO REGIONAL Nº 27.873 e 85.228

UNIDADE DO HCFMUSP: Instituto da Criança

3. AVALIAÇÃO DO RISCO DA PESQUISA:

RISCO MÍNIMO	☒	RISCO MÉDIO	☐
RISCO BAIXO	☐	RISCO MAIOR	☐

4.DURAÇÃO DA PESQUISA : aproximadamente 4 meses após o início da inclusão

HOSPITAL DAS CLÍNICAS DA FACULDADE DE MEDICINA DA UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO-HCFMUSP

Seu filho(a) está sendo convidado a participar desse projeto de pesquisa que tem como objetivo avaliar a resposta de anticorpos à vacina meningocócica conjugada do grupo C em pacientes pediátricos com aids. A vacina do meningococo C é indicada pelo Ministério da Saúde para todos os pacientes com HIV e destina-se à proteção contra a doença meningocócica pelo sorogrupo C, patologia com alta morbidade além de alta taxa de mortalidade.

Sabemos que algumas vacinas não tem a mesma eficácia nos pacientes com HIV quando comparadas com os pacientes sem HIV. A vacina contra o meningococo C é muito eficaz nos pacientes não infectados (acima de 95% de eficácia), porém nos pacientes com HIV essa eficácia não é conhecida. O estudo visa esclarecer essa questão.

Este estudo será desenvolvido em centros do Estado de São Paulo especializados no atendimento de portadores de HIV/aids e crianças e adolescentes deverão ser avaliados.

Procedimentos que serão utilizados e propósitos:

Durante a consulta de rotina, seu filho (a) será atendido pelo médico do serviço que foi designado para este estudo. Todas as informações necessárias serão retiradas de seu prontuário e algumas perguntas serão feitas. Será coletada amostra de sangue (10ml), para exames laboratoriais que avaliam a quantidade de anticorpos

contra o meningococo C que seu filho (a) já possui. Imediatamente após a coleta seu filho (a) receberá uma dose da vacina contra o meningococo C. Após 30 dias da vacina, uma nova coleta de sangue (10ml) será necessária para repetir a dosagem de anticorpos e dessa forma realmente estabelecer qual foi a resposta de anticorpos obtida, determinando se seu filho (a) está efetivamente protegido contra doença meningocócica. Caso essa proteção não tenha sido obtida, uma nova dose de vacina será oferecida, com nova coleta de sangue (10ml), 30 dias após, com a mesma finalidade da anterior.

Desconfortos e riscos esperados:

Os riscos relacionados a coleta de sangue são mínimos, podendo variar de dor a picada, formação de hematoma (mancha roxa) local ou reação emocional.

Com relação à vacina, os efeitos colaterais possíveis são reações locais, como eritema (mancha avermelhada no local da injeção), enduração, dor, raramente podendo apresentar febre e irritabilidade. Em raríssimos casos descritos podem ocorrer manifestações alérgicas mais graves, como anafilaxia.

Benefícios que poderão ser obtidos:

O benefício direto do estudo é o fato de que teremos o conhecimento da resposta de anticorpos da vacina contra o meningococo C nos pacientes com HIV, sendo praticamente um marcador de sua eficácia. Com esse conhecimento poderemos ter maior segurança de que com o uso da vacina seu filho (a) realmente estará protegido contra a doença meningocócica pelo meningococo C, caso se confirme que a produção de anticorpos foi efetiva.

Esclarecimentos dados pelo pesquisador sobre as garantias do sujeito da pesquisa

Em qualquer etapa do estudo, você e seu filho (a) terão acesso aos profissionais responsáveis pela pesquisa para esclarecimento de eventuais dúvidas. O principal investigador é o Dra Heloísa Helena de Souza Marques que pode ser encontrado no Instituto da Criança Telefone(s) 3069-8673 / 3069-8515 Se você e seu filho (a) tiverem alguma consideração ou dúvida sobre a ética da pesquisa, entre em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) – Rua Ovídio Pires de Campos, 225 – 5º andar – tel: 3069-6442 ramais 16, 17, 18 ou 20, FAX: 3069-6442 ramal 26 – E-mail: cappesq@hcnnet.usp.br

É garantida a liberdade da retirada de consentimento a qualquer momento e deixar de participar do estudo, sem qualquer prejuízo à continuidade do tratamento de seu filho (a) na Instituição. Todos os procedimentos realizados e informações obtidas durante o estudo serão confidenciais e mantidas em sigilo, em hipótese alguma você e seu filho (a) terão a identidade divulgada para outras pessoas ou entidades, incluindo tornar público apenas os resultados da pesquisa.

Você e seu filho (a) tem o direito de serem mantido atualizados sobre os resultados parciais das pesquisas ou de resultados que sejam do conhecimento dos pesquisadores.

Despesas e compensações: não há despesas pessoais para o participante em qualquer fase do estudo, incluindo exames e consultas. Também não há compensação financeira relacionada à sua participação. Se existir qualquer despesa adicional, ela será absorvida pelo orçamento da pesquisa. O pesquisador assume o compromisso de utilizar os dados e o material coletado somente para esta pesquisa.

Consentimento pós esclarecido

Acredito ter sido suficientemente informado a respeito das informações que li ou que foram lidas para mim, descrevendo o estudo” **Avaliação da resposta de anticorpos à vacina meningocócica conjugada do grupo C em pacientes pediátricos com aids”**

Eu discuti com o Dra. Heloísa Helena de Souza Marques sobre a minha decisão em participar nesse estudo. Ficaram claros para mim e meu filho (a) quais são os propósitos do estudo, os procedimentos a serem realizados, seus desconfortos e riscos, as garantias de confidencialidade e de esclarecimentos permanentes. Ficou claro também que minha participação é isenta de despesas e que tenho garantia do acesso a tratamento hospitalar quando necessário. Concordo voluntariamente em participar deste estudo e poderei retirar o meu consentimento a qualquer momento, antes ou durante o mesmo, sem penalidades ou prejuízo ou perda de qualquer benefício que eu possa ter adquirido, ou no meu atendimento neste Serviço.

Assinatura do paciente/representante
legal

Data ____ / ____ / ____

Assinatura da testemunha

Data ____ / ____ / ____

para casos de pacientes menores de 18 anos, analfabetos, semi-analfabetos ou portadores de deficiência auditiva ou visual.

Declaro que obtive de forma apropriada e voluntária o Consentimento Livre e Esclarecido deste paciente ou representante legal para a participação neste estudo.

Assinatura do responsável pelo estudo

Data ____ / ____ / ____

HOSPITAL DAS CLÍNICAS DA FACULDADE DE MEDICINA DA UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO-HCFMUSP

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO DO GRUPO B – PARA JOVENS A PARTIR DE 18 ANOS

DADOS DE IDENTIFICAÇÃO DO SUJEITO DA PESQUISA OU RESPONSÁVEL LEGAL

1. NOME:

DOCUMENTO DE IDENTIDADE Nº : SEXO : .M ☐ F ☐

DATA NASCIMENTO:/...../.....

ENDEREÇO.....Nº..... APTO:

BAIRRO:..... CIDADE

CEP:.....TELEFONE:DDD(.....).....
.....

2. RESPONSÁVEL LEGAL

NATUREZA(grau de parentesco, tutor, curador etc.)
.....

DOCUMENTO DE IDENTIDADE :.....SEXO: M ☐ F ☐

DATA NASCIMENTO.:/...../.....

ENDEREÇO: Nº APTO:

BAIRRO:..... CIDADE:
.....

CEP:..... TELEFONE: DDD
(.....).....

DADOS SOBRE A PESQUISA

1. TÍTULO DO PROTOCOLO DE PESQUISA : **Avaliação da resposta de anticorpos à vacina meningocócica conjugada do grupo C em pacientes pediátricos com aids**

2. PESQUISADOR : Dra. Heloísa Helena de Sousa Marques e Dra. Daniela Vinhas Bertolini

CARGO/FUNÇÃO: Médicas
27.873 e 85.228

INSCRIÇÃO CONSELHO REGIONAL Nº

UNIDADE DO HCFMUSP: Instituto da Criança

3. AVALIAÇÃO DO RISCO DA PESQUISA:

RISCO MÍNIMO	X	RISCO MÉDIO	☐
RISCO BAIXO	☐	RISCO MAIOR	☐

4.DURAÇÃO DA PESQUISA : aproximadamente 4 meses após o início da inclusão

HOSPITAL DAS CLÍNICAS DA FACULDADE DE MEDICINA DA UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO-HCFMUSP

Você está sendo convidado a participar desse projeto de pesquisa que tem como objetivo avaliar a resposta de anticorpos à vacina meningocócica conjugada do grupo C em pacientes pediátricos com aids. A vacina do meningococo C é indicada pelo Ministério da Saúde para todos os pacientes com HIV e destina-se à proteção contra a doença meningocócica pelo sorogrupo C, patologia com alta morbidade além de alta taxa de mortalidade. A vacina também é indicada para pessoas saudáveis pelos Calendários de Vacinação da Sociedade Brasileira de Pediatria e Sociedade Brasileira de Imunizações, porém não é fornecida pelo governo e portanto não está no Calendário de Vacinação do Ministério da Saúde, estando disponível para esse grupo de pacientes apenas em clínicas privadas de vacinação.

Sabemos que algumas vacinas não tem a mesma eficácia nos pacientes com HIV quando comparadas com os pacientes sem HIV. A vacina contra o meningococo C é muito eficaz nos pacientes não infectados (acima de 95% de eficácia), porém nos pacientes com HIV essa eficácia não é conhecida. O estudo visa esclarecer essa questão, sendo necessário para o esclarecimento desta questão a comparação da eficácia entre pacientes com e sem HIV. Você participará deste grupo controle, ou seja, do grupo sem HIV.

Este estudo será desenvolvido em centros do Estado de São Paulo especializados no atendimento de portadores de HIV/aids e crianças e adolescentes deverão ser avaliados.

Procedimentos que serão utilizados e propósitos:

Durante a consulta de rotina, você será atendido pelo médico do serviço que foi designado para este estudo. Todas as informações necessárias serão retiradas de seu prontuário e algumas perguntas serão feitas. Será coletada amostra de sangue (10ml), para exames laboratoriais que avaliam a quantidade de anticorpos contra o meningococo C que você já possui. Imediatamente após a coleta você receberá

uma dose da vacina contra o meningococo C. Após 30 dias da vacina, uma nova coleta de sangue (10ml) será necessária para repetir a dosagem de anticorpos e dessa forma realmente estabelecer qual foi a resposta de anticorpos obtida, determinando se você está efetivamente protegido contra doença meningocócica. Caso essa proteção não tenha sido obtida, uma nova dose de vacina será oferecida, com nova coleta de sangue (10ml), 30 dias após, com a mesma finalidade da anterior.

Desconfortos e riscos esperados:

Os riscos relacionados a coleta de sangue são mínimos, podendo variar de dor a picada, formação de hematoma (mancha roxa) local ou reação emocional.

Com relação à vacina, os efeitos colaterais possíveis são reações locais, como eritema (mancha avermelhada no local da injeção), enduração, dor, raramente podendo apresentar febre e irritabilidade. Em raríssimos casos descritos podem ocorrer manifestações alérgicas mais graves, como anafilaxia.

Benefícios que poderão ser obtidos:

O benefício direto do estudo é o fato de que teremos o conhecimento da resposta de anticorpos da vacina contra o meningococo C nos pacientes com HIV, sendo praticamente um marcador de sua eficácia. Com esse conhecimento poderemos ter maior segurança de que com o uso da vacina você realmente estará protegido contra a doença meningocócica pelo meningococo C, caso se confirme que a produção de anticorpos foi efetiva. Além do benefício para o paciente com HIV, você também garantirá sua proteção para doença meningocócica, já que receberá a vacina.

Esclarecimentos dados pelo pesquisador sobre as garantias do sujeito da pesquisa

Em qualquer etapa do estudo, você terá acesso aos profissionais responsáveis pela pesquisa para esclarecimento de eventuais dúvidas. O principal investigador é o Dra Heloísa Helena de Souza Marques que pode ser encontrado no Instituto da Criança Telefone(s) 3069-8673 / 3069-8515 Se você tiver alguma consideração ou dúvida sobre a ética da pesquisa, entre em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) – Rua Ovídio Pires de Campos, 225 – 5º andar – tel: 3069-6442 ramais 16, 17, 18 ou 20, FAX: 3069-6442 ramal 26 – E-mail: cappel@hcnet.usp.br

É garantida a liberdade da retirada de consentimento a qualquer momento e deixar de participar do estudo, sem qualquer prejuízo à continuidade de seu tratamento na Instituição. Todos os procedimentos realizados e informações obtidas durante o estudo serão confidenciais e mantidas em sigilo, em hipótese alguma você terá a identidade divulgada para outras pessoas ou entidades, incluindo tornar público apenas os resultados da pesquisa.

Você tem o direito de ser mantido atualizado sobre os resultados parciais das pesquisas ou de resultados que sejam do conhecimento dos pesquisadores.

Despesas e compensações: não há despesas pessoais para o participante em qualquer fase do estudo, incluindo exames e consultas. Também não há compensação financeira relacionada à sua participação. Se existir qualquer despesa adicional, ela será absorvida pelo orçamento da pesquisa. O pesquisador assume o compromisso de utilizar os dados e o material coletado somente para esta pesquisa.

Consentimento pós esclarecido

Acredito ter sido suficientemente informado a respeito das informações que li ou que foram lidas para mim, descrevendo o estudo” **Avaliação da resposta de anticorpos à vacina meningocócica conjugada do grupo C em pacientes pediátricos com aids”**

Eu discuti com o Dra. Heloísa Helena de Souza Marques sobre a minha decisão em participar nesse estudo. Ficaram claros para mim quais são os propósitos do estudo, os procedimentos a serem realizados, seus desconfortos e riscos, as garantias de confidencialidade e de esclarecimentos permanentes. Ficou claro também que minha participação é isenta de despesas e que tenho garantia do acesso a tratamento hospitalar quando necessário. Concordo voluntariamente em participar deste estudo e poderei retirar o meu consentimento a qualquer momento, antes ou durante o mesmo, sem penalidades ou prejuízo ou perda de qualquer benefício que eu possa ter adquirido, ou no meu atendimento neste Serviço.

Assinatura do paciente/representante
legal

Data ____ / ____ / ____

Assinatura da testemunha

Data ____ / ____ / ____

para casos de pacientes menores de 18 anos, analfabetos, semi-analfabetos ou portadores de deficiência auditiva ou visual.

Declaro que obtive de forma apropriada e voluntária o Consentimento Livre e Esclarecido deste paciente ou representante legal para a participação neste estudo.

Data ____ / ____ / ____

Assinatura do responsável pelo estudo

HOSPITAL DAS CLÍNICAS DA FACULDADE DE MEDICINA DA UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO-HCFMUSP

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO DO GRUPO B – PARA RESPONSÁVEIS POR CRIANÇAS E ADOLESCENTES

DADOS DE IDENTIFICAÇÃO DO SUJEITO DA PESQUISA OU RESPONSÁVEL LEGAL

1. NOME:

DOCUMENTO DE IDENTIDADE Nº : SEXO : .M ☐ F ☐

DATA NASCIMENTO:/...../.....

ENDEREÇO Nº APTO:

BAIRRO: CIDADE

CEP: TELEFONE: DDD (.....)

2. RESPONSÁVEL LEGAL:

NATUREZA (grau de parentesco, tutor, curador etc.)
.....

DOCUMENTO DE IDENTIDADE : SEXO: M ☐ F ☐

DATA NASCIMENTO:/...../.....

ENDEREÇO: Nº APTO:

BAIRRO: CIDADE:

CEP: TELEFONE: DDD (.....)

DADOS SOBRE A PESQUISA

1. TÍTULO DO PROTOCOLO DE PESQUISA : **Avaliação da resposta de anticorpos à vacina meningocócica conjugada do grupo C em pacientes pediátricos com aids**

2. PESQUISADOR : Dra. Heloísa Helena de Souza Marques e Dra. Daniela Vinhas Bertolini

CARGO/FUNÇÃO: Médicas INSCRIÇÃO CONSELHO REGIONAL Nº 27.873 e 85.228

UNIDADE DO HCFMUSP: Instituto da Criança

3. AVALIAÇÃO DO RISCO DA PESQUISA:

RISCO MÍNIMO	X	RISCO MÉDIO	☐
RISCO BAIXO	☐	RISCO MAIOR	☐

4. DURAÇÃO DA PESQUISA : aproximadamente 4 meses após o início da inclusão

HOSPITAL DAS CLÍNICAS DA FACULDADE DE MEDICINA DA UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO-HCFMUSP

Seu filho (a) está sendo convidado a participar desse projeto de pesquisa que tem como objetivo avaliar a resposta de anticorpos à vacina meningocócica conjugada do grupo C em pacientes pediátricos com aids. A vacina do meningococo C é indicada pelo Ministério da Saúde para todos os pacientes com HIV e destina-se à proteção contra a doença meningocócica pelo sorogrupo C, patologia com alta morbidade além de alta taxa de mortalidade. A vacina também é indicada para pessoas saudáveis pelos Calendários de Vacinação da Sociedade Brasileira de Pediatria e Sociedade Brasileira de Imunizações, porém não é fornecida pelo governo e portanto não está no Calendário de Vacinação do Ministério da Saúde, estando disponível para esse grupo de pacientes apenas em clínicas privadas de vacinação.

Sabemos que algumas vacinas não tem a mesma eficácia nos pacientes com HIV quando comparadas com os pacientes sem HIV. A vacina contra o meningococo C é muito eficaz nos pacientes não infectados (acima de 95% de eficácia), porém nos pacientes com HIV essa eficácia não é conhecida. O estudo visa esclarecer essa questão, sendo necessário para o esclarecimento desta questão a comparação da eficácia entre pacientes com e sem HIV. Seu filho (a) participará deste grupo controle, ou seja, do grupo sem HIV.

Este estudo será desenvolvido em centros do Estado de São Paulo especializados no atendimento de portadores de HIV/aids e crianças e adolescentes deverão ser avaliados.

Procedimentos que serão utilizados e propósitos:

Durante a consulta de rotina, seu filho (a) será atendido pelo médico do serviço que foi designado para este estudo. Todas as informações necessárias serão retiradas de seu prontuário e algumas perguntas serão feitas. Será coletada amostra de sangue (10ml), para exames laboratoriais que avaliam a quantidade de anticorpos contra o meningococo C que seu filho (a) já possui. Imediatamente após a coleta seu filho (a) receberá uma dose da vacina contra o meningococo C. Após 30 dias da vacina, uma nova coleta de sangue (10ml) será necessária para repetir a dosagem de anticorpos e dessa forma realmente estabelecer qual foi a resposta de anticorpos obtida, determinando se seu filho (a) está efetivamente protegido contra

doença meningocócica. Caso essa proteção não tenha sido obtida, uma nova dose de vacina será oferecida, com nova coleta de sangue (10ml), 30 dias após, com a mesma finalidade da anterior.

Desconfortos e riscos esperados:

Os riscos relacionados a coleta de sangue são mínimos, podendo variar de dor a picada, formação de hematoma (mancha roxa) local ou reação emocional.

Com relação à vacina, os efeitos colaterais possíveis são reações locais, como eritema (mancha avermelhada no local da injeção), enduração, dor, raramente podendo apresentar febre e irritabilidade. Em raríssimos casos descritos podem ocorrer manifestações alérgicas mais graves, como anafilaxia.

Benefícios que poderão ser obtidos:

O benefício direto do estudo é o fato de que teremos o conhecimento da resposta de anticorpos da vacina contra o meningococo C nos pacientes com HIV, sendo praticamente um marcador de sua eficácia. Com esse conhecimento poderemos ter maior segurança de que com o uso da vacina seu filho (a) realmente estará protegido contra a doença meningocócica pelo meningococo C, caso se confirme que a produção de anticorpos foi efetiva. Além do benefício para o paciente com HIV, seu filho (a) também garantirá sua proteção para doença meningocócica, já que receberá a vacina.

Esclarecimentos dados pelo pesquisador sobre as garantias do sujeito da pesquisa

Em qualquer etapa do estudo, você e seu filho (a) terão acesso aos profissionais responsáveis pela pesquisa para esclarecimento de eventuais dúvidas. O principal investigador é o Dra Heloísa Helena de Souza Marques que pode ser encontrado no Instituto da Criança Telefone(s) 3069-8673 e 3069-8515 Se você e seu filho (a) tiverem alguma consideração ou dúvida sobre a ética da pesquisa, entre em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) – Rua Ovídio Pires de Campos, 225 – 5º andar – tel: 3069-6442 ramais 16, 17, 18 ou 20, FAX: 3069-6442 ramal 26 – E-mail: cappesq@hcnet.usp.br

É garantida a liberdade da retirada de consentimento a qualquer momento e deixar de participar do estudo, sem qualquer prejuízo à continuidade do tratamento de seu filho (a) na Instituição. Todos os procedimentos realizados e informações obtidas durante o estudo serão confidenciais e mantidas em sigilo, em hipótese alguma você e seu filho (a) terão a identidade divulgada para outras pessoas ou entidades, incluindo tornar público apenas os resultados da pesquisa.

Você e seu filho (a) tem o direito de serem mantido atualizados sobre os resultados parciais das pesquisas ou de resultados que sejam do conhecimento dos pesquisadores.

Despesas e compensações: não há despesas pessoais para o participante em qualquer fase do estudo, incluindo exames e consultas. Também não há

compensação financeira relacionada à sua participação. Se existir qualquer despesa adicional, ela será absorvida pelo orçamento da pesquisa. O pesquisador assume o compromisso de utilizar os dados e o material coletado somente para esta pesquisa.

Consentimento pós esclarecido

Acredito ter sido suficientemente informado a respeito das informações que li ou que foram lidas para mim, descrevendo o estudo” **Avaliação da resposta de anticorpos à vacina meningocócica conjugada do grupo C em pacientes pediátricos com aids”**

Eu discuti com o Dra. Heloísa Helena de Souza Marques sobre a minha decisão em participar nesse estudo. Ficaram claros para mim quais são os propósitos do estudo, os procedimentos a serem realizados, seus desconfortos e riscos, as garantias de confidencialidade e de esclarecimentos permanentes. Ficou claro também que minha participação é isenta de despesas e que tenho garantia do acesso a tratamento hospitalar quando necessário. Concordo voluntariamente em participar deste estudo e poderei retirar o meu consentimento a qualquer momento, antes ou durante o mesmo, sem penalidades ou prejuízo ou perda de qualquer benefício que eu possa ter adquirido, ou no meu atendimento neste Serviço.

Assinatura do paciente/representante
legal

Data ____ / ____ / ____

Assinatura da testemunha

Data ____ / ____ / ____

para casos de pacientes menores de 18 anos, analfabetos, semi-analfabetos ou portadores de deficiência auditiva ou visual.

Declaro que obtive de forma apropriada e voluntária o Consentimento Livre e Esclarecido deste paciente ou representante legal para a participação neste estudo.

Data ____ / ____ / ____

Assinatura do responsável pelo estudo

Anexo 7: Descrição da técnica de SBA

A capacidade bactericida dos anticorpos anti-meningococo sorogrupo C foi mensurada pelo teste Ação Bactericida no Soro (SBA) utilizando-se fonte externa de complemento (*3-4 week baby rabbit complement sterile*, Pel-Freez Biologicals Division, Arkansas, USA), sendo a técnica instalada e padronizada em laboratório de referência no Brasil. Foram utilizados protocolos aceitos internacionalmente, baseado nos estudos de Maslanka, Borrow e Carlone^{85,86,88}.

Para a preparação do inóculo é utilizada cepa de meningococo sorogrupo C (cepa C11, fenótipo C:16:P1.7^a), obtida do *Centers for Disease Control and Prevention*-CDC. Para execução do teste de SBA, as células bacterianas liofilizadas são rehidratadas, restituídas nas suas funções ativas sendo cultivadas em caldo BHI (*Brain Heart Infusion*, BD Difco Laboratories, Detroit, Mich.) e posteriormente isoladas em Agar *Mueller-Hinton* Sangue (MHSA). Todo processo deve ser conduzido sob rigorosas condições de esterilidade dos meios e instrumentos, assegurando-se que a cepa base inicial, não se contamine com agentes oportunistas. O resultante é disposto em placas de Agar Chocolate 5%, e incubada por aproximadamente 18 horas em estufa 5% de CO₂ a 35 °C, sendo essas as condições mais adequadas para cultivo do agente em questão. Do crescimento verificado é efetuado isolamento em placas de MHSA e incubadas por mais aproximadamente 18 horas. Efetua-se o controle e verificação de pureza, através da microscopia utilizando-se coloração de Gram, com a constatação da presença somente de cocos Gram-negativos, determinando-se portanto a pureza das amostras e portanto do liofilizado. As culturas consideradas puras são armazenadas em caldo *Mueller-Hinton* (BD Difco Laboratories, Detroit, Mich.) contendo 15% de glicerol, sendo o resultante aliquotado em tubos plásticos tipo *Eppendorf* e congeladas a -70°C até o momento do uso. Cada ensaio de SBA é realizado com uma alíquota fresca do microrganismo. O repique sucessivo das cepas pode alterar suas características fenotípicas,

portanto, deve-se preparar um lote a partir da ampola mãe e fazer congelamento da cepa em alíquotas que serão usadas e descartadas.

Além da preparação do inóculo, faz-se necessário o preparo da fonte de complemento. O complemento utilizado neste ensaio deve ser descongelado imediatamente antes do uso em temperatura de 37°C e aliquotado em tubos plásticos tipo *Eppendorf*.. Alíquotas de complemento descongeladas não devem ser reutilizadas. A utilização do complemento no teste se dá tanto na forma ativa como inativa. Por este motivo, se faz necessário verificar, a cada teste, a morte da bactéria por ação do complemento. Sendo comprovada sua atividade como fonte de complemento, esse não pode se mostrar com capacidade bactericida importante.

O complemento e as amostras de soros devem ser previamente ao início dos testes, inativados a 56°C por 30 minutos para evitar reações inesperadas ou interações de outras vias de complemento.

Os testes de SBA são realizados em diferentes etapas:

(1) início do preparo do inóculo bacteriano com preparo das culturas com a semeadura das alíquotas C11 de trabalho. Em dia posterior, inicia-se a verificação do semeado resultante nas placas microbiológicas. Coleta-se com alça estéril de 10 á 20 colônias transferindo-as para nova placa de MHS para segundo crescimento, com objetivo de reavivamento da cepa e acentuação de suas propriedades, seguida de nova incubação por cerca de quatro horas em estufa climatizada e devidamente controlada nos termos já citados. No transcorrer das quatro horas de crescimento efetuar inativação dos soros teste e do fragmento de complemento necessário. Após este segundo período de incubação, o crescimento bacteriano resultante é utilizado na produção da suspensão de trabalho (suspensão mãe), que é a suspensão bacteriana á base de solução de Hank's Completa, tendo essa concentração bacteriana ajustada á uma DO (densidade óptica) de aproximadamente 0,340-0,390 em 600 nm, o que corresponde a

aproximadamente $0,5-1,1 \times 10^9$ ufc/mL. Preparar a suspensão bacteriana de trabalho em Hanks completo fazendo, a partir da suspensão mãe, diluições de forma a se obter no final uma suspensão bacteriana com aproximadamente 5×10^3 ufc/mL, bem como a DO sendo verificada e ajustada de forma que a suspensão em 600 nm se mantivesse entre 60-70 ufc, na dose utilizada.

(2) realização de diluições seriadas 1:2 dos soros (amostras e controles). Na aplicação dos testes são utilizadas placas para cultivo microbiológicos, estéreis, 12x8, contendo 96 orifícios com tampa. Os ensaios de SBA devem ser realizados em duplicatas sendo que em cada microplaca são testadas 4 amostras de soro de dois pacientes distintos em soros obtidos em períodos pré e pós-vacinal. Esse desenho permite, em um único teste de uma mesma placa, verificar as alterações ocorridas do período pré para o pós-vacinal, proporcionando maior capacidade de análise crítica dos resultados. Com os soros e controles devidamente tratados inicia-se as aplicações na microplaca com orifícios, inicialmente os soros controle e amostra são pipetados nos primeiros orifícios de cada coluna e posteriormente com auxílio de pipeta multi canal é efetuada a diluição dos mesmos, portanto a diluição seriada da coluna 1 até a coluna 9. As colunas subsequentes, 10, 11 e 12 são utilizadas como controles. Em cada microplaca, são realizados controles da ação do complemento, da viabilidade do antígeno e verificação de morte independente de complemento (como por exemplo de soros contendo antibióticos, utilizando-se nesse controle o complemento inativado) e soros controles positivos. Em todos os testes, a cada placa, é inserido controles com títulos conhecidos para aumento da segurança na interpretação e confiabilidade dos testes.

(3) adição da suspensão bacteriana e fonte de complemento ativo nas microplacas, este devidamente descongelado pouco antes do uso, sendo esses homogeneizados e inseridos em processo de incubação em estufa por alguns minutos.

(4) adição de Agar específico (caldo Triptona Soja acrescido de 0,9% de Agar Noble e 0,002mL/L de solução de VCN – Vancomicina, Colistina e Nistatina) em todos os orifícios da microplaca, para crescimento final das colônias, o que vai possibilitar sua leitura, sendo realizada nova incubação overnight das placas.

(5) leitura microscópica das placas e interpretação do crescimento bacteriano, realizadas sempre pelo mesmo examinador, de forma manual, sem automatização. Nesta leitura é feita a contagem do número de colônias em todos os orifícios correspondentes às diluições dos soros. A média das colônias em tempo zero (100% de sobrevivência) é o número inicial de células viáveis inoculadas por orifício, sendo importante para determinação e cálculo dos 50% de morte.

O título bactericida do soro é determinado como sendo a última diluição do soro em que houve morte de pelo menos 50% das bactérias após 60 minutos de incubação, quando comparadas com o controle no tempo zero.

Simultaneamente ao teste, deve ser realizado o *Tilt test* para avaliar o potencial de crescimento do inóculo bacteriano sem interferentes^{70,86}. Para realização deste, aplica-se o inóculo da solução bacteriana de trabalho, através do uso de pipeta multicanal, sendo feito 3 a 4 aplicações na placa, em meio rico (Mueller Hinton/Sangue), seguido de inclinação da placa e escoamento do inóculo com posterior incubação por 45 a 60 minutos. Foto abaixo demonstra placa do *Til test*.

Ao efetuar a leitura das placas utilizadas no teste, realizar também a leitura da placa do Tilt test, obtendo-se seu coeficiente.

Os resultados são tabulados e registrados em planilha do Microsoft Excel.

A técnica SBA, apresenta vários detalhes e particularidades durante sua realização, que podem trazer em algumas circunstâncias, limitações técnicas importantes além da dificuldade de reprodutibilidade do teste em diferentes laboratórios. Abaixo estão listados os principais pontos críticos da técnica:

- * Cepa bacteriana: a escolha da cepa bacteriana utilizada e condições de crescimento desta, partindo-se desde a restituição do inóculo bacteriano, particularidades do cultivo e crescimento, são dificuldades iniciais, já que trata-se de um agente extremamente sensível às condições de temperatura, concentração de CO₂ e potencial nutritivo dos meios de cultura utilizados, sendo esses pontos chave para o sucesso no processo.

- * Diluições: a escolha das diluições iniciais ideais dos soros e controles é outro ponto de dificuldade, com a obtenção de testes com resultados incoerentes devido ao efeito Prózona, caso não se adote uma diluição correta, necessitando-se por conta disso da repetição de várias amostras e controles durante a padronização para as devidas adequações nas diluições.

* Soros e complemento: a necessidade de inativação dos soros testes e das alíquotas de complemento é outro ponto crítico do processo, sendo necessário para evitar reações inesperadas ou interações com outras vias de complemento, já que a má inativação pode comprometer os resultados finais.

* Leitura manual: a necessidade de leitura manual e preferencialmente em microscópio invertido das colônias formadas em cada orifício demanda tempo, limitando o volume de trabalho; o tempo viável para leitura dos testes programado em 60 minutos limita ainda mais o volume de trabalho possível. Por ser uma técnica bastante trabalhosa, faz-se necessário para o bom andamento dos trabalhos uma minuciosa esquematização e fixação de dias para atividades e andamento dos testes. Isso se dá em razão da necessidade da manutenção dos meios nutritivos, pelos extensos períodos de incubação exigidos pelo microorganismo de trabalho e por suas diversas fragmentações, o que exigem prévia preparação de algumas etapas para utilização em dias posteriores.

* Meningococo: por se tratar de um agente extremamente infeccioso e considerando-se que para realização do teste é necessário o manuseio da cepa propriamente dita, deve-se sempre considerar o risco inerente à realização teste para equipe do laboratório, devendo ser adotados cuidados extremos por esta, com a vacinação prévia de toda equipe envolvida nos trabalhos e a condução de todo processo em fluxo laminar apropriado para manuseio do agente.

Anexo 8: Descrição da técnica de ELISA

A pesquisa e quantificação dos anticorpos da classe IgG foram feita por ELISA standard, “*in house*” (sem utilização de kits comerciais), sendo a técnica instalada e padronizada em laboratório de referência no Brasil. Foram utilizados protocolos aceitos internacionalmente, baseado nos estudos de Gheesling, Holder e Elie^{78,87,89}.

Dividi-se o ensaio de ELISA em três fases:

(1) padronização com estabelecimento das concentrações ideais do antígeno, Polissacarídeo capsular de *Neisseria meningitidis* sorogrupo C do *National Institute for Biological Standards and Control* (NIBSC, Blanche Lane, South Mimms, Potters Bar, Herts, UK), formação da suspensão de polissacarídeo capsular-albumina humana metilada (*Methylated Human Serum Albumin*, mHSA do NIBSC, UK) Ps-mHSA como 5ug/mL, utilizado para a sensibilização na microplaca, como também, das amostras que foram testadas. Distribuição de 100µL desta suspensão nos orifícios de uma microplaca (Immulon 2HB Costar High Binding) e incubação por aproximadamente 18 horas em uma câmara úmida a 4°C. Posteriormente, a microplaca é lavada por 3 vezes com uma solução de PBS-Brij-35 a 1% e bloqueada com 200µL de tampão soro (soro bovino 5%, Brij-35 0,1% diluído em PBS, solução estéril) por 1 hora a temperatura ambiente, em câmara úmida.

(2) aspiração de toda a solução de bloqueio da placa. O soro de referência utilizado foi o CDC 1992 (anti-meningococcal human reference serum CDC 1992) produzidos pelo NIBSC, UK. O soro referência e o controle para os ensaios (CDC1992 e CDC900268, respectivamente) foram diluídos a 1/50, enquanto que as amostras a 1/100. Realizada diluição seriada das amostras e da referência: distribui-se 100µL de tampão soro (o mesmo utilizado para o bloqueio) em cada orifício e depois, 200µL das diluições da referência e das amostras. Após homogenização, foram transferidos 100 µL seqüencialmente até atingir a diluição desejada. Para as amostras foram feitas quatro

diluições e para a referência sete diluições. Incubou-se por aproximadamente 18 horas a 4°C em câmara úmida.

(3) lavagem da placa por 3 vezes, retirando-se o excesso desta solução invertendo e batendo a placa, seguida do preparo do conjugado (anti-IgG humano marcado com fosfatase alcalina – Sigma-Aldrich A-3187) diluição de 1/6000 (específico para a cadeia gama e contra todas as subclasses de IgG) e distribuição deste em 100µL por orifício da microplaca. Incubação por 2 horas em câmara úmida a temperatura ambiente. Nova lavagem e distribuição de 100 µL da solução reveladora (p-nitrofenil fosfato dissódico – PNPP – Sigma-Aldrich N9389). Incubação da microplaca em temperatura ambiente por aproximadamente 30 minutos seguida da leitura espectrofotométrica a 405nm.

Os dados de curva padrão, controles e amostras, são transferidos para planilha de Microsoft Excel, analisados e validados conforme literatura em que utiliza a mesma metodologia para cápsula de *Neisseria meningitidis* (sorogrupos A, C, Y, W-135)^{78,87,89}.

Anexo 9: Tabelas descritivas dos pacientes do grupo A

Tabela 15 - Descrição individual dos pacientes do grupo A

N	ID	IMC	CDC	DD AIDS	TRANS HIV	TEMP DE ARV	ESQ ARV	CLAS ARV
1	14	17,6	B2	não	vertical	103	4	3
2	14	19,5	N3	não	vertical	97	4	3
3	13	18,8	B3	não	vertical	151	5	2
4	14	20,7	B1	não	vertical	86	1	2
5	12	17,1	C2	sim	vertical	143	5	3
6	13	16,5	C3	sim	vertical	144	6	3
7	18	27,7	B2	sim	vertical	148	8	3
8	15	24,1	A1	não	vertical	72	1	1
9	13	24,7	A2	não	vertical	124	4	3
10	15	18,8	B3	não	vertical	18	2	3
11	13	16,6	B3	não	vertical	71	3	3
12	14	17,2	C3	sim	vertical	134	7	5
13	15	23,3	B2	sim	vertical	141	7	3
14	14	15,7	C3	sim	vertical	157	5	4
15	19	25,7	C3	não	vertical	172	6	5
16	13	17,9	C3	não	vertical	111	3	3
17	14	20,1	B3	sim	vertical	128	6	3
18	10	14,9	C2	não	vertical	112	2	3
19	12	16,4	A1	não	vertical	126	2	2
20	13	13,1	C1	sim	vertical	141	5	3
21	13	19,8	A1	não	vertical	151	2	3
22	15	22,7	A2	não	horizontal	0	0	0
23	19	25,3	C1	sim	vertical	213	9	3
24	12	13,7	B3	não	vertical	89	3	3

25	10	19,8	B1	não	vertical	107	5	3
26	16	21,3	B2	não	vertical	183	1	1
27	15	17,9	C3	sim	vertical	186	5	3
28	16	22,4	A2	não	vertical	33	1	2
29	17	16,3	C3	sim	vertical	171	4	3
30	10	15,9	A3	não	vertical	99	4	3
31	18	21,3	C2	sim	vertical	134	3	3
32	12	18,2	B3	sim	vertical	121	3	2
33	13	16,6	B2	não	vertical	111	2	2
34	15	17,7	B2	sim	vertical	135	4	2
35	17	18,7	A2	não	vertical	203	3	2
36	11	15,4	C3	sim	vertical	128	2	2
37	10	15,7	B3	sim	vertical	93	1	1
38	10	15,5	C3	sim	vertical	119	4	3
39	15	18,3	C3	sim	vertical	130	3	2
40	17	20,1	B3	sim	vertical	129	3	2
41	11	15,1	C2	não	vertical	131	5	3
42	10	16,6	B2	não	vertical	101	1	2
43	13	18,4	B3	não	vertical	159	2	3

Tabela 16 - Descrição individual dos pacientes do grupo A

N	VMAX CV	VMIN CV	MÉD CV	MEDNA CV	VMAX CD4	NAD CD4	MÉD CD4	MEDN CD4	R1 ^a D	R2 ^a D
1	132953	< 50	15471	3110	983	479	760	780	sim	-----
2	57930	< 80	11567	8490	680	109	386	338	não	-----
3	240000	234	17884	2000	1275	129	756	781	sim	-----
4	14000	72	2759	490	1195	276	805	783	sim	-----
5	133000	273	11966	2348	2742	904	1638	1513	sim	-----
6	180000	< 50	66777	69100	1005	281	550	528	sim	-----
7	27000	< 50	3466	1083	1156	331	710	697	não	-----
8	35552	< 50	6680	2677	1089	519	711	619	sim	-----
9	328115	< 50	42394	9200	1526	721	1107	1140	sim	-----
10	286644	< 50	74494	2721	711	28	405	416	sim	-----
11	498000	< 50	174640	111450	1369	276	776	789	sim	-----
12	>750000	< 50	285460	242751	1902	169	970	957	não	sim
13	312000	< 50	40217	10305	891	190	538	506	sim	-----
14	1100000	< 50	133318	69550	1406	100	509	451	sim	-----
15	1000000	< 50	121037	54000	892	71	444	426	não	sim
16	220000	< 50	40859	17400	1188	291	772	781	sim	-----
17	540000	< 50	127124	54500	527	58	339	380	não	não
18	408000	< 50	92663	52700	1312	313	890	971	sim	-----
19	2796410	< 50	135654	509	2222	751	1196	1107	sim	-----
20	2600	< 50	1166	350	1420	542	923	920	sim	-----
21	15000	< 50	6116	5750	3265	667	1339	1245	sim	-----
22	15306	5825	8393	6837	625	397	497	497	sim	-----
23	352786	< 400	82065	52100	2578	220	1458	1537	não	não
24	200000	< 40	94075	68356	1924	274	1058	1082	sim	-----

25	570000	< 50	89320	24200	2330	1017	1465	1404	sim	-----
26	9500	< 50	1758	1040	1282	246	474	433	sim	-----
27	94000	< 400	30286	19273	1671	704	1019	1102	não	não
28	170000	< 400	16066	6580	1405	234	610	549	sim	-----
29	335000	< 50	781	6300	602	175	354	344	sim	-----
30	54000	< 50	8161	4100	932	1228	1091	1107	não	sim
31	650000	< 50	94338	19100	180	620	385	374	sim	-----
32	270000	< 400	33083	8603	1098	412	725	686	sim	-----
33	149112	< 50	12567	2000	1539	305	895	821	não	sim
34	227000	< 50	21662	880	1589	548	1211	1207	sim	-----
35	143598	< 50	21304	13000	1822	380	597	538	não	não
36	1600000	< 40	128631	18500	1937	513	843	788	sim	-----
37	192000	2237	42589	32812	1300	104	557	428	sim	-----
38	1500000	< 50	235538	130000	2447	503	1293	1232	sim	-----
39	110000	4350	32928	20000	2264	268	1054	1060	não	não
40	110000	2300	21920	13000	1083	204	567	568	sim	-----
41	320000	< 40	32149	4300	2762	228	1283	1290	sim	-----
42	250000	2830	50903	32500	1134	362	686	609	não	não
43	3200000	1700	50903	32500	1800	182	488	486	sim	-----

Legenda das Tabelas 15 e 16:

N: número de identificação do caso

ID: idade em anos

IMC: índice de massa corpórea em m²

CDC: classificação clínica e imunológica do CDC

DD AIDS: doença definidora de Aids

TRANS HIV: forma de transmissão do HIV

TEMP DE ARV: tempo de uso de antirretrovirais em meses

ESQ ARV: número de esquemas antirretrovirais utilizados

CLASARV: número de classes de drogas antirretrovirais utilizadas

VMAX CV: valor máximo de carga viral durante todo o acompanhamento em cópias/ml

VMIN CV: valor mínimo de carga viral durante todo o acompanhamento em cópias/ml

MÉD CV: média de carga viral durante todo o acompanhamento em cópias/ml

MEDNA CV: mediana de carga viral durante todo o acompanhamento em cópias/ml

VMAX CD4: valor máximo de CD4 durante todo o acompanhamento em células/ μ l

NAD CD4: nadir de CD4 durante todo o acompanhamento em células/ μ l

MÉD CD4: média de CD4 durante todo o acompanhamento em células/ μ l

MEDN CD4: mediana de CD4 durante todo o acompanhamento em células/ μ l

R 1ªD: respondedor a 1º dose

R 2ªD: respondedor a 2º dose

Observações da tabela:

Caso número 2: abandonou o protocolo antes de receber a 2º dose de vacina

Caso número 7: excluída do protocolo no momento da 2º dose por estar gestante

Caso número 22: nunca havia usado antirretroviral até o momento do estudo

Casos destacados em vermelho correspondem aos não respondedores a vacina.

REFERÊNCIAS

1. Lewi DS, Diaz RS, Filho AC, Turcato Jr G. Síndrome da Imunodeficiência Adquirida (AIDS). In: Salomão R, Pignatari ACC, editores. Infectologia. São Paulo: Editora Manole; 2004. p.125-35.
2. WHO – World Health Organization. The top 10 causes of death. Fact sheet n°310, Update June 2011. Disponível em: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs310/en/index.html>
3. WHO – World Health Organization, UNAIDS – Joint United Nations Programme on HIV/Aids. Global summary of the AIDS epidemic/2012. Programmes and Projects. HIV/Aids. Data and statistics. Disponível em: http://www.who.int/hiv/data/2013_epi_core.ppt
4. Brasil. Ministério da Saúde do Brasil / DATASUS – Departamento de Informática do SUS. Sistema de Informação de Mortalidade (SIM). 2010. Brasília-DF;2010. Disponível em: <http://www2.datasus.gov.br/DATASUS/index.php?area=0205&VObj=http://tabnet.datasus.gov.br/cgi/deftohtm.exe?sim/cnv/obt10>
5. Brasil. Ministério da Saúde do Brasil. Secretaria de Vigilância em Saúde - Departamento de DST, Aids e Hepatites Virais . Boletim Epidemiológico – Aids e DST. Brasília, DF – Ano II – número 01 – até semana epidemiológica 26ª – dezembro de 2013. Disponível em:

<http://www.aids.gov.br/publicacao/2013/boletim-epidemiologico-aids-e-dst-2013>

6. Secretaria de Estado da Saúde de São Paulo. Coordenadoria de Controle de Doenças. Centro de Referência e Treinamento em DST/Aids – CRT-DST/AIDS-SP. Programa Estadual de DST/Aids de São Paulo. Boletim Epidemiológico CRT - DST/AIDS – CVE. São Paulo – Ano XXIX – número 1- dezembro de 2012. Disponível em: <http://www.saude.sp.gov.br/centro-de-referencia-e-treinamento-dstaidsp/publicacoes/boletim-epidemiologico-crt>
7. Rosenberg ZF, Fauci AS. Immunopathology and pathogenesis of human immunodeficiency virus infection. *Pediatr Infect Dis J*. 1991;10:230-8.
8. Rosenberg ZF, Fauci AS. Immunopathology and pathogenesis of HIV infection. In: Pizzo PA, Wilfert CM, editors. *Pediatric Aids: the challenge of HIV infection in infants, children, and adolescents*. 2th ed. Baltimore: Willians & Wilkins; 1994.p.115-27.
9. Negra MD, Queiroz W, Lian YC. Aids Pediátrica. In: Veronesi R, Focaccia R, editores. *Tratado de Infectologia*. 2^a ed. São Paulo: Editora Atheneu; 2002. p.129-44.
10. Succi RCM. Síndrome da imunodeficiência adquirida (Aids). In: Farhat CK, Carvalho ES, Carvalho LHFR, editores. *Infectologia Pediátrica*. 2^a ed. São Paulo: Editora Atheneu; 1999. p.488-96.

11. Marques A, Masur H. Manifestações clínicas da aids. In: Veronesi R, Focaccia R, editores. Tratado de Infectologia. 2ª ed. São Paulo: Editora Atheneu; 2002. p.99-121.
12. Rachid M, Schechter M. Manifestações clínicas. In: Rachid M, Schechter M, editores. Manual de HIV/AIDS. 9ª ed. Rio de Janeiro: Editora Revinter; 2008. p.7-10.
13. Stephens DS, Hajjeh RA, Baughman WS, Harvey RC, Wenger JD, Farley MM. Sporadic meningococcal disease in adults: results of a 5-year population-based study. *Ann Intern Med.* 1995;123:937-40.
14. Cohen C, Singh E, Wu HM, Martin S, de Gouveia L, Klugman KP, Meiring S, Govender N, von Gottberg A; Group for Enteric, Respiratory and Meningeal Disease Surveillance in South Africa (GERMS-SA). Increased incidence of meningococcal disease in HIV-infected individuals associated with higher case-fatality ratios in South Africa. *AIDS.* 2010; 24:1351-60.
15. Miller L, Arakaki L, Ramautar A, Bodach S, Braunstein SL, Kennedy J, Steiner-Sichel L, Ngai S, Shepard C, Weiss D. Elevated Risk for Invasive Meningococcal Disease Among Persons With HIV. *Ann Intern Med.* 2014;160(1):30-7. doi:10.7326/0003-4819-160-1-201401070-00731.
16. Obaro SK, Pugatch D, Luzuriaga K. Immunogenicity and efficacy of childhood vaccines in HIV-1-infected children. *Lancet Infect Dis.* 2004; 4:510-8.

17. Moss WJ, Clements CJ, Halsey NA. Immunization of children at risk of infection with human immunodeficiency virus. *Bull World Health Organ.* 2003;81:61-70.
18. Ihekweazu CA, Dance DA, Pebody R, George RC, Smith MD, Waight P, Christensen H, Cartwright KA, Stuart JM, South West Pneumococcus Study Group. Trends in incidence of pneumococcal disease before introduction of conjugate vaccine: South West England, 1996-2005. *Epidemiol Infect.* 2008;136(8):1096-102.
19. Grivea IN, Panagiotou M, Tsantouli AG, Syrogiannopoulos GA. Impact of heptavalent pneumococcal conjugate vaccine on nasopharyngeal carriage of penicillin-resistant *Streptococcus pneumoniae* among day-care center attendees in central Greece. *Pediatr Infect Dis J.* 2008;27(6):519-25.
20. Kellner JD, Scheifele D, Vanderkooi OG, Macdonald J, Church DL, Tyrrel GJ. Effects of routine infant vaccination with the 7-valent pneumococcal conjugate vaccine on nasopharyngeal colonization with *Streptococcus pneumoniae* in children in Calgary, Canada. *Pediatr Infect Dis J.* 2008;27(6):526-32.
21. Morris SK, Moss WJ, Halsey N. *Haemophilus influenzae* type b conjugate vaccine use and effectiveness. *Lancet Infect Dis.* 2008;8(7):435-43.
22. Kalies H, Grote V, Siedler A, Gröndahl B, Schmitt HJ, Von Kries R. Effectiveness of hexavalent vaccines against invasive *Haemophilus*

- influenzae type b disease: Germany's experience after 5 years of licensure. *Vaccine*. 2008;26(20):2545-52.
23. Borrow R, Miller E. Long-term protection in children with meningococcal C conjugate vaccination: lessons learned. *Expert Rev Vaccines*. 2006;5(6):851-7.
24. Larrauri A, Cano R, Garcia M, Mateo S. Impact and effectiveness of meningococcal C conjugate vaccine following its introduction in Spain. *Vaccine*. 2005;23:4097-00.
25. Madhi SA, Adrian P, Kuwanda L, Jassat W, Jones S, Little T, Soininen A, Cutland C, Klugman KP. Long-term immunogenicity and efficacy of a 9-valent conjugate pneumococcal vaccine in human immunodeficient virus infected and non-infected children in absence of a booster dose of vaccine. *Vaccine*. 2007;25:2451-7.
26. Abzug MJ, Pelton SI, Song LY, Fenton T, Levin MJ, Nachman SA, Borkowsky W, Rosenblatt HM, Marcinak JF, Dieudonne A, Abrams EJ, Pathak I; Pediatric AIDS Clinical Trials Group P1024 Protocol Team. . Immunogenicity, safety, and predictors of response after a pneumococcal conjugate and pneumococcal polysaccharide vaccine series in human immunodeficiency virus-infected children receiving highly active antiretroviral therapy. *Pediatr Infect Dis J*. 2006;25(10):920-9.
27. Flannery B, Heffernan RT, Harrison LH, Ray SM, Reingold AL, Hadler J, Schaffner W, Lynfield R, Thomas AR, Li J, Campsmith M, Whitney CG,

- Schuchat A. Changes in invasive Pneumococcal disease among HIV-infected adults living in the era of childhood pneumococcal immunization. *Ann Intern Med.* 2006;144:1-9.
28. Madhi SA, Petersen K, Khoosal M, Huebner RE, Mbelle N, Mothupi R, Saloojee H, Crewe-Brown H, Klugman KP. Reduced effectiveness of Haemophilus influenzae type b conjugate vaccine in children with a high prevalence of human immunodeficiency virus type 1 infection. *Pediatr Infect Dis J.* 2002;21:315-21.
29. Sutcliffe CG, Moss WJ. Do children infected with HIV receiving HAART need to be revaccinated? *Lancet Infect Dis.* 2010;10:630-42.
30. Luzuriaga K, McManus M, Catalina M, Mayack S, Sharkey M, Stevenson M, Sullivan JL. Early therapy of vertical HIV-1 Infection: Control of viral replication and absence of persistent HIV-1 specific immune responses. *J Virol.* 2000;74:6984-91.
31. Cotugno N, Douagi I, Rossi P, Palma P. Suboptimal immune reconstitution in vertically HIV infected children: a view on how HIV replication and timing of HAART initiation can impact on T and B-cell compartment. *Clin Dev Immunol.* 2012;2012:805151. doi: 10.1155/2012/805151
32. Rainwater-Lovett K, Moss WJ. Immunologic basis for revaccination of HIV-infected children receiving HAART. *Future Virol.* 2011;6(1):59-71.

33. Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de DST, Aids e Hepatites Virais. Comitê Assessor em Terapia Antirretroviral em Crianças e Adolescentes Infectados pelo HIV. Recomendações para Terapia Antirretroviral em crianças e adolescentes infectados pelo HIV 2009 – Suplemento I. Brasília (DF): Ministério da Saúde; 2010. p.9-16.
34. Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância à Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. Programa Nacional de Imunizações. Coordenação de Imunizações e Auto-Suficiência em Imunobiológicos. Manual dos Centros de Referência para Imunobiológicos Especiais. Brasília (DF); 2006.
35. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Guidelines for the Prevention and Treatment of Opportunistic Infections among HIV-Exposed and HIV-Infected Children. MMWR Morb Mortal Wkly Rep. August 26, 2009/58(Early Release);1-166. Disponível em: <http://AIDSInfo.nih.gov>>.
36. Requejo HIZ. *Neisseria meningitidis*: análise dos antígenos de membrana externa e distribuição geográfica dos sorotipos e subtipos. 1996. LAES HAES. 1996;103:98-120.
37. Meira DA. Doença Meningocócica. In: Veronesi R, Focaccia R, editores. Tratado de Infectologia. 2ª ed. São Paulo: Editora Atheneu; 2002. p.645-54.

38. Farhat CK, Marques SR. Doença Meningocócica. In: Farhat CK, Carvalho ES, Carvalho LHFR, editores. Infectologia Pediátrica. 3^a ed. São Paulo: Editora Atheneu; 2008. p.413-29.
39. Sáfadi MA, Barros AP. Vacinas meningocócicas conjugadas: eficácia e novas combinações. J Pediatr. 2006;82(3 Supl):S35-44.
40. Moraes JC, Barata RB. A doença meningocócica em São Paulo, Brasil, no século XX: características epidemiológicas. Cad Saúde Pública. 2005;21:1458-71.
41. São Paulo. Secretaria de Estado da Saúde. Centro de Vigilância Epidemiológica (CVE), Divisão de Doenças de Transmissão Respiratória (DDTR). Doença meningocócica: casos e porcentagens por sorogrupo. Estado de São Paulo – 1998 a 2013. Disponível em: http://www.cve.saude.sp.gov.br/htm/resp/dm_soro.htm
42. São Paulo. Secretaria de Estado da Saúde. Centro de Vigilância Epidemiológica (CVE), Divisão de Doenças de Transmissão Respiratória (DDTR). Doença meningocócica: casos, óbitos e letalidade de doença meningocócica segundo faixa etária. Estado de São Paulo – 1998 a 2013. Disponível em: http://www.cve.saude.sp.gov.br/htm/resp/dm_ofeta.htm
43. Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. Situação da doença meningocócica no Brasil em 2011. Número de casos e óbitos da doença

meningocócica no Brasil, 2000-2010. Disponível em:
http://portal.saude.gov.br/portal/saude/profissional/area.cfm?id_area=1563

44. Ostergaard L, Lebacqz E, Poolman J, Maechler G, Boutriau D. Immunogenicity, reactogenicity and persistence of meningococcal A,C,W-135 and Y-tetanus toxoid candidate conjugated (Men ACWY-TT) vaccine formulations in adolescents aged 15-25 years. *Vaccine*. 2009;27:161-168.
45. Jackson LA, Baxter R, Reisinger KS, Karsten A, Shah J, Bedell L, Dull PM, V59P13 Study Group. Phase III Comparison of an investigational quadrivalent meningococcal conjugated vaccine with the licensed Meningococcal ACWY Conjugate Vaccine in adolescents. *Clin Infect Dis*. 2009;49(1):e1-10.
46. Jackson LA, Jacobson RM, Reisinger KS, Anemona A, Danzig LE, Dull PM. A randomized trial to determine the tolerability and immunogenicity of a quadrivalent meningococcal glycoconjugate vaccine in healthy adolescents. *Pediatr Infect Dis J*. 2009;28(2):86-91.
47. Sakou II, Tzanakaki G, Tsoia MN, Sioumala M, Barbouni A, Kyprianou M, Papaevangelou V, Tsitsika A, Blackwell CC, Kafetzis D, Kremastinou J. Investigation of serum bactericidal activity in childhood and adolescents 3-6 years after vaccination with a single dose of serogroup C meningococcal conjugated vaccine. *Vaccine*. 2009;27:4408-11.

48. Bröker M, Dull PM, Rappuoli R, Costantino P. Chemistry of a new investigation quadrivalent meningococcal conjugate vaccine that is immunogenic at all ages. *Vaccine*. 2009;27(41):5574-80.

49. São Paulo. Secretaria de Estado da Saúde. Centro de Vigilância Epidemiológica (CVE), Divisão de Doenças de Transmissão Respiratória (DDTR). Doença meningocócica: casos, coeficiente de incidência (por 100.000 habitantes) e porcentagens de doença meningocócica segundo faixa etária. Estado de São Paulo – 1998 a 2013. Disponível em: http://www.cve.saude.sp.gov.br/htm/resp/dm_cfeta.htm

50. Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. Nota Técnica – Surto de doença meningocócica sorogrupo C em Porto Seguro/BA. Disponível em: http://portal.saude.gov.br/portal/saude/profissional/area.cfm?id_area=1563

51. São Paulo. Secretaria de Estado da Saúde. Coordenadoria de Controle de Doenças. Centro de Vigilância Epidemiológica “Prof. Alexandre Vranjac”. Divisão de Doenças de Transmissão Respiratória e Divisão de Imunização. Relatório de Investigação Epidemiológica – 23/01/2008 – Doença meningocócica (DM) por sorogrupo C no Município do Guarujá e Situação epidemiológica na Baixada Santista. Disponível em: http://www.cve.saude.sp.gov/htm/cve_meni.html

52. São Paulo. Secretaria de Estado da Saúde. Coordenadoria de Controle de Doenças. Centro de Vigilância Epidemiológica “Prof. Alexandre Vranjac”. Divisão de Doenças de Transmissão Respiratória e Divisão de Imunização. Nota técnica. Assunto: Surto de doença meningocócica por

- sorogrupo C em São José do Rio Preto/SP – 01/08/2008. Disponível em:
ftp://ftp.cve.saude.sp.gov.br/doc_tec/resp/NT08_MENI_RIOPRETO.pdf
53. Calendário Vacinal 2013 – Recomendações da Sociedade Brasileira de
Pediatría. Disponível em:
http://www.sbp.com.br/pdfs/calendarioVacinal2013_aprovado1.pdf
54. Calendário de Vacinação da Criança - Recomendações da Sociedade
Brasileira de Imunizações (SBIm) – 2013/2014. Disponível em:
http://www.sbim.org.br/wp-content/uploads/2013/06/crianca_calendarios-sbim_2013-2014_130621.pdf
55. Lepow ML, Goldschneider I, Gold R, Randolph M, Gotschlich EC.
Persistence of antibody following immunization of children with groups A
and C meningococcal polysaccharide vaccines. *Pediatrics*. 1977;60:673-
80.
56. Danzig L. Meningococcal vaccines. *Pediatr Infect Dis J*. 2004;23(12
Supl):S285-92.
57. Borrow R, Goldblatt D, Andrews N, Richmond P, Southern J, Miller E.
Influence of prior meningococcal C polysaccharide vaccination on the
response and generation of memory after meningococcal C conjugate
vaccination in young children. *J Infect Dis*. 2001;184:377-80.
58. Granoff DM, Feavers IM, Borrow R. Meningococcal vaccines. In: Ploktin
S, Orenstein WA, editors. *Vaccines*. 4th ed. Philadelphia: Elsevier; 2004.
p.959-88.

-
59. Lesinski GB, Westerink MA. Novel vaccine strategies to T-independent antigens. *J Microbiol Methods*. 2001;47:135-49.
60. Richmond P, Borrow R, Miller E, Clark S, Sadler F, Fox A, Begg N, Morris R, Cartwright K. Meningococcal serogroup C conjugate vaccine is immunogenic in infancy and primes for memory. *J Infect Dis*. 1999; 179:1569-72.
61. de Voer RM, van der Klis FR, Engels CW, Schepp RM, van der Kasstele J, Sanders EA, Rijkers GT, Berbers GA. Kinetics of antibody responses after primary immunization with meningococcal serogroup C conjugate vaccine or secondary immunization with either conjugate or polysaccharide vaccine in adults. *Vaccine*. 2009;27(50):6974-82.
62. Gasparini R, Rizzetto R, Sasso T, Rizzitelli E, Manfredi P, Risso D, Gentile C, Ciofi degli Atti M, Panatto D. Seroprevalence of bactericidal antibody against *Neisseria meningitidis* serogroup C in pre-vaccinal era: The Italian epidemiological scenario. *Vaccine*. 2009;27(25-26):3435-8.
63. Balmer P, Falconer M, McDonald P, Andrews N, Fuller E, Riley C, Kaczmarek E, Borrow R. Immune response to meningococcal serogroup C conjugate vaccine in asplenic individuals. *Infect Immun*. 2004;72(1):332-7.
64. Yu JW, Borkowski A, Danzig L, Reiter S, Kavan P, Mazer BD. Immune response to conjugated meningococcal C vaccine in pediatric oncology patients. *Pediatr Blood Cancer*. 2007;49:918-23.

-
65. Zonneveld-Huijssoon E, Ronaghy A, Van Rossum MA, Rijkers GT, van der Klis FR, Sanders EA, Vermeer-De Bondt PE, Hoes AW, van der Net JJ, Engels C, Kuis W, Prakken BJ, Van Tol MJ, Wulffraat NM. Safety and efficacy of meningococcal C vaccination in juvenile idiopathic arthritis. *Arthritis Rheum.* 2007;56:639-46.
66. Collins CL, Ruggeberg JU, Balfour G, Tighe H, Archer M, Bowen-Morris J, Diggle L, Borrow R, Balmer P, Buttery JP, Moxon ER, Pollard AJ, Heath PT. Immunogenicity and immunologic memory of meningococcal C conjugate vaccine in premature infants. *Pediatr Infect Dis J.* 2005;24:966-8.
67. Stoehr GA, Luecken J, Zielen S, Eber SW, Borrow R, Rose MA. Mode of splenectomy and immunogenicity of meningococcal vaccination in patients with hereditary spherocytosis. *Br J Surg.* 2008;95:466-71.
68. Zlamy M, Elias J, Vogel U, Frosch M, Jeller V, Cortina G, Jungraithmayr T, Prelog M. Immunogenicity of conjugate *Meningococcus* C vaccine in pediatric solid organ transplant recipients. *Vaccine.* 2011;29:6163-6.
69. Siberry GK, Williams PL, Lujan-Zilbermann J, Warshaw MG, Spector SA, Decker MD, Heckman BE, Demske EF, Read JS, Jean-Philippe P, Kabat W, Nachman S; IMPAACT P1065 Protocol Team. Phase I/II, open-label trial of safety and immunogenicity of Meningococcal (Groups A,C,Y and W-135) Polysaccharide Diphtheria Toxoid Conjugate Vaccine in Human Immunodeficiency Virus-Infected Adolescents. *Pediatr Infect Dis J.* 2010;29:391-6.

-
70. Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde, Programa Nacional de DST e Aids. Recomendações para Terapia Antirretroviral em Adultos Infectados pelo HIV 2008. Brasília (DF); 2008. p.29-30.
71. Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de DST, Aids e Hepatites Virais. Coordenação de Cuidado e Qualidade de Vida. Protocolo Clínico e Diretrizes Terapêuticas para Adultos Vivendo com HIV/Aids – Versão Preliminar. Brasília (DF); 2013. p.13-5.
72. Browner WS, Newman TB, Hulley SB. Estimating sample size and power: applications and examples. In: Hulley SB, Cummings SR, Browner WS, Grady DG, Newman TB. Designing clinical research. 3th ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins;2007. p.65-93.
73. Borrow R, Andrews N, Goldblatt D, Miller E. Serological basis for use of meningococcal serogroup C conjugate vaccines in the United Kingdom: reevaluation of correlates of protection. *Infect Immun*. 2001;69:1568-73.
74. Andrews N, Borrow R, Miller E. Validation of serological correlate of protection for meningococcal conjugated vaccine by using efficacy estimates from postlicensure surveillance in England. *Clin Diagn Lab Immunol*. 2003;10:780-6.

-
75. Back GI, Caramelli B, Pellanda L, Duncan B, Mattos S, Fonseca FH. I Diretriz Brasileira para a Prevenção da Aterosclerose na Infância e na Adolescência. *Arq Bras Cardiol.* 2005;85(Suppl 6):4-36.
76. Vipond C, Care R, Feavers IM. History of meningococcal vaccines and their serological correlates of protection. *Vaccine.* 2012;30S: B10-B17.
77. Goldschneider I, Gotschlich EC, Artenstein MS. Human immunity to the meningococcus. I: The role of humoral antibodies. *J Exp Med.* 1969;129:1307-26.
78. Snape MD, Pollard AJ. Meningococcal polysaccharide-protein conjugate vaccines. *Lancet Infect Dis.* 2005;5:21-30.
79. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Prevention and Control of Meningococcal Disease: Recommendations of the Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP). *MMWR Morb Mortal Wkly Rep.* May 27, 2005/54 (n° RR-7). Disponível em: <http://www.cdc.gov/mmwr/pdf/rr/rr5407.pdf>>.
80. Makela PH, Kayhty H, Weckstrom P, Sivonen A, Renkonen OV. Effect of group-A meningococcal vaccine in army recruits in Finland. *Lancet.* 1975;2(7941):883-6.
81. Peltola H, Makela PH, Kayhty H, Jousimies H, Herva E, Hallstrom K, Sivonen A, Renkonen OV, Pettay O, Karanko V, Ohvonen P, Sarna S. Clinical efficacy of meningococcus group A capsular polysaccharide

- vaccine in children three months to five years of age. *N Engl J Med.* 1977;297(13):686-91.
82. Holder PK, Maslanka SE, Pais LB, Dykes J, Plikaytis BD, Carlone GM. Assignment of *Neisseria meningitidis* serogroup A and C class-specific anticapsular antibody concentration to the New Standard Reference Serum CDC1992. *Clin Diagn Lab Immunol.* 1995;2(2):132-7.
83. Vermont C, Dobbelsteen G. *Neisseria meningitidis* serogroup B: laboratory correlates of protection. *FEMS Immunol Med Microbiol.* 2002;34:89-96.
84. Sikkema DJ, Friedman KE, Corsaro B, Kimura A, Hildreth SW, Madore DV, Quataert SA. Relationship between serum bactericidal activity and serogroup-specific immunoglobulin G concentration for adults, toddlers, and infants immunized with *Neisseria meningitidis* serogroup C vaccines. *Clin. Diagn. Lab Immunol.* 2000;7(5):764-8.
85. Granoff DM, Maslanka SE, Carlone GM, Plikaytis BD, Santos GF, Mokatrín A, Raff HV. A modified enzyme-linked immunosorbent assay for measurement of antibody responses to meningococcal C polysaccharide that correlate with bactericidal responses. *Clin Diagn Lab Immunol.* 1998; 5(4):479-85.
86. Maslanka SE, Tappero JW, Plikaytis BD, Brumberg RS, Dykes JK, Gheesling LL, Donaldson KBJ, Schuchat A, Pullman J, Jonnes MN, Bushmaker J, Carlone GM. Age-dependent *Neisseria meningitidis* serogroup C class-specific antibody concentrations and bactericidal titers

- in sera from young children from Montana immunized with a licensed polysaccharide vaccine. *Infect and Immun.* 1998;66(6):2453-59.
87. Granoff DM, Donnelly JJ. A modified ELISA for measurement of high-avidity IgG antibodies to meningococcal serogroup C polysaccharide that correlate with bactericidal titers. *Methods Mol Med.* 2001;66:305-15.
88. Zhu BQ, Xu L, Zhou HJ, Shao ZJ. Comparison on the levels of human serum antibody against *Neisseria meningitidis* serogroup C measured using serum bactericidal assay and ELISA. *Zhonghua Liu Xing Bing Xue Za Zhi.* 2012;33(5):521-4. (Abstract, PUBMED 2012).
89. Maslanka SE, Gheesling LL, Libutti DE, Donaldson KB, Harakeh HS, Dykes JK, Arhin FF, Devi SJ, Frasch CE, Huang JC, Kriz-Kuzemenska P, Lemmon RD, Lorange M, Peeters CC, Quataert S, Tai JY, Carlone GM. Standardization and a multilaboratory comparison of *Neisseria meningitidis* serogroup A and C serum bactericidal assays. *Clin Diagn Lab Immunol.* 1997;4:156-67.
90. Borrow R, Carlone GM. Serogroup B and C serum bactericidal assays. In: Pollard AJ, Maiden MCJ, editors. *Meningococcal Vaccines - Methods and Protocols.* Totowa, NJ: Humana Press; 2001. p.289-304.
91. Gheesling LL, Carlone GM, Pais LB, Holder PF, Maslanka SE, Plikaytis BD, Achtman M, Densen P, Frasch CE, Käyhty H. Multicenter comparison of *Neisseria meningitidis* serogroup C anti-capsular polysaccharide antibody levels measured by a standardized enzyme-linked immunosorbent assay. *J Clin Microbiol* 1994;32(6):1475-82.

-
92. Borrow R, Aaberge IS, Santos GF, Eudey TL, Oster P, Glennie A, Findlow J, Hoiby EA, Rosenqvist E, Balmer P, Martin D. Interlaboratory standardization of the measurement of serum bactericidal activity by using human complement against meningococcal serogroup B, Strain 44/76-SL, before and after vaccination with the Norwegian MenBvac outer membrane vesicle vaccine. *Clin Diagn Lab Immunol*. 2005;12:970-6.
93. Elie CM, Holder PK, Romero-Steiner S, Carlone GM. Assignment of additional anticapsular antibody concentrations to the *Neisseria meningitidis* group A, C, Y, and W-135 meningococcal standard reference serum CDC1992. *Clin. Diagn. Lab Immunol*. 2002;9:725-6.
94. Snape MD, Kelly DF, Lewis S, Banner C, Kibwana L, Moore CE, Diggle L, John T, Yu LM, Borrow R, Borkowski A, Nau C, Pollard AJ. Seroprotection against serogroup C meningococcal disease in adolescents in United Kingdom: observational study. *BMJ*. 2008 ;336:1487-91.
95. American Academy of Pediatrics. Committee on Infectious Diseases. Meningococcal conjugate vaccines policy update: booster dose recommendations. *Pediatrics*. 2011;128:1213-18.
96. Centers for Disease Control and Prevention. Update recommendations for use of meningococcal conjugate vaccines – Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP), 2010. *Morbidity and Mortality Weekly Report (MMWR)*. 2011;60(3):72-6.
97. Centers for Disease Control and Prevention. Prevention and control of meningococcal disease – Recommendations of the Advisory Committee

- on Immunization Practices (ACIP). Morbidity and Mortality Weekly Report (MMWR). 2013;62(2):1-28.
98. Siberry GK, Warshaw MG, Williams PL, Spector SA, Decker MD, Jean-Philippe P, Yogev R, Heckman BE, Manzella A, Roa J, Nachman S, Lujan-Zilbermann J, IMPAACT P1065 Protocol Team. Safety and immunogenicity of quadrivalent meningococcal conjugate vaccine in 2- to 10-year-old Human Immunodeficiency Virus-Infected children. *Pediatr Infect Dis J*. 2012;31:47-52.
99. Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de DST, Aids e Hepatites Virais. Comitê Assessor em Terapia Antirretroviral em Crianças e Adolescentes Infectados pelo HIV. Recomendações para terapia antirretroviral em crianças e adolescentes infectados pelo HIV 2013 – Versão preliminar. Brasília (DF); 2013. p.32-41.
100. MacDonald NE, Halperin SA, Law BJ, Danzig LE, Granoff DM. Can meningococcal C conjugate vaccine overcome immune hyporesponsiveness induced by previous administration of plain polysaccharide vaccine? *JAMA*. 2000;283:1826-7.
101. Poolman J, Borrow R. Hyporesponsiveness and its clinical implications after vaccination with polysaccharide or glycoconjugate vaccines. *Expert Rev Vaccines*. 2011;10(3):307-22.
102. Borrow R, Richmond P, Kaczmarek EB, Iverson A, Martin SL, Findlow J, Acuna M, Longworth E, O'Connor R, Paul J, Miller E. Meningococcal serogroup C-specific IgG antibody responses and serum bactericidal titres

- in children following vaccination with a meningococcal A/C polysaccharide vaccine. *FEMS Immunol Med Microbiol.* 2000;28:79-85.
103. Amir J, Scott MG, Nahm MH, Granoff DM. Bactericidal and opsonic activity of IgG1 and IgG2 anticapsular antibodies to *Haemophilus influenza* type b. *J Infect Dis.* 1990;162:163-71.
104. Le Guillou H, Le Meur A, Bourdon S, Riou M, Loison J, Fialaire P, Chennebault JM, Kouyoumdjian S, Payan C. Antibody avidity: use for the diagnosis of HIV early infection. *Ann Biol Clin.* 2001;59:41-7.
105. Lange CG, Lederman MM, Medvik K, Asaad R, Wild M, Kalayjian R, Valdez H. Nadir CD4+ T-cell count and numbers of CD28+ CD4+ T-cells predict functional responses to immunizations in chronic HIV-1 infection. *AIDS.* 2003;17:2015-23.
106. Tabuchi S. Vacina meningocócica do grupo C, conjugada – CRM 197 (bula da vacina). São Paulo: Blasiegel / Novartis Vaccines and Diagnostics; 2006.
107. Novartis Biociências S.A. – Divisão de Vacinas. Vacina meningocócica C conjugada - Monografia da vacina.

Bibliografia consultada

1. Goldschneider I, Gotschlich EC, Artenstein MS. Human immunity to the meningococcus II: Development of natural immunity. *J Exp Med.* 1969;129(6):1327-48.
2. Gotschlich EC, Goldschneider I, Artenstein MS. Human immunity to the meningococcus IV: Immunogenicity of group A and C

meningococcal polysaccharides in human volunteers. J Exp Med. 1969;129(6):1367-84.

3. Silva MAA. Doença Meningocócica. In: Ballalai I. Manual Prático de Imunizações. 1ª ed. São Paulo: A.C. Farmacêutica;2013:179-92.
4. Richmond P, Borrow R, Goldblatt D, Findlow J, Martin S, Morris R, Cartwright K, Miller E. Ability of 3 different meningococcal C conjugate vaccines to induce immunologic memory after a single dose in UK toddlers. J Infect Dis. 2001;183:160-3.

APÊNDICES

Artigo publicado – Vaccine 30 (2012) 5482–5486.

Vaccine 30 (2012) 5482–5486

Contents lists available at SciVerse ScienceDirect

Vaccine

journal homepage: www.elsevier.com/locate/vaccine

Immunogenicity of a meningococcal serogroup C conjugate vaccine in HIV-infected children, adolescents, and young adults

Daniela Vinhas Bertolini^{a,*}, Luciana Scarlazzari Costa^b, Inneke Marie van der Heijden^c, Helena Keiko Sato^{d,e}, Heloísa Helena de Sousa Marques^e^a Centro de Referência e Treinamento em DST/Aids - Programa Estadual São Paulo - São Paulo, Brazil^b Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro, Department of Mathematics and Statistics - Rio de Janeiro, Brazil^c Laboratório de Investigação Médica 54 (LIM-54, Laboratory for Medical Research 54), Hospital das Clínicas, Department of Infectious Diseases, Universidade de São Paulo - São Paulo, Brazil^d Divisão de Imunização da Secretaria de Saúde do Estado de São Paulo - São Paulo, Brazil^e Instituto da Criança do Hospital das Clínicas da Universidade de São Paulo, Department of Pediatric Infectious Diseases - São Paulo, Brazil

ARTICLE INFO

Article history:

Received 27 September 2011

Received in revised form 20 June 2012

Accepted 22 June 2012

Available online 6 July 2012

Keywords:

HIV

Meningococcal vaccine

Immunization

Children

Adolescents

ABSTRACT

Children and adolescents infected with HIV typically have a lower response to immunization than do those in the general population. In most developed countries, meningococcal serogroup C conjugate vaccine is one of the recommended vaccines for such individuals. However, there have been no studies evaluating the antibody response to this vaccine in HIV-infected children, adolescents or young adults. In this study, we evaluated that response using serum bactericidal antibody (SBA) and enzyme-linked immunosorbent assay, comparing HIV-infected with non-HIV-infected patients, as well as analysing the occurrence of side effects. In non-responders, we assessed the antibody response to revaccination. This clinical trial involved 92 patients between 10 and 20 years of age: 43 HIV-infected patients (HIV+ group) and 49 non-HIV-infected patients (HIV- group). After one dose of the vaccine, 72.1% of the HIV+ group patients and 100% of the HIV- group patients were considered protected. Of the HIV+ group patients who received a second dose of the vaccine, only 40% acquired protection. Overall, 81.4% of the HIV+ group patients acquired protection (after one or two doses of the vaccine). Side effects occurred in 16.3% and 44% of the HIV+ group and HIV- group patients, respectively. Therefore, the meningococcal serogroup C conjugate vaccine proved to be safe and effective for use in HIV-infected children, adolescents, and young adults, although their antibody response was weaker than that shown by non-HIV-infected patients. This indicates the need to discuss changes to the immunization schedule for children, adolescents, and young adults infected with HIV, in order to ensure more effective protection against meningococcal disease.

© 2012 Elsevier Ltd. All rights reserved.

1. Introduction

In childhood and adolescence, AIDS typically presents with severe humoral immune dysfunction related to infections caused by encapsulated bacteria, such as *Neisseria meningitidis*, *Streptococcus pneumoniae*, and *Haemophilus influenzae* [1,2]. Studies indicate that the incidence of bacterial meningitis is higher in AIDS patients than in the general population. This might be directly related to CD4 count, given that the risk of developing bacterial meningitis is already 40–50 times greater in HIV-infected adults with CD4 counts

above 200 cells/mm³, whereas it is 400 times greater in those with CD4 counts below 200 cells/mm³ [3]. The etiology of bacterial meningitis is most often related to meningococcal or pneumococcal disease [3]. Infection with HIV has been implicated as a risk factor for the development of and mortality from meningococcal disease [4,5].

One of the pillars of HIV treatment is the use of vaccines for preventable diseases. It is known that routine immunization is less efficient in HIV-infected individuals than in the general population. The damage caused by HIV is associated with fairly constant viral replication and has a major effect on the immunological memory elicited by vaccines. In general, the immunization of HIV-infected individuals is safe and beneficial, with few side effects, although live virus or bacteria vaccines should be used with caution in severely immunocompromised individuals [6,7].

Meningococcal serogroup C conjugate vaccine is frequently recommended for HIV-infected children and adolescents, in Brazil and

* Corresponding author at: Centro de Referência e Treinamento em DST/Aids - Programa Estadual São Paulo, Rua Santa Cruz, 81 - Hospital Dia - Pediatria - Vila Mariana - São Paulo, CEP 04121-000, Brazil. Tel.: +55 1150879877; fax: +55 1150879877.

E-mail address: danielabertolini@hotmail.com (D.V. Bertolini).

many other countries [8–10]. Its immunogenicity is extremely high (>95%) in immunocompetent populations [11–13]. Previous clinical studies involving non-HIV-infected populations of immunocompromised individuals have shown variable responses to vaccines, depending on the existing degree of immunosuppression [14–18].

There have been no studies evaluating the specific efficacy of the meningococcal serogroup C conjugate vaccine, when used in isolation, in AIDS patients. A recent study of the use of the quadrivalent meningococcal conjugate vaccine (against serogroups A, C, Y, and W135) showed a 52% response to serogroup C in HIV-infected individuals [19]. Although the use of the quadrivalent vaccine is recommended in the United States, the only meningococcal conjugate vaccine available in Brazil and in most other countries is that against serogroup C. Although the use of the meningococcal serogroup C conjugate vaccine is recommended in guidelines for the treatment of pediatric HIV/AIDS, there are as yet no data regarding its effectiveness. Therefore, the investigation of its use in children and adolescents with AIDS might provide information about the response to this vaccine, as well as its potential for preventing meningococcal disease.

The main objective of this study was to evaluate the antibody response to the meningococcal serogroup C conjugate vaccine in HIV-infected children, adolescents, and young adults. Additional objectives included determining whether the immunity acquired correlated with clinical, viral, and immunological parameters of infection; analysing the response to a second dose of the vaccine, if necessary; and reporting any side effects of the vaccine.

2. Methods

2.1. Study design

This was a prospective clinical trial involving a cumulative sample of HIV-infected children, adolescents, and young adults (HIV+ group) and age-matched non-HIV individuals (HIV– group). The sample size was calculated considering an expected rate of 60% of subjects with a post-vaccination serum bactericidal antibody (SBA) titer ≥ 8 , assuming an actual proportion of 90%. To compensate for a potential loss of 20%, we selected 40 subjects for inclusion in each group. The method employed was hypothesis testing for comparing two proportions [20].

All subjects were recruited among patients treated at the Instituto da Criança do Hospital das Clínicas da Universidade de São Paulo, Department of Pediatric Infectious Diseases – Brazil or at the Centro de Referência e Treinamento em DST/Aids – Programa Estadual São Paulo – Brazil, both located in the city of São Paulo, Brazil. Patients were considered eligible if they were between 10 and 20 years of age, had never been vaccinated with meningococcal serogroup C conjugate vaccine, had no prior history of meningococcal disease or meningitis of undetermined etiology, had not used corticosteroids at immunosuppressive doses, had not been treated with immunosuppressive therapy or chemotherapy, and presented with no evidence of significant dyslipidemia [21]. The inclusion criteria for the HIV+ group were being HIV-infected, having a CD4 count ≥ 100 cells/mm³, and not having received immunoglobulin therapy within the last six months. The inclusion criterion for the HIV– group was having no underlying disease that would result in immunosuppression or would require immunosuppressive therapy. The HIV– group patients with unknown HIV serologic status were submitted to a rapid HIV test to confirm that status.

We collected demographic, clinical, viral and immunological data at inclusion. All patients underwent an initial blood test to determine pre-vaccination SBA titers, after which they were vaccinated with the meningococcal serogroup C conjugate vaccine in isolation (i.e., no other vaccine was administered). Patients were

submitted to a second blood test within 30 days after the vaccination (allowing the comparison of pre- and post-vaccination SBA titers). In addition to the immune response, side effects related to the vaccine were also analyzed.

Patients who did not reach the antibodies levels that are considered protective in healthy populations (the only data available, as there are no specific data regarding the HIV-infected population) after the initial dose of the vaccine were indicated for a second dose. In those cases, additional blood samples were collected prior to and following the second dose vaccination [11,12].

The meningococcal serogroup C conjugate vaccine used in this study was CRM197 (conjugated meningococcal C oligosaccharide-CRM197, a protein of *Corynebacterium diphtheriae*; Chiron/Novartis Vaccines, Siena, Italy). The vaccine was procured and provided by the Brazilian National Ministry of Health.

The study was approved by the research ethics committees of both participating institutions. Written informed consent was obtained from the young adult patients or, for children and adolescents, from their parents or legal guardians.

2.2. Laboratory testing

Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) and SBA were performed according to previously described protocols [22–25]. In some specific populations and in patients at risk for certain conditions, such as meningococcal disease, serologic markers are used in order to determine vaccine effectiveness. The internationally accepted serologic correlate of protection against infection (the gold standard) in healthy individuals is an SBA titer ≥ 4 when human-derived complement is used or an SBA titer ≥ 8 when baby rabbit complement is used [26–29]. Some authors have stated that the post-vaccination SBA titer should be ≥ 128 , or a 4-fold increase over the pre-vaccination SBA titer [29,30]. Another way to confirm acquired immunity is by identifying a substantial post-vaccination increase in the titles of meningococcal serogroup C anticapsular antibodies, as measured by ELISA, with the minimum acceptable concentration (minimum level considered to be protective) being 2 μ g/ml [31–34].

Because this study involved immunocompromised patients, we established minimum acceptable levels of protection: an SBA titer ≥ 8 with baby rabbit complement (Pel-Freez Biologicals, Rogers, AR, USA) and control sera (CDC1992, Centers for Disease Control and Prevention [CDC], Atlanta, GA, USA); and a 4-fold increase over the pre-vaccination SBA titer. We analyzed the statistical difference between the pre- and post-vaccination ELISA antibody concentrations, considering the minimum acceptable post-vaccination concentration of 2 μ g/ml. Patients who received a second dose of the vaccine were evaluated using the same criteria.

2.3. Statistical analysis

The ELISA and SBA results and their respective 95% confidence intervals (95% CIs) were expressed as geometric mean concentrations (GMC) and geometric mean titers (GMT). The relationship between those titers and variables such as clinical and laboratory HIV, were evaluated with Chi-square test (χ^2) or Fisher's exact test, as appropriate.

Comparisons between the two groups in terms of the ELISA and SBA results were performed by Student's *t*-test or the Mann–Whitney test. Mean pre- and post-vaccination titers (ELISA and SBA) were compared by paired Student's *t*-test or the Wilcoxon test. Intragroup differences between pre- and post-vaccination values were considered statistically significant at a level of 5%. In addition, a difference between two groups of similar size and similar variance whose 95% CIs do not overlap was considered

Table 1

Response to vaccination with meningococcal serogroup C conjugate vaccine in HIV-infected and non-HIV-infected children, adolescents, and young adults.

Variable	Group		p-Value
	HIV-infected (n = 43)	Non-HIV-infected (n = 49)	
SBA titer			
Pre-vaccination, GMT (95% CI)	19.95 (4.48–35.43)	39.96 (13.09–66.83)	0.081 ^a
Post-vaccination, GMT (95% CI)	500.33 (266.51–734.14)	2873.47 (2019.10–3727.73)	<0.001 ^a
ELISA (μg/ml)			
Pre-vaccination, GMC (95% CI)	0.86 (0.36–1.36)	2.27 (1.26–3.29)	0.004 ^a
Post-vaccination, GMC (95% CI)	9.86 (4.75–14.97)	18.71 (11.98–25.42)	0.001 ^a
SBA titer			
Pre-vaccination			
≥8, n (%)	7 (16.3)	17 (34.7)	0.032 ^b
Post-vaccination			
≥8, n (%)	35 (81.4)	49 (100.0)	NA
Increase over baseline			
≥4-fold, n (%)	31 (72.1)	49 (100.0)	NA
Response to vaccine			
Yes, n (%)	31 (72.1)	49 (100.0)	NA
Side effects			
Yes, n (%)	7 (16.3)	22 (44.0)	0.004 ^b

SBA: serum bactericidal antibody; GMT: geometric mean titer; CI: confidence interval; ELISA: enzyme-linked immunosorbent assay; GMC: geometric mean concentration; NA: not available.

^a Mann–Whitney Test.^b Chi-square test.

significant at a level of approximately 5%, thus enabling significant differences between groups to be assessed by non-overlapping CIs.

Chi-square tests (χ^2) or Fisher's exact tests were used to compare the groups in terms of the proportions of patients with SBA titers ≥ 8 , patients showing a 4-fold rise in SBA titers, patients who responded to the vaccine, and patients who experienced side effects.

The remaining variables of the study, including sociodemographic and clinical variables, were analyzed by descriptive statistics – mean (standard deviation) or median (minimum and maximum) – when quantitative and by proportions when qualitative.

A level of significance of 5% was considered for all statistical tests. The statistical software used in all analysis was the Statistical Package for the Social Sciences, version 14.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA).

3. Results

3.1. Patients

We included a total of 92 individuals in the study (mean age = 13.9 years, range 10–19 years), from May to December 2009: 43 in the HIV+ group (mean age = 13.8 years; range 10–19 years); and 49 in the HIV– group (mean age = 13.9 years; range 10–19 years). In the sample as a whole and in each of the two groups, 52.7% of the patients were female and 47.3% were male. All of the patients in the HIV+ group were under treatment with highly active antiretroviral therapy (HAART). There were no losses in either of the study groups.

3.2. Response to meningococcal vaccine

As shown in Table 1, the mean level of post-vaccination response was higher in the HIV– group than in the HIV+ group, whether evaluated by ELISA ($p = 0.001$) or by SBA ($p < 0.001$). The differences between groups are evidenced by the non-overlapping 95% CIs.

Before vaccination, the percentage of patients with SBA titers ≥ 8 was higher in the HIV– group than in the HIV+ group (34.7% vs. 16.3%). There were significant differences between the two groups in terms of these titers (Table 1). In the HIV+ group, 35 (81.4%) of the patients had a post-vaccination SBA titer ≥ 8 , compared with 100%

of those in the HIV– group. A 4-fold increase in the SBA titer after vaccination was observed in 31 (72.1%) of the HIV+ group patients, again compared with 100% of those in the HIV– group (Table 1).

We defined a positive antibody response to the vaccine as the combination of the established protective criteria (a post-vaccination SBA titer ≥ 8 and a 4-fold increase over the initial titer). Of the 43 HIV+ group patients, 31 (72.1%) had a positive response and were considered protected, whereas 12 (27.9%) did not respond and were considered unprotected (Table 1). In the HIV– group, 100% of the patients acquired protection with a single dose of the vaccine. In the HIV+ group, 30 patients had post-vaccination ELISA levels $> 2 \mu\text{g/ml}$, and 31 showed a 4-fold increase over the initial SBA titer. The only case in which there was no concordance between the two tests had a SBA titer close to the protection limit. Therefore, revaccination was recommended to all 12 patients who were considered unprotected.

In the HIV+ group, the antibody response was not found to be significantly associated with clinical variables or with the results of viral and immunological tests. Responders and non-responders presented the same clinical profile (CDC classification B and C), immunological profile (absolute CD4 count $> 350 \text{ cells/mm}^3$; proportion $> 25\%$), and virological profile (viral loads below the detection limit in most cases). None of the patients experienced treatment failure during the study period.

3.3. Pre- and post-vaccination antibody levels

Comparing pre- and post-vaccination SBA titers, we found that there was an increase in the mean SBA titer in both groups (Table 1). The differences between the pre- and post-vaccination SBA were statistically significant for both groups ($p < 0.001$; Wilcoxon test). The same was true for the pre- and post-vaccination ELISA levels ($p < 0.001$; Wilcoxon test). Those differences are also evidenced by the non-overlapping 95% CIs.

The two groups were comparable in terms of the mean pre-vaccination SBA titer ($p = 0.08$). However, as shown in Table 1, the mean pre-vaccination ELISA level was significantly higher in the HIV– group than in HIV+ group ($p = 0.004$). The mean post-vaccination SBA titer was significantly higher in the HIV– group than in HIV+ group (2873.47 vs. 500.33; $p < 0.001$), as was the mean post-vaccination ELISA level (18.71 vs. 9.86; $p = 0.001$). We

Table 2

Side effects of vaccination with meningococcal serogroup C conjugate vaccine in HIV-infected and non-HIV-infected children, adolescents, and young adults.

Side effects	Group	
	HIV-infected (n = 7)	Non-HIV-infected (n = 22)
Pain	5	20
Pain and fever ^a	0	1
Pain, erythema, and induration	0	1
Pain and myalgia	1	0
Pain and diarrhea	1	0

^a Fever defined as an axillary temperature $\geq 37.8^{\circ}\text{C}$.

also observed differences between the two groups in terms of the magnitude of the response (Table 1).

3.4. Response to revaccination

As previously mentioned, 12 HIV+ group patients did not acquire protection after the first dose of the vaccine. However, only 10 of these patients received the second dose. One patient was excluded because she was pregnant at this stage of the study, and another abandoned the protocol.

After the second dose of the meningococcal serogroup C conjugate vaccine, only 4 of the 10 patients showed a positive immune response, achieving the established minimum protection ($\geq$ a 40% response to the revaccination). In 5 of the 10, the titer remained unchanged. One of the non-responders showed a slight (2-fold) rise in the SBA titer. Only 4 of the 10 patients attained ELISA antibody levels $>2\text{ }\mu\text{g/ml}$ after the second dose of the vaccine.

We found that the magnitude of the SBA GMT was greater after the first dose of the vaccine than after the second: mean, 690.6 ± 820.9 vs. 56.0 ± 16.0 ; and median, 512.0 (32.0–4096.0) vs. 64.0 (32.0–64.0). The mean time between the two doses of the vaccine was 347.3 ± 68.5 days—median, 312.0 days (259.0–458.0 days).

The overall antibody response in HIV-infected patients receiving one or two doses of the meningococcal serogroup C conjugate vaccine was 81.4% (35 of the 43 patients evaluated). Of the 35 responders, 31 had received a single dose and 4 had received two doses.

3.5. Side effects

As shown in Table 1, after the first dose of the vaccine, side effects were observed in 16.3% of the HIV+ group patients and in 44% of the HIV– group patients ($p = 0.004$). The reported side effects are shown in Table 2. No side effects were reported among the 10 patients who received a second (booster) dose of the vaccine.

4. Discussion

In the present study, 72.1% of the HIV-infected patients evaluated were responsive to a single dose of meningococcal serogroup C conjugate vaccine (as is usually recommended), and this rate increased to 81.4% when those receiving a second dose were included. However, 100% of the non-HIV-infected patients achieved protective levels after receiving the first dose, a result that is consistent with those of other studies involving healthy children or adolescents [35–38]. The magnitude of the antibody response obtained was significantly smaller in the HIV-infected patients than in the non-HIV-infected patients.

The differences found were expected, given the results of studies of the use of other vaccines in HIV-infected patients. In general, the response to vaccination was weaker in HIV-infected patients

than in those not so infected. However, the response obtained in the present study was significant for the prevention of meningococcal disease in such a susceptible population. It is of note that two doses provided better results than did a single dose. These results are in accordance with a recent publication of the Advisory Committee on Immunization Practices of the Centers for Disease Control and Prevention and the American Academy of Pediatrics, which recommends an immunization schedule with two doses of the quadrivalent conjugate vaccine (serogroups A, C, Y, and W135) for HIV-infected patients [39]. Nevertheless, in our study only 40% of the HIV-infected patients who were revaccinated responded to the booster dose, possibly due to immune system dysfunction caused by the HIV. It is debatable whether the interval between the two doses influenced the response in those patients. Further studies, with shorter intervals between doses, are needed in order to evaluate such aspect.

We found that the antibody response in HIV-infected patients did not correlate with clinical variables or with the results of viral and immunological tests. Therefore, the responders and non-responders presented the same profile: CDC classification B and C; absolute CD4 count $>350\text{ cells/mm}^3$ (with a proportion $>25\%$); and viral loads below the detection limit in most cases. The HIV+ group showed very similar characteristics since the beginning, but no sample was calculated to determine the associations between those variables. Therefore, we were unable to identify a group with potential characteristics for a worse response to vaccine. This can be considered a limitation of this study. In a recent study, Siberry et al. evaluated the quadrivalent meningococcal conjugate vaccine in HIV-infected patients [19]. The authors found that CD4 counts and HIV viral loads correlated with the immune response achieved after vaccination. However, unlike our study, in which a CD4 count $<100\text{ cells/mm}^3$ was an exclusion criterion, that study did not exclude patients with low CD4 counts.

We found a statistically significant difference between the HIV-infected and non-HIV-infected patients in terms of the side effects of the meningococcal serogroup C conjugate vaccine, which were more common in the non-HIV-infected patients. No serious side effects were observed in either group, indicating that the vaccine is safe, as reported in prior studies [26]. One explanation for the fact that HIV-infected patients reported fewer side effects is that these patients are often submitted to medical procedures, such as blood draws and vaccinations, and might therefore be more tolerant to pain, myalgia, and other symptoms.

In conclusion, the meningococcal serogroup C conjugate vaccine was found to be effective for HIV-infected children, adolescents, and young adults, although the antibody response obtained was weaker than that obtained in the non-HIV-infected patients. Knowledge of this response could suggest the need to alter the immunization schedule for HIV patients in these age groups, probably by adding a booster dose of meningococcal vaccine, thus ensuring more effective protection against meningococcal disease.

Acknowledgements

We would like to thank the volunteers who participated in the study and their parents/guardians, as well as the nurses and other staff members, without whom this study would not have been possible.

The authors are also grateful to Sílvia Figueiredo Costa, MD, for her generous efforts in supporting the implementation and standardization of the laboratory analysis, to Bruno Stuart de Castro and Tadeu Pernichelli for their excellent laboratory technical assistance, and to Mariliza Henrique da Silva, MD, and Adriana Balduino de Azevedo for their support and encouragement.

Conflict of interest statement: None declared.

Funding: This study received financial support in the form of a grant from the Brazilian Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq, National Council for Scientific and Technological Development; Grant no. 478687/2008-7).

References

- [1] Rosenberg ZF, Fauci AS. Immunopathology and pathogenesis of HIV infection. In: Pizzo PA, Wilfert CM, editors. *Pediatric AIDS: the challenge of HIV infection in infants, children, and adolescents*. 2nd ed. Baltimore: Williams & Wilkins; 1994. p. 115–27.
- [2] Marques A, Masur H. Manifestações Clínicas da Aids. In: Veronesi R, Focaccia R, editors. *Tratado de Infectologia*. 2nd ed. São Paulo: Editora Atheneu; 2002. p. 99–121.
- [3] Rachid M, Schechter M. Manifestações clínicas. In: Rachid M, Schechter M, editors. *Manual de HIV/AIDS*. 8th ed. Rio de Janeiro: Editora Revinter; 2005. p. 7–12.
- [4] Stephens DS, Hajjeh RA, Baughman WS, et al. Sporadic meningococcal disease in adults: results of a 5-year population-based study. *Ann Intern Med* 1995;123(12):937–40.
- [5] Cohen C, Singh E, Wu HM, et al. Increased incidence of meningococcal disease in HIV-infected individuals associated with higher case-fatality ratios in South Africa. *AIDS* 2010;24(9):1351–60.
- [6] Obaro SK, Pughatch D, Luzuriaga K. Immunogenicity and efficacy of childhood vaccines in HIV-1-infected children. *Lancet Infect Dis* 2004;4(August (8)):510–8.
- [7] Moss WJ, Clements CJ, Halsey NA. Immunization of children at risk of infection with human immunodeficiency virus. *Bull World Health Organ* 2003;81(1):61–70.
- [8] Comitê Assessor em Terapia Antirretroviral em Crianças e Adolescentes Infectados pelo HIV: Ministério da Saúde do Brasil. *Recomendações para Terapia Antirretroviral em crianças e adolescentes infectados pelo HIV 2009-Suplemento I*. Brasília: Ministério da Saúde do Brasil, Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de DST, Aids e Hepatites Virais; 2010.
- [9] Coordenação de Imunizações e Auto-Suficiência em Imunobiológicos. *Manual dos Centros de Referência para Imunobiológicos Especiais*. Brasília: Ministério da Saúde do Brasil, Secretaria de Vigilância à Saúde, Programa Nacional de Imunizações; 2006.
- [10] Centers for Disease Control and Prevention (CDC), MMWR. Guidelines for the Prevention and Treatment of Opportunistic Infections among HIV-Exposed and HIV-Infected Children. August 26, 2009/58(Early Release);1–166. Available at: <http://AIDSinfo.nih.gov/> (last accessed 06.26.11).
- [11] Sáfadi MA, Barros AP. Vacinas meningocócicas conjugadas: eficácia e novas combinações. *J Pediatr* 2006;82(3 Suppl.):S35–44.
- [12] Borrow R, Miller E. Long-term protection in children with meningococcal C conjugate vaccination: lessons learned. *Expert Rev Vaccines* 2006;5(6):851–7.
- [13] Larauri A, Cano R, Garcia M, et al. Impact and effectiveness of meningococcal C conjugate vaccine following its introduction in Spain. *Vaccine* 2005;23:4097–100.
- [14] Balmer P, Falconer M, McDonald P, et al. Immune response to meningococcal serogroup C conjugate vaccine in asplenic individuals. *Infection and Immunity* 2004;72(1):332–7.
- [15] Yu JW, Borkowski A, Danzig L, et al. Immune response to conjugated meningococcal C vaccine in pediatric oncology patients. *Pediatr Blood Cancer* 2007;49:918–23.
- [16] Zonneveld-Huijssoon E, Ronaghy A, Rossum M, et al. Safety and efficacy of meningococcal C vaccination in juvenile idiopathic arthritis. *Arthritis Rheum* 2007;56(2):639–46.
- [17] Collins CL, Ruggenberg JU, Balfour G, et al. Immunogenicity and immunologic memory of meningococcal C conjugate vaccine in premature infants. *Pediatr Infect Dis J* 2005;24(11):966–8.
- [18] Stoehr GA, Lueken J, Zielen S, et al. Mode of splenectomy and immunogenicity of meningococcal vaccination in patients with hereditary spherocytosis. *Br J Surg* 2008;95:466–71.
- [19] Siberry GK, Williams PL, Lujan-Zilbermann J, et al. Phase I/II, open-label trial of safety and immunogenicity of meningococcal (Groups A,C,Y and W-135) polysaccharide diphtheria toxoid conjugate vaccine in human immunodeficiency virus-infected adolescents. *Pediatr Infect Dis J* 2010;29(5):391–6.
- [20] Browner WS, Newman TB, Cummings SR, et al. Estimating sample size and power: the nitty-gritty. In: Hulley SB, Cummings SR, editors. *Designing clinical research*. 2nd ed. Baltimore: Williams & Wilkins; 1998. p. 65–91.
- [21] Sposito AC, Caramelli B, Fonseca FA, et al. IV Diretriz Brasileira sobre Dislipidemias e Prevenção de Aterosclerose. São Paulo: Departamento de Aterosclerose da Sociedade Brasileira de Cardiologia; 2007.
- [22] Goldschneider I, Gotschlich EC, Artenstein MS. Human immunity to the meningococcus. I: the role of humoral antibodies. *J Exp Med* 1969;129:1307–26.
- [23] Maslanka SE, Ghesling LL, De Libutti KB, et al. Standardization and a multilaboratory comparison of *Neisseria meningitidis* serogroup A and C serum bactericidal assays. The multilaboratory study group. *Clin Diagn Lab Immunol* 1997;4(2):156–67.
- [24] Ghesling LL, Carlone GM, Pais LB, et al. Multicenter comparison of *Neisseria meningitidis* serogroup C anti-capsular polysaccharide antibody levels measured by a standardized enzyme-linked immunosorbent assay. *J Clin Microbiol* 1994;32(6):1475–82.
- [25] Holder PK, Maslanka SE, Pais LB, et al. Assignment of *Neisseria meningitidis* serogroup A and C class-specific anticapsular antibody concentrations to the new standard reference serum CDC1992. *Clin Diagn Lab Immunol* 1995;2(2):132–7.
- [26] Snape MD, Pollard AJ. Meningococcal polysaccharide-protein conjugate vaccines. *Lancet Infect Dis* 2005;5:21–30.
- [27] Granoff DM, Feavers IM, Borrow R. Meningococcal vaccines. In: Plotkin S, Orenstein WA, editors. *Vaccines*. 4th ed. Philadelphia: Elsevier; 2004. p. 959–88.
- [28] Borrow R, Andrews N, Goldblatt D, et al. Serological basis for use of meningococcal serogroup C conjugate vaccines in the United Kingdom: reevaluation of correlates of protection. *Infect Immun* 2001;69:1568–73.
- [29] Andrews N, Borrow R, Miller E. Validation of serological correlate of protection for meningococcal conjugated vaccine by using efficacy estimates from postlicensure surveillance in England. *Clin Diagn Lab Immunol* 2003;10:780–6.
- [30] Centers for Disease Control and Prevention (CDC), MMWR. Prevention and Control of Meningococcal Disease: Recommendations of the Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP). May 27, 2005/54 (n(RR-7)). Available at: <http://www.cdc.gov/mmwr/pdf/rr/r5407.pdf> (last accessed 06.27.11).
- [31] Makela PH, Kayhty H, Weckstrom P, et al. Effect of group-A meningococcal vaccine in army recruits in Finland. *Lancet* 1975;2:883–6.
- [32] Peltola H, Makela PH, Kayhty H, et al. Clinical efficacy of meningococcus group A capsular polysaccharide vaccine in children three months to five years of age. *N Engl J Med* 1977;297:686–91.
- [33] Holder PK, Maslanka SE, Pais LB, et al. Assignment of *Neisseria meningitidis* serogroup A and C class-specific anticapsular antibody concentration to the new standard reference serum CDC1992. *Clin Diagn Lab Immunol* 1995;2(2):132–7.
- [34] Vermont C, Dobbela G. *Neisseria meningitidis* serogroup B: laboratory correlates of protection. *FEMS Immunol Med Microbiol* 2002;34:89–96.
- [35] Danzig L. Meningococcal vaccines. *Pediatr Infect Dis J* 2004;23(12 Suppl.):S285–92.
- [36] Gasparini R, Rizzetto R, Sasso T, et al. Seroprevalence of bactericidal antibody against *Neisseria meningitidis* serogroup C in pre-vaccinal era: the Italian epidemiological scenario. *Vaccine* 2009;27:3435–8.
- [37] Choo S, Zuckerman J, Goilav C, et al. Immunogenicity and reactogenicity of a group C meningococcal conjugate vaccine compared with a group A+C meningococcal polysaccharide vaccine in adolescents in a randomised observer-blind controlled trial. *Vaccine* 2000;18:2686–92.
- [38] Snape MD, Kelly DF, Lewis S, et al. Seroprotection against serogroup C meningococcal disease in adolescents in United Kingdom: observational study. *BMJ* 2008;336:1487–91.
- [39] Committee on Infectious Diseases- American Academy of Pediatrics. Meningococcal conjugate vaccines policy update: booster dose recommendations. *Pediatrics* 2011;128:1213–8.

Artigo a ser submetido**Comparison between Serum bactericidal antibody assay (SBA) and Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) for *Neisseria meningitidis* serogroup C in adolescents and young adults with AIDS**

Daniela Vinhas Bertolini¹, Luciana Scarlazzari Costa², Bruno Stuart de Castro³, Tadeu Pernichelli⁴, Inneke Marie van der Heijden³, Helena Keiko Sato⁵, Heloísa Helena de Sousa Marques⁶

1. *Centro de Referência e Treinamento em DST/Aids - Programa Estadual São Paulo* – Sao Paulo, Brazil.

2. *Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro*, Department of Mathematics and Statistics – Rio de Janeiro, Brazil.

3. *Laboratório de Investigação Médica 54* (LIM-54, Laboratory for Medical Research 54), Department of Infectious Diseases, *Hospital das Clínicas Universidade de São Paulo* – São Paulo, Brazil.

4. *Laboratório de Química Clínica* (Laboratory of Clinical Chemistry), *Santa Casa da Misericórdia de São Paulo*, Brazil

5. *Divisão de Imunização da Secretaria de Saúde do Estado de São Paulo* – Sao Paulo, Brazil.

6. *Instituto da Criança do Hospital das Clínicas da Universidade de São Paulo*, Department of Pediatric Infectious Diseases – Sao Paulo, Brazil.

*Corresponding author at: Daniela Vinhas Bertolini - Centro de Referência e Treinamento em DST/Aids – Programa Estadual São Paulo. Rua Santa Cruz, 81 – Hospital Dia – Pediatria - Vila Mariana – São Paulo – Brazil – CEP 04121-000 – danielabertolini@hotmail.com

Running title: SBA and ELISA for Meningococcal C in AIDS patients

Abstract

The immunological response to meningococcal C conjugated vaccine can be evaluated by two different laboratory techniques: the Serum Bactericidal Activity (SBA) – which evaluates the qualitative bactericidal capacity of the antibodies – and the Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) – which quantifies the specific Serogroup C meningococcal IgG. Incompatibilities between the results of both tests have been reported. This study compared the immunological response of healthy and HIV positive adolescents and young adults before and after the administration of the meningococcal C conjugated vaccine, and evaluated the coefficient of agreement between them. Blood samples of 92 individuals were analyzed, 43 of HIV positive and 49 of HIV negative patients. We observed a positive correlation between the ELISA and SBA response for HIV positive patients, both before and after vaccination ($r=0.62$; $p=0.006$ before; $r=0.62$; $p < 0.001$ after vaccination). We also found a positive correlation for re-vaccinated HIV-positive patients ($r=0.84$; $p=0.019$), with coefficients of correlation higher than those of the previous phases. For HIV-negative patients, a significant correlation between the techniques was observed just for those who had not received the polysaccharide meningococcal vaccine previously ($r=0.38$; $p=0.012$).

The observed correlations suggest that in the population infected by HIV, the measures of antibodies by ELISA can be extrapolated to predict the bactericidal capacity of the serum, and consequently to define an individual's protection, suggesting the reliability of the ELISA in this group. Up to now, it could not be adopted as a substitute of the gold standard SBA; further studies are necessary to confirm our findings.

Keywords: AIDS, meningococcal vaccine, ELISA, serum bactericidal antibody assay, adolescents

Por fim...

“De tudo ficaram três coisas...

A certeza de que estamos começando...

A certeza de que é preciso continuar...

E a certeza de que podemos ser interrompidos
antes de terminar...

Façamos da interrupção um caminho novo...

Da queda, um passo de dança...

Do medo, uma escada...

Do sonho, uma ponte...

Da procura, um encontro!”

Fernando Sabino

do livro “Encontro Marcado”