

VIVIAN HELENA LIDA AVELINO DA SILVA

**Avaliação da imunogenicidade e reatogenicidade
da vacina contra febre amarela em
pessoas que vivem com HIV**

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

Programa de Doenças Infecciosas e Parasitárias

Orientador: Prof. Dr. Esper Georges Kallás

São Paulo

2015

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

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

©reprodução autorizada pelo autor

Silva, Vivian Helena Iida Avelino da

Avaliação da imunogenicidade e reatogenicidade da vacina contra febre amarela em pessoas que vivem com HIV / Vivian Helena Iida Avelino da Silva. -- São Paulo, 2015.

Tese(doutorado)--Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.
Programa de Doenças Infecciosas e Parasitárias.

Orientador: Esper Georges Kallás.

Descritores: 1.Vacina contra febre amarela 2.Anticorpos neutralizantes 3.HIV
4.Antirretrovirais 5.Inflamação 6.Relação CD4-CD8

USP/FM/DBD-316/15

Dedicatória

À minha família e meus pacientes.

Agradecimentos

Ao meu orientador Prof. Dr. Esper Georges Kallás, pelo apoio, incentivo e inspiração para perseguir novas ideias e contribuir com a ciência.

Ao meu orientador durante o Programa de Doutorado Sanduíche no Exterior, Dr. Peter W. Hunt, por suas excelentes contribuições na análise e interpretação do estudo, bem como pelo estímulo ao meu aprimoramento técnico em pesquisa clínica.

Ao amigos e colaboradores João Luiz Miraglia e Karina Takesaki Miyaji.

Às equipes do Centro de Pesquisas Clínicas, Centro de Referência para Imunobiológicos Especiais, Laboratório de Investigação Médica 60, Casa da Aids, Instituto de Infectologia Emilio Ribas, Laboratório de Tecnologia Viroológica da Fundação Oswaldo Cruz – Rio de Janeiro, Fundação Pró-Sangue Hemocentro de São Paulo e Instituto Adolfo Lutz.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (Capes), Ministério da Educação.

Aos participantes que generosamente contribuíram com o estudo.

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 de A. L. Freddi, Maria F. Crestana, Marinalva de Souza 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

| | |
|-------------------------------------|----|
| Lista de siglas e abreviaturas | |
| Lista de símbolos | |
| Lista de tabelas | |
| Lista de figuras | |
| Resumo | |
| Abstract | |
| 1 INTRODUÇÃO | 1 |
| 2 OBJETIVOS | 6 |
| 2.1 Objetivos gerais | 7 |
| 2.2 Objetivos específicos | 7 |
| 2.2.1 Estudo 1 | 7 |
| 2.2.2 Estudo 2 | 7 |
| 2.2.3 Estudo 3 | 8 |
| 3 MÉTODOS | 9 |
| 3.1 Estudo 1 | 10 |
| 3.1.1 Desenho do estudo | 10 |
| 3.1.2 População do estudo | 10 |
| 3.1.2.1 Critérios de inclusão | 10 |
| 3.1.2.2 Critérios de exclusão | 10 |
| 3.1.3 Recrutamento | 11 |
| 3.1.4 Variáveis analisadas | 12 |
| 3.1.5 Procedimentos do estudo | 12 |
| 3.1.6 Cálculo amostral | 15 |
| 3.1.7 Análise estatística | 16 |
| 3.1.8 Aspectos éticos | 17 |
| 3.2 Estudo 2 | 19 |
| 3.2.1 Desenho do estudo | 19 |
| 3.2.2 População do estudo | 19 |
| 3.2.2.1 Critérios de inclusão | 19 |
| 3.2.2.2 Critérios de exclusão | 19 |
| 3.2.3 Recrutamento | 20 |
| 3.2.4 Variáveis analisadas | 20 |
| 3.2.5 Procedimentos do estudo | 21 |
| 3.2.6 Cálculo amostral | 21 |

| | | |
|----------|--|----|
| 3.2.7 | Análise estatística | 21 |
| 3.2.8 | Aspectos éticos | 22 |
| 3.3 | Estudo 3..... | 23 |
| 3.3.1 | Desenho do estudo | 23 |
| 3.3.2 | População do estudo | 23 |
| 3.3.2.1 | Critérios de inclusão | 23 |
| 3.3.2.2 | Critérios de exclusão | 23 |
| 3.3.3 | Recrutamento | 23 |
| 3.3.4 | Variáveis analisadas | 23 |
| 3.3.5 | Procedimentos do estudo | 24 |
| 3.3.6 | Cálculo amostral | 24 |
| 3.3.7 | Análise estatística | 24 |
| 3.3.8 | Aspectos éticos..... | 25 |
| 3.4 | Métodos laboratoriais..... | 26 |
| 3.4.1 | Títulos de AcN contra FA..... | 26 |
| 3.4.2 | Viremia pelo vírus da vacina FA | 27 |
| 3.4.3 | Contagens de linfócitos T CD4 ⁺ e CD8 ⁺ | 28 |
| 3.4.4 | CVHIV | 28 |
| 3.4.5 | Viremia pelo GBV-C..... | 28 |
| 3.4.6 | AST, ALT, Bilirrubinas e Hemograma completo | 29 |
| 3.4.7 | Teste rápido para detecção do HIV a teste de gravidez | 29 |
| 4 | RESULTADOS..... | 30 |
| 4.1 | Estudo 1 | 31 |
| 4.1.1 | Efeito da infecção por HIV sobre a viremia pelo vírus vacinal, EA clínicos e EA laboratoriais após a vacina FA | 33 |
| 4.1.2 | Efeito da infecção por HIV sobre os títulos de AcN específicos contra FA nos primeiros três meses após a vacinação e sobre a persistência de AcN específicos contra FA um ano após a vacinação..... | 35 |
| 4.1.3 | Efeito da contagem de linfócitos T CD4 ⁺ e CD8 ⁺ , da relação CD4 ⁺ /CD8 ⁺ e da infecção por GBV-C sobre os títulos de AcN específicos contra FA entre PVHIV | 37 |
| 4.2 | Estudo 2 | 38 |
| 4.3 | Estudo 3 | 42 |
| 5 | DISCUSSÃO E CONCLUSÕES..... | 45 |
| 6 | ANEXOS | 50 |
| 7 | REFERÊNCIAS..... | 56 |
| Apêndice | | |

Listas

Siglas e abreviaturas

| | |
|---------|---|
| AcN | Anticorpos neutralizantes |
| AIDS | Síndrome da imunodeficiência adquirida (<i>acquired immune deficiency syndrome</i>) |
| ALT | Alanina aminotransferase |
| AST | Aspartato aminotransferase |
| CAPPesq | Comissão de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa |
| cDNA | Ácido desoxirribonucleico complementar (<i>complementary deoxyribonucleic acid</i>) |
| CPC | Centro de Pesquisas Clínicas |
| CRIE | Centro de Referência de Imunobiológicos Especiais |
| CVHIV | Carga viral do HIV |
| EA | Eventos adversos |
| FA | Febre amarela |
| FIOCRUZ | Fundação Oswaldo Cruz |
| GBV-C | GB vírus tipo C |
| HCFMUSP | Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo |
| HIV | Vírus da imunodeficiência humana (<i>human immune deficiency syndrome</i>) |

| | |
|--------|--|
| IC | Intervalo de confiança |
| IIER | Instituto de Infectologia Emílio Ribas |
| LATEV | Laboratório de Tecnologia Viroológica |
| LIM | Laboratório de investigação médica |
| Log10 | Logaritmo na base 10 |
| OMS | Organização Mundial da Saúde |
| PCR | Reação de Polimerização em Cadeia (<i>polymerase chain reaction</i>) |
| PRNT | Teste de neutralização em placa (<i>plaque reduction neutralization test</i>) |
| PVHIV | Pessoas que vivem com o vírus da imunodeficiência humana |
| RNA | Ácido ribonucléico (<i>ribonucleic acid</i>) |
| RT-PCR | Reação de Polimerização em Cadeia em Tempo Real (<i>real time polymerase chain reaction</i>) |
| SEAP | Serviço de Extensão em Atendimento ao Paciente HIV/Aids |
| TARV | Tratamento antirretroviral |
| TCLE | Termo de consentimento livre e esclarecido |
| VFA | Vacina contra febre amarela |

Símbolos

| | |
|-----------------|---|
| + | Positivo |
| mm ³ | Milímetros cúbicos |
| ± | Mais ou menos |
| mUI/ml | Miliunidades internacionais por mililitro |
| mL | Mililitro |
| μL | Microlitro |
| % | Por cento |
| UI | Unidades internacionais |
| U | Unidades |
| μM | Micromolar |

Tabelas

| | | |
|--------------------|---|----|
| Tabela 1 - | Procedimentos do Estudo 1 – 2011 a 2014..... | 15 |
| Tabela 2 - | Características demográficas e clínicas dos participantes do Estudo 1 à inclusão – 2011 a 2014..... | 32 |
| Tabela 3 - | Efeito da infecção por HIV sobre a viremia pelo vírus da vacina contra febre amarela e eventos adversos em participantes com infecção por HIV e controles após a vacinação – 2011 a 2014..... | 34 |
| Tabela 4 - | Eventos adversos à vacina contra febre amarela apresentados nos primeiros 28 dias após a vacinação em pessoas com HIV e controles – 2011 a 2014 | 34 |
| Tabela 5 - | Fatores associados ao título de anticorpos neutralizantes contra FA nos primeiros três meses após a vacinação entre os participantes do Estudo 1 – 2011 a 2014..... | 36 |
| Tabela 6 - | Fatores associados ao título de anticorpos neutralizantes contra febre amarela um ano após a vacinação nos participantes de Estudo 1 – 2011 a 2014 | 36 |
| Tabela 7 - | Fatores associados ao título de anticorpos neutralizantes contra febre amarela um ano após a vacinação entre pessoas que vivem com HIV incluídas no Estudo 1 – 2011 a 2014..... | 37 |
| Tabela 8 - | Características demográficas e clínicas dos participantes do Estudo 2 – 2010 a 2014..... | 38 |
| Tabela 9 - | Características demográficas dos participantes incluídos no Estudo 3, de acordo com serviço ambulatorial de origem – 2013 | 42 |
| Tabela 10 - | Respostas ao questionário do Estudo 3 de acordo com serviço ambulatorial de origem – 2013 | 44 |

Figuras

- Figura 1 -** Títulos de anticorpos neutralizantes contra febre amarela entre pessoas que vivem com HIV e controles..... 40
- Figura 2 -** Correlações entre tempo decorrido desde a vacinação, em meses, e título de anticorpos neutralizantes contra febre amarela em controles (A) e pessoas que vivem com HIV (B) 40
- Figura 3 -** Correlações entre a relação $CD4^+/CD8^+$ e título de anticorpos neutralizantes contra febre amarela em controles (A) e pessoas que vivem com HIV (B) 41

Resumo

Silva VHIA. *Avaliação da imunogenicidade e reatogenicidade da vacina contra febre amarela em pessoas que vivem com HIV* [tese]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 2015.

INTRODUÇÃO: A vacina contra febre amarela é a principal forma de prevenção da doença, e é raramente associada a eventos adversos graves, para os quais pessoas que vivem com o vírus da imunodeficiência humana (HIV) teoricamente possuem risco aumentado. Nessa população, estudos sugerem que a imunogenicidade da vacina é inferior, e fatores associados à resposta vacinal são pouco conhecidos. Neste estudo, avaliamos a imunogenicidade e reatogenicidade da vacina contra febre amarela em pessoas infectadas por HIV e controles, comparando os títulos de anticorpos neutralizantes, ocorrência de viremia pelo vírus vacinal e eventos adversos após a vacinação, e investigamos potenciais preditores da resposta vacinal. Avaliamos ainda o grau de conhecimento a respeito da febre amarela e a adesão às recomendações de vacinação entre pessoas que vivem com HIV. **MÉTODOS:** No Estudo 1, indivíduos com infecção por HIV e controles com indicação de receber a vacina foram incluídos em uma coorte prospectiva com um ano de acompanhamento, com avaliação periódica de eventos adversos, viremia pelo vírus vacinal e títulos de anticorpos neutralizantes específicos contra febre amarela após a vacinação. No Estudo 2, indivíduos com infecção por HIV sob tratamento antirretroviral e controles com uma única dose da vacina contra febre amarela no passado foram incluídos em um estudo de corte transversal para avaliação dos títulos de anticorpos neutralizantes contra febre amarela. Finalmente, no Estudo 3 pessoas infectadas por HIV foram convidadas a completar um questionário avaliando o grau de conhecimento a respeito da febre amarela e a adesão às recomendações de prevenção. **RESULTADOS:** Não observamos entre pessoas infectadas por HIV maior risco de viremia pelo vírus vacinal, ocorrência de eventos adversos ou diferença estatisticamente significativa nos títulos de anticorpos nos primeiros três meses após a vacinação. Entretanto a persistência de anticorpos foi significativamente inferior entre indivíduos infectados por HIV, e associou-se inversamente à relação $CD4^+/CD8^+$, um marcador de ativação imune e inflamação de importância crescente. Nas respostas ao questionário, embora os participantes tenham demonstrado conhecimento a respeito da febre amarela e sua prevenção, a prevalência de discrepância entre as recomendações e o uso da vacina foi de 19%. **CONCLUSÕES:** Nossos resultados enfatizam a necessidade de novos estudos e intervenções entre pessoas infectadas por HIV a fim de melhorar a adesão às recomendações de uso da vacina, reduzir a ativação imune excessiva associada à pior resposta vacinal, e determinar o intervalo de tempo ideal para administração de reforço vacinal nessa população.

Descritores: Vacina contra Febre Amarela, Anticorpos Neutralizantes, HIV, Antirretrovirais, Inflamação, Relação CD4-CD8.

Abstract

Silva VHIA. *Immunogenicity and reactogenicity of yellow fever vaccine among HIV-infected persons* [thesis]. São Paulo: “Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo”; 2015.

INTRODUCTION: The yellow fever vaccine is the main prevention strategy against the disease, and is rarely associated with severe adverse events for which HIV-infected persons present theoretical increased risk. Studies suggest that the immune response to the vaccine is reduced in this population, but predictors of the vaccine immunogenicity are not well known. In this study, we assessed yellow fever vaccine immunogenicity and reactogenicity among HIV-infected persons and controls by comparing yellow fever-specific neutralizing antibody titers, detection of viremia by the vaccine virus and adverse events following vaccination. We also investigated potential predictors of vaccine response. Furthermore, we assessed knowledge and perceptions about yellow fever, and adherence to yellow fever vaccine recommendations among HIV-infected individuals. **METHODS:** In Study 1, HIV-infected participants and controls with indication to receive yellow fever vaccine were enrolled in a prospective cohort study and followed for one year with serial assessments of adverse events, viremia by the vaccine virus and yellow fever-specific neutralizing antibody titers after vaccination. In study 2, HIV-infected individuals under antiretroviral therapy and controls with a history of a single dose of yellow fever vaccine in the past were enrolled in a cross sectional study to evaluate yellow fever-specific neutralizing antibody titers after vaccination. Finally, in Study 3, HIV-infected persons under clinical follow up were invited to complete a survey assessing knowledge and perceptions about yellow fever and adherence to yellow fever prevention recommendations. **RESULTS:** We found no increased risk for the occurrence of viremia by the vaccine virus or adverse events, and no significant difference in yellow fever-specific antibody titers among HIV-infected participants in the first three months after vaccination. However, the duration of antibody response was reduced in HIV-infected persons, and was inversely associated to CD4⁺/CD8⁺ ratio, a biomarker of immune activation and inflammation of increasing importance. In the survey responses, although participants demonstrated awareness about yellow fever and yellow fever prevention, the prevalence of discrepancy between vaccine recommendation and actual compliance was 19%. **CONCLUSIONS:** Our results reinforce the need for new studies and interventions among HIV-infected persons to improve adherence to yellow fever vaccine recommendations, reduce excessive immune activation associated with impaired vaccine response, and to determine the ideal interval for a booster vaccination in this population.

Descriptors: Yellow Fever Vaccine, Neutralizing Antibodies, HIV, Anti-retroviral Agents, Inflammation, CD4-CD8 Ratio.

1 Introdução

1 Introdução

Pessoas que vivem com o vírus da imunodeficiência humana (PVHIV) sob tratamento antirretroviral (TARV) na atualidade vêm experimentando importante aumento da sobrevivência e redução da ocorrência de doenças oportunistas relacionadas à síndrome da imunodeficiência adquirida (AIDS) quando comparadas a PVHIV na era pré-tratamento, ou PVHIV nas fases iniciais da TARV. Entretanto, quando comparadas a pessoas não infectadas por HIV, PVHIV ainda apresentam maior morbidade e mortalidade¹⁻³. Hepatopatias⁴ e nefropatias⁵ crônicas, doenças cardiovasculares⁶, fragilidade e alterações cognitivas⁷, osteoporose⁸, neoplasias⁹ e infecções¹⁰⁻¹² são exemplos de condições que ocorrem com maior frequência e/ou maior gravidade entre PVHIV. Além disso, diversos estudos prévios demonstraram que PVHIV apresentam menor resposta a vacinas¹³⁻¹⁷. A resposta imune inferior após vacinação foi associada a menor contagem de células T CD4⁺^{14,18}, carga viral do HIV (CVHIV) acima do limite de detecção¹⁹⁻²¹, e ao não-uso de TARV^{15,21}.

À semelhança de outras vacinas, estudos prévios sugerem que a vacina contra Febre Amarela (VFA) apresenta resposta humoral inferior entre PVHIV quando comparadas a pessoas não infectadas por HIV^{22,23}, e níveis mais elevados de anticorpos neutralizantes (AcN) contra febre amarela (FA) foram associados a CVHIV indetectável e contagem de linfócitos T CD4⁺ mais elevada²³⁻²⁵. Contudo, estudos prévios não foram conclusivos em determinar se a resposta inicial após a VFA é inferior, se a persistência dos títulos de AcN é reduzida decorridos os primeiros meses após a vacinação, ou se ambos mecanismos operam simultaneamente em PVHIV. Além disso, estudos sobre a resposta imune a vacinas restritos a PVHIV sob TARV eficaz são escassos¹⁵, e até o momento não é claro se o uso de TARV é capaz de eliminar as diferenças na resposta vacinal entre PVHIV e pessoas não infectadas por HIV.

A VFA possui características que a tornam particularmente conveniente e relevante na investigação da resposta imune a vacinas entre PVHIV:

- I. A FA é uma doença viral de amplo espectro clínico, podendo apresentar-se desde assintomática até as formas hemorrágicas graves, e não possui tratamento antiviral específico^{26,27}. A vacinação é a principal forma de prevenção da doença, e está indicada para pessoas que residem ou viajam para áreas de risco²⁸. Embora em viagens internacionais o comprovante de vacinação seja exigido, nas viagens nacionais a vacinação não é sistematicamente verificada e os viajantes necessitam buscar ativamente a imunização ou orientação de viagem. Conseqüentemente, em muitos casos a vacinação depende diretamente do grau de conhecimento e informação do viajante em relação a prevenção da FA. Estudos entre indivíduos hígidos²⁹ e PVHIV³⁰ demonstram que, com frequência, viajantes desconhecem ou não observam as recomendações de prevenção de doenças transmissíveis. O grau de conhecimento de PVHIV em relação a FA e a adesão às recomendações de prevenção nessa população não são conhecidos.
- II. Entre indivíduos que residem em regiões próximas às áreas de recomendação da vacina FA no Brasil, como é o caso do município de São Paulo, a exposição ao vírus selvagem é improvável, e a resposta humoral aferida pode com maior segurança ser atribuída a vacinação.
- III. Entre indivíduos saudáveis a vacina FA é altamente eficaz, produzindo resposta humoral de longa duração em cerca de 99% dos indivíduos^{31,32}. Por esse motivo, em recente publicação³³ a Organização Mundial da Saúde (OMS) sugeriu o uso de uma dose única da VFA, sem necessidade de reforço periódico. Entretanto, no mesmo documento, a OMS alude à possibilidade de que a mesma recomendação não se aplique a PVHIV, apontando a necessidade de estudos adicionais.
- IV. Em função de sua elevada imunogenicidade, o vírus da VFA vem sendo utilizado como vetor para o desenvolvimento de novas vacinas³⁴,

incluindo a vacina contra o HIV^{35,36}. A compreensão dos fatores associados a maior eficácia da VFA entre PVHIV é fundamental para o uso de novas vacinas baseadas nesse vetor, e para o potencial desenvolvimento de uma vacina terapêutica contra o HIV.

V. No Brasil, as áreas com indicação de vacinação contra FA sofreram considerável expansão durante a década de 2000 devido à identificação de epidemias e epizootias da doença em áreas previamente consideradas indenes^{28,37-44}. Simultaneamente, nos últimos anos, PVHIV apresentam maior sobrevida e melhor qualidade de vida, e representam um crescente contingente de viajantes expostos a FA³⁰. PVHIV possuem restrições para receber a VFA tanto no Brasil como nos Estados Unidos da América, com base em escassos estudos sobre sua eficácia e reatogenicidade⁴⁵⁻⁴⁷. Preditores da resposta imune a vacinas entre PVHIV sob TARV eficaz são pouco conhecidos¹⁵. Estudos recentes demonstraram que a ativação imune excessiva e persistente, que frequentemente é observada em PVHIV mesmo sob TARV eficaz, está associada a menor resposta imune decorrente da vacina contra influenza⁴⁸ e da VFA⁴⁹. Este efeito é coerente com diversos estudos prévios que demonstraram que a ativação imune é um importante fator associado a maior morbidade e mortalidade entre PVHIV⁵⁰⁻⁵². Diversos marcadores de ativação imune vêm sendo utilizados em diferentes estudos⁵⁰. A relação entre o número de células T CD4⁺ e T CD8⁺ no sangue periférico (relação CD4⁺/CD8⁺) é um marcador de ativação imune simples e de fácil obtenção na prática clínica, que encontra-se persistentemente reduzido em uma importante parcela das PVHIV mesmo sob tratamento, e está inversamente associada a mortalidade entre PVHIV sob TARV⁵³. Além disso, a infecção crônica pelo GB vírus tipo C (GBV-C), caracterizada pela persistência de viremia após infecção inicial pelo vírus, ocorre em cerca de 23% das PVHIV em nosso meio⁵⁴ e foi associada a menores níveis de ativação imune entre PVHIV em estudos prévios⁵⁵⁻⁵⁷. A relação CD4⁺/CD8⁺ e a infecção crônica por GBV-

C não foram explorados como preditores de resposta a vacinas entre PVHIV até o momento.

VI. Por fim, a VFA é produzida a partir de vírus vivos atenuados, e raramente está associada à ocorrência de eventos adversos (EA) graves e até fatais, como a doença neurotrópica e a doença viscerotrópica causadas pela ação direta do vírus vacinal⁵⁸⁻⁶⁷. Em teoria, a multiplicação descontrolada do vírus vacinal estaria associada a estes raros EA, e alguns trabalhos apontam para maior risco de EA graves em indivíduos imunocomprometidos⁶⁸, entre eles PVHIV com contagens reduzidas de linfócitos T CD4⁺. Em 2002, foi relatada a ocorrência de encefalopatia seguida de óbito 9 dias após a vacinação em um indivíduo de 56 anos com contagem de linfócitos T CD4⁺ de 108/mm³, que desconhecia ser portador do HIV ao momento da vacinação⁶⁹. Entretanto, outros relatos e séries de casos^{23-25,70-73} totalizando 674 pacientes com infecção por HIV vacinados contra FA não demonstraram EA graves nessa população. Dentre esses 674 casos, pelo menos 42 apresentavam contagens de T CD4⁺ inferiores a 200 células/mm³^{23-25,71,73}. Além da avaliação de EA clínicos, a quantificação da viremia pelo vírus da VFA e das enzimas hepáticas aspartato aminotransferase (AST) e alanina aminotransferase (ALT), bilirrubinas e hemograma em PVHIV após a vacinação poderiam esclarecer se essa população de fato apresenta multiplicação do vírus vacinal em níveis mais elevados ou duração mais prolongada, ou ainda se PVHIV apresentam maior incidência de EA laboratoriais.

2 Objetivos

2 Objetivos

2.1 Objetivos gerais

- Avaliar a imunogenicidade e a reatogenicidade da VFA entre PVHIV e controles, identificando preditores clínicos e laboratoriais da resposta imune a VFA entre PVHIV.
- Avaliar o grau de conhecimento e a adesão às recomendações da VFA entre PVHIV.

O projeto foi dividido em 3 estudos descritos a seguir.

2.2 Objetivos específicos

2.2.1 Estudo 1

Descrever e comparar os títulos de AcN específicos contra FA, EA e viremia pelo vírus vacinal em PVHIV e controles imunizados ao momento da inclusão e acompanhados por 12 meses, identificando se a contagem de células T CD4⁺ e CD8⁺, a relação CD4⁺/CD8⁺ e a infecção por GBV-C são preditores da resposta imune entre PVHIV.

2.2.2 Estudo 2

Descrever e comparar os títulos de AcN específicos contra FA em PVHIV e controles imunizados com uma única dose da VFA no passado, identificando se o tempo decorrido desde a vacinação, a contagem de células T CD4⁺ e CD8⁺, a relação CD4⁺/CD8⁺ e a infecção por GBV-C são preditores da resposta imune nessa população.

2.2.3 Estudo 3

Descrever o grau de conhecimento a respeito de vacinas, da FA e suas formas de prevenção, e adesão às recomendações da VFA entre PVHIV atendidas em 3 diferentes unidades ambulatoriais de São Paulo.

3 Métodos

3 Métodos

3.1 Estudo 1

3.1.1 Desenho do estudo

Estudo de coorte prospectivo.

3.1.2 População do estudo

3.1.2.1 Critérios de inclusão

- Indivíduos de ambos os sexos com idade acima de 18 anos
- Com indicação de receber a VFA conforme as recomendações do Ministério da Saúde, avaliada pela equipe assistencial do Centro de Referência de Imunobiológicos Especiais (CRIE) do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (HCFMUSP).

3.1.2.2 Critérios de exclusão

- Doenças associadas a imunodepressão, exceto infecção por HIV; doenças do baço, doenças do timo, transplante de órgãos sólidos ou medula óssea, imunodeficiências primárias.
- Doenças auto-imunes.
- Neoplasias (mesmo em remissão e sem tratamento quimioterápico). Foi considerada exceção o Sarcoma de Kaposi em remissão há mais de um ano em PVHIV.
- Diabetes Mellitus.
- Hepatopatia ou nefropatia crônica.

- História de reações alérgicas a ovos ou produtos derivados.
- Antecedente de reação adversa grave em vacinação prévia contra FA.
- Aplicação de vacinas ou outros imunobiológicos realizada até 4 semanas antes da inclusão ou programada nas 2 semanas seguintes à vacinação.
- Uso de drogas imunossupressoras ou corticosteróides sistêmicos nos 3 meses precedentes à inclusão.
- Gestação ou lactação atual⁷⁴.
- Doença febril aguda.
- Incapacidade de compreender o termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE).
- Qualquer outra condição que no julgamento da equipe de investigação pudesse vir a prejudicar a vacinação ou os procedimentos de estudo, inclusive o acompanhamento.

3.1.3 Recrutamento

Participantes em potencial foram consecutivamente selecionados no período de outubro de 2011 a abril de 2014 entre os indivíduos que buscaram o CRIE-HCFMUSP para avaliação quanto à indicação de receber a VFA. Uma vez definida a indicação da vacina após triagem inicial pela equipe assistencial do CRIE-HCFMUSP, esclarecimentos sobre a participação no estudo foram realizados por um pesquisador da equipe. Indivíduos que não concordaram em participar do estudo foram encaminhados para vacinação conforme a rotina do serviço.

Materiais informativos (pôsteres, folhetos ou postais) sobre as recomendações do Ministério da Saúde para vacinação contra FA em PVHIV foram distribuídos em centros especializados de assistência, recomendando que o paciente procurasse seu médico ou o CRIE-HCFMUSP para esclarecimentos.

3.1.4 Variáveis analisadas

Variáveis demográficas (idade, sexo, raça), antecedente de VFA (data da vacinação prévia e história de EA quando indicado), histórico de infecção por HIV quando apropriado, e resultados de exames laboratoriais (presença de viremia por GBV-C à inclusão, contagens de linfócitos T CD4⁺ e CD8⁺, relação CD4⁺/CD8⁺ e CVHIV quando apropriado) foram avaliados como fatores potencialmente associados a ocorrência de EA, viremia pelo vírus vacinal e títulos de AcN após a vacinação. EA clínicos e EA laboratoriais foram aferidos nos dias 3, 5, 7, 14 e 28 após a vacinação, e a viremia pelo vírus da VFA foi mensurada nos dias 3, 5, 7 e 14 após a vacinação; o título de AcN contra FA foi aferido nos dias 7, 14, 28, 56, 84 e 365 (12 meses) após a vacinação.

Foram considerados EA clínicos os sintomas locais ou sistêmicos reportados durante as visitas 3, 5, 7, 14 e 28 do estudo ou registrados no cartão de sintomas nos primeiros 10 dias após a vacinação. Além disso, foram registrados como EA laboratoriais as alterações relevantes nos exames de hemograma, bilirrubinas, AST e ALT durante os primeiros 28 dias após a vacinação, graduados conforme a padronização do *National Institutes of Health*⁷⁵.

3.1.5 Procedimentos do estudo

Visita de triagem, inclusão e vacinação: Nessa visita, apresentamos aos participantes em potencial os objetivos da pesquisa, procedimentos necessários e riscos associados à participação no estudo. Verificamos elegibilidade através da aplicação de critérios de inclusão e exclusão, e obtivemos assinatura do TCLE. Realizamos história médica e exame físico. Para os participantes sem história de infecção por HIV foi realizado teste rápido para detecção da infecção por HIV com aconselhamento pré e pós-teste. Foi realizada coleta de amostra de urina para realização de teste de gravidez para mulheres em idade reprodutiva. Após aferição de sinais vitais, uma amostra de sangue foi coletada para realização dos seguintes exames

laboratoriais: contagem de linfócitos T CD4⁺ e CD8⁺, CVHIV (somente PVHIV), AST e ALT, bilirrubinas, hemograma completo, viremia por GBV-C e títulos de AcN. Foi administrada a VFA. O participante recebeu orientações gerais, e um cartão de sintomas composto de perguntas de múltipla escolha relacionadas à ocorrência de EA locais e sistêmicos (Anexo A) para preenchimento durante os primeiros 10 dias após a vacinação. O participante foi orientado a retornar para a visita do dia 3.

Visita de avaliação dia 3±1: Foi realizada monitorização de EA e coleta de amostra de sangue para realização dos seguintes exames laboratoriais: ALT, AST, bilirrubinas, hemograma, CVHIV (somente PVHIV), contagem de linfócitos T CD4⁺ e CD8⁺ e viremia pelo vírus vacinal. O participante foi orientado a retornar em 48 horas para a próxima visita.

Visita de avaliação dia 5±2: Semelhante à Visita do dia 3. O participante foi orientado a retornar em 48 horas para a próxima visita.

Visita de avaliação dia 7±2: Semelhante à Visita do dia 3, acrescidos de coleta de títulos de AcN contra FA. O participante foi orientado a retornar em 1 semana para a próxima visita.

Visita de avaliação dia 14±3: Semelhante à Visita do dia 7. Solicitada devolução do cartão de sintomas. O participante foi orientado a retornar em 2 semanas para a próxima visita.

Visita de avaliação dia 28±5: Semelhante à Visita do dia 7, porém sem aferição da viremia pelo vírus vacinal. Coleta de amostra de urina para realização de teste de gravidez para mulheres em idade reprodutiva. O participante foi orientado a retornar em 4 semanas para a próxima visita.

Visita de avaliação dia 56±10: Realizada coleta de amostra de sangue para realização dos seguintes exames laboratoriais: contagem de linfócitos T CD4⁺ e CD8⁺, CVHIV (somente PVHIV) e títulos de AcN contra FA.

Visita de avaliação dia 84±14: Semelhante à Visita de avaliação dia 56, acrescidos de teste rápido para HIV (exceto PVHIV) com aconselhamento pré- e pós-teste.

Visita de 365±30 dias: Visita de encerramento do estudo. Foi realizada história médica, exame físico, aferição de sinais vitais e coleta de amostra de sangue para realização dos mesmos exames laboratoriais da Visita do dia 84.

Visitas intermediárias foram realizadas conforme demanda dos participantes ou avaliação médica. Os participantes foram orientados a procurar o centro de pesquisa caso apresentassem qualquer queixa ou sintoma relacionado à vacina.

O tempo necessário para a conclusão dos procedimentos da visita de triagem e inclusão foi de 120 a 150 minutos. As demais visitas tiveram duração de 45 a 60 minutos.

Tabela 1 – Procedimentos do Estudo 1 – 2011 a 2014

| | Triagem, inclusão e vacinação | Dia 3±1 | Dia 5±2 | Dia 7±2 | Dia 14±3 | Dia 28±5 | Dia 56±7 | Dia 84±14 | Dia 365 ±30dias |
|--|-------------------------------------|------------|------------|------------|-------------|-------------|-------------|--------------|--------------------|
| Procedimentos Clínicos | | | | | | | | | |
| TCLE, aplicação da VFA | X | | | | | | | | |
| EA | | X | X | X | X | X | | | |
| Procedimentos Laboratoriais | | | | | | | | | |
| Teste rápido HIV | X | | | | | | | X | X |
| Teste de gravidez | X | | | | | X | | | |
| Contagem de linfócitos T CD4 ⁺ e CD8 ⁺ | X | X | X | X | X | X | X | X | X |
| CVHIV | X | X | X | X | X | X | X | X | X |
| AST, ALT, Bilirrubinas, Hemograma | X | X | X | X | X | X | | | |
| RNA de GBV-C | X | | | | | | | | |
| AcN | X | | | X | X | X | X | X | X |
| Viremia pelo vírus vacinal | | X | X | X | X | | | | |

TCLE, termo de consentimento livre e esclarecido; VFA, vacina contra febre amarela; EA, eventos adversos; HIV, vírus da imunodeficiência humana; CVHIV, carga viral do HIV; AST, aspartato aminotransferase; ALT, alanina aminotransferase; RNA, ácido ribonucleico; GBV-C, GB vírus tipo C; AcN, anticorpos neutralizantes

3.1.6 Cálculo amostral

Para estimativa do tamanho amostral, consideramos como análise principal do Estudo 1 a diferença média entre os títulos AcN de PVHIV e controles nas visitas dos dias 7, 14, 28, 56 e 84, analisada através de modelo misto, que acomoda aferições repetidas da variável dependente. Estimativas convencionais de tamanho amostral não podem ser obtidas com utilização de modelos mistos. Entretanto, é possível estimar o tamanho

amostral com métodos convencionais utilizando variância reduzida, que em geral é obtida com a utilização de aferições repetidas*. Dessa forma, estimamos o tamanho amostral considerando um erro alfa de 0,05, poder de 80% e uma diferença média de 0,4 Log₁₀mUI/mL entre os grupos²³ com desvio padrão de 0,4 Log₁₀mUI/mL (20% inferior ao desvio padrão de 0,5 Log₁₀mUI/mL obtido na população controle em estudo prévio⁷⁶). Antecipamos também grupos de tamanho amostral assimétrico (1:3), uma vez que a prevalência de PVHIV no local de recrutamento é baixa. O tamanho amostral estimado foi de 11 participantes no grupo de PVHIV e 31 no grupo controle.

3.1.7 Análise estatística

Características clínicas e demográficas dos participantes foram descritas através de frequências, porcentagens, medianas, intervalos interquartis, médias e desvios padrões. A comparação entre os grupos de participantes com e sem infecção por HIV foi realizada através do teste da soma dos postos de Wilcoxon para as variáveis contínuas e do teste exato de Fisher para as variáveis categóricas.

EA clínicos e EA laboratoriais foram analisados como variáveis binárias, definidas como positivas quando o participante apresentou qualquer EA clínico ou qualquer EA laboratorial nas visitas 3, 5, 7, 14 ou 28. A viremia pelo vírus vacinal foi analisada como variável contínua e como desfecho binário, definido como positivo caso o participante tenha apresentado viremia detectável (acima de 200 cópias/mL) nas visitas 3, 5, 7 ou 14.

Títulos de AcN foram transformados para os respectivos logaritmos na base 10, a fim de aproximar a distribuição das observações da distribuição normal.

* Segal M. (University of California San Francisco). Correspondência pessoal; 2015.

A comparação entre os grupos de participantes com e sem infecção por HIV em relação a ocorrência de EA e em relação à ocorrência de viremia pelo vírus vacinal foi realizada através de regressão logística multivariada ajustada para idade, sexo e antecedente de vacinação contra FA.

A associação entre infecção por HIV e os títulos de AcN nos dias 7, 14, 28, 56 e 84 foi investigada através de modelo misto, que leva em consideração as múltiplas aferições da variável dependente, com uso de erro padrão robusto. O modelo foi ajustado para idade, sexo, antecedente de vacinação contra FA e interação entre infecção por HIV e a variável referente às visitas, permitindo análise do efeito da infecção por HIV sobre os títulos de AcN em cada visita, bem como o efeito global sobre o conjunto das visitas avaliadas. A associação entre infecção por HIV e os títulos de AcN no dia 365 após a vacinação foi analisada separadamente utilizando modelo de regressão linear com erro padrão robusto ajustado para sexo, idade e antecedente de vacinação contra FA, com o intuito de discriminar a resposta inicial (até 3 meses) da persistência de AcN um ano após a vacinação.

O efeito da viremia por GBV-C, contagens de linfócitos T CD4⁺ e da relação CD4⁺/CD8⁺ sobre os títulos de AcN entre PVHIV foi investigada através de modelo misto, com uso de erro padrão robusto e ajustado para idade, sexo, antecedente de VFA e CVHIV.

Foi verificada linearidade das variáveis idade, contagem de linfócitos T CD4⁺, CD8⁺ e relação CD4⁺/CD8⁺ para inclusão nos modelos de análise. Para todas as análises, foi considerado um erro alfa bicaudal de 0.05. Todas as análises foram realizadas com uso do programa Stata versão 13.1 (StataCorp. College Station, TX: StataCorp LP).

3.1.8 Aspectos éticos

O principal risco associado à participação no estudo relacionou-se à ocorrência de EA graves à VFA. Tais eventos, embora raros, estão associados a elevada morbidade e mortalidade. Entretanto, foram incluídos somente participantes com indicação de receber a VFA conforme as

recomendações do Ministério da Saúde, avaliadas pela equipe assistencial do CRIE-HCFMUSP. Dessa forma, o risco associado ao procedimento da vacinação ocorreria independentemente de sua participação no estudo, sendo superado pelo benefício da proteção contra a doença. No caso de ocorrência de EA à vacina, os participantes foram orientados a buscar o fluxo habitual de atendimento estabelecido pela Secretaria de Estado da Saúde de São Paulo. Não houve qualquer custo relacionado a tais procedimentos. Antes do início do estudo foi constituído um Comitê Independente de Monitoramento de Dados, que deu suporte à execução do projeto.

Outros riscos e prejuízos potencialmente decorrentes da participação no estudo relacionaram-se a: 1. Procedimentos de coleta de sangue; 2. Realização de teste rápido para HIV no grupo controle; 3. Recursos dispensados no comparecimento às visitas. Os procedimentos de coleta de sangue foram realizados em ambiente adequado por profissional qualificado, minimizando possíveis desconfortos. O teste rápido para HIV foi realizado dentro do contexto de aconselhamento pré e pós-teste, sob sigilo, e seu resultado foi revelado ao participante em potencial em até 30 minutos, minimizando possíveis desconfortos e ansiedade. Os participantes receberam ressarcimento de despesas com transporte e alimentação relacionadas à participação no estudo.

Todos os participantes leram, compreenderam e assinaram o TCLE. O projeto foi aprovado na Comissão de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa (CAPPesq; número do projeto: 0206/10). Documentos contendo identificação dos participantes foram mantidos em gabinetes e arquivos eletrônicos seguros, acessíveis somente aos investigadores. A identificação dos participantes foi mantida em sigilo.

3.2 Estudo 2

3.2.1 Desenho do estudo

Estudo de corte transversal

3.2.2 População do estudo

3.2.2.1 Critérios de inclusão

- Indivíduos de ambos os sexos com idade de 18 anos a 65 anos.
- Dose única reportada de vacina prévia contra FA, documentada através de registro em carteira vacinal.

3.2.2.2 Critérios de exclusão

- Doenças associadas a imunodepressão, exceto infecção por HIV; doenças do baço, doenças do timo, transplante de órgãos sólidos ou medula óssea, imunodeficiências primárias.
- Doenças auto-imunes.
- Neoplasias (mesmo em remissão e sem tratamento quimioterápico). Foi considerada exceção o Sarcoma de Kaposi em remissão há mais de um ano em PVHIV.
- Diabetes Mellitus.
- Hepatopatia ou nefropatia crônica.
- História de reações alérgicas a ovos ou produtos derivados.
- Antecedente de reação adversa grave em vacinação prévia contra FA.
- Aplicação de vacinas ou outros imunobiológicos realizada até 4 semanas antes da inclusão.

- Uso de drogas imunossupressoras ou corticosteróides sistêmicos nos 3 meses precedentes à inclusão.
- Gestação ou lactação atual ⁷⁴.
- Doença febril aguda.
- Para o grupo de PVHIV, foram excluídos participantes que não se encontravam sob TARV há pelo menos um ano, com CVHIV indetectável ao momento da inclusão.
- Incapacidade de compreender o TCLE.

3.2.3 Recrutamento

Os participantes foram selecionados de forma aleatória entre os indivíduos que foram atendidos no CRIE-HCFMUSP para orientações sobre viagens ou vacinação em geral, e relatavam possuir registro prévio da VFA. Adicionalmente, PVHIV foram selecionadas entre os pacientes acompanhados regularmente no Serviço de Extensão em Atendimento ao Paciente HIV/Aids (SEAP)-HCFMUSP e Ambulatório do Instituto de Infectologia Emilio Ribas (IIER). Durante a pré-consulta de enfermagem, o participante em potencial foi interrogado sobre seu histórico de vacinação contra FA, e convidado a participar do estudo caso previamente vacinado.

3.2.4 Variáveis analisadas

Variáveis demográficas (idade, sexo, raça), histórico de infecção por HIV, resultados de exames laboratoriais (presença de viremia por GBV-C à inclusão, contagens de linfócitos T CD4⁺ e CD8⁺, relação CD4⁺/CD8⁺ e CVHIV quando apropriado) e o tempo decorrido desde a vacinação foram avaliados como fatores potencialmente associados ao título de AcN contra FA.

3.2.5 Procedimentos do estudo

Após explicar os objetivos da pesquisa, os procedimentos necessários e os riscos associados à participação no estudo, determinamos elegibilidade de acordo com os critérios de inclusão e exclusão, e obtivemos assinatura do TCLE. Realizamos história médica, exame físico e preenchimento dos formulários de coleta do estudo, incluindo informação sobre a data da VFA. Para os participantes do grupo controle foi realizado aconselhamento para realização do teste rápido para HIV. Após aferição de sinais vitais foi realizada coleta de amostra de sangue para realização de contagem de linfócitos T CD4⁺ e CD8⁺, CVHIV (somente PVHIV), teste rápido para HIV (somente grupo controle), e aferição do título de AcN contra FA.

3.2.6 Cálculo amostral

Para estimativa do tamanho amostral, consideramos como análise principal do Estudo 2 a diferença média entre os títulos AcN de PVHIV e controles. Considerando um erro alfa de 0,05, poder de 80% e uma diferença média de 0,3 Log₁₀mUI/mL entre os grupos²³ com desvio padrão de 0,5 Log₁₀mUI/mL⁷⁶, o tamanho amostral estimado foi de 44 participantes em cada grupo.

3.2.7 Análise estatística

Características clínicas e demográficas dos participantes foram descritas através de frequências, porcentagens, medianas, intervalos interquartis, médias e desvios padrões. A comparação entre os grupos de participantes com e sem infecção por HIV foi realizada através do teste t ou teste da soma dos postos de Wilcoxon para as variáveis contínuas quando apropriado. Para as variáveis categóricas foi utilizado o teste qui-quadrado ou teste exato de Fisher. As correlações entre os títulos de AcN e as variáveis independentes contínuas foram realizadas através do teste de correlação não paramétrico de Spearman. A associação entre a infecção por

HIV e os títulos de AcN ajustada para idade, sexo e tempo decorrido desde a vacinação foi analisada através de regressão linear multivariada com erro padrão robusto. A associação entre a viremia por GBV-C e a relação $CD4^+/CD8^+$ foi analisada através do teste da soma dos postos de Wilcoxon e através de regressão linear ajustada para idade e sexo. Para todas as análises, foi considerado um erro alfa bicaudal de 0,05. Todas as análises foram realizadas com uso do programa Stata versão 13.1 (StataCorp. College Station, TX: StataCorp LP).

3.2.8 Aspectos éticos

Todos os participantes leram, compreenderam e assinaram o TCLE. O projeto foi aprovado na CAPPesq (número do projeto: 0206/10). Documentos contendo identificação dos participantes foram mantidos em gabinetes e arquivos eletrônicos seguros, acessíveis somente aos investigadores. A identificação dos participantes foi mantida em sigilo. Os cuidados em relação aos procedimentos de coleta de sangue, realização de teste rápido para HIV no grupo controle e ressarcimento de recursos dispensados no comparecimento à visita foram realizados de maneira análoga ao Estudo 1.

3.3 Estudo 3

3.3.1 Desenho do estudo

Estudo de corte transversal

3.3.2 População do estudo

3.3.2.1 Critérios de inclusão

- PVHIV com idade acima de 18 anos, com acompanhamento clínico no IIER, na coorte de recém-infectados do CPC-HCFMUSP ou em consultório privado no município de São Paulo.

3.3.2.2 Critérios de exclusão

- Incapacidade de compreender a declaração de consentimento anexa ao questionário.

3.3.3 Recrutamento

PVHIV em acompanhamento em qualquer dos três serviços ambulatoriais selecionados foram aleatoriamente convidados para participar do estudo. O convite foi realizado por ocasião da consulta de rotina do paciente, durante sua permanência na sala de espera antes ou logo após a consulta.

3.3.4 Variáveis analisadas

Foram descritas as variáveis demográficas e clínicas (idade, sexo, raça, escolaridade e prevalência de outras doenças crônicas) conforme o serviço ambulatorial de origem. Variáveis relacionadas ao nível de conhecimento a respeito de vacinas em geral, da FA e da VFA, bem como a

adesão às recomendações da VFA foram obtidas através de itens específicos do questionário.

3.3.5 Procedimentos do estudo

Durante seu período de espera antes ou logo após a consulta médica de rotina, participantes em potencial foram abordados por um profissional da equipe do estudo quanto a sua disponibilidade e interesse em responder ao questionário. O mesmo foi preenchido pelo próprio paciente (ou pelo entrevistador caso solicitado pelo paciente) após assinatura de consentimento informado. Ao término do questionário o profissional da equipe do estudo realizou esclarecimentos sobre quaisquer itens do questionário respondidos incorretamente ou sobre os quais o participante tivesse manifestado dúvidas.

O questionário completo do estudo encontra-se disponível no Anexo B.

3.3.6 Cálculo amostral

Para o cálculo amostral desse estudo descritivo, consideramos a presença de discrepância entre a recomendação e o uso da vacina FA como variável principal de interesse. Considerando uma proporção estimada de 20% na amostra, para descrição dessa variável com amplitude do intervalo de confiança (IC) 95% de 0,15, o tamanho amostral total estimado através do método exato binomial foi de 121 participantes.

3.3.7 Análise estatística

Variáveis clínicas e demográficas identificadas nos três grupos de pacientes foram comparadas através do teste de qui-quadrado ou teste exato de Fisher. Para comparação da idade foi utilizado o teste de Kruskal-Wallis. Quando observada diferença estatisticamente significativa na análise

incluindo os 3 grupos, a análise foi repetida comparando-se os grupos 2 a 2 com uso de correção de Bonferroni, a fim de identificar qual par de comparações mantinha diferença estatisticamente significativa. Foi também calculado o IC 95% para as proporções descritas nas variáveis binárias através do método exato binomial.

Para todos os cálculos foi considerado o nível de significância estatística de 0,05 e utilizado o pacote estatístico Stata 13.0 (StataCorp. College Station, TX: StataCorp LP.).

3.3.8 Aspectos éticos

No momento da inclusão no estudo, cada participante declarou consentimento para participação na pesquisa através de uma rubrica, sem identificação de dados individuais, na porção inicial do questionário. Essa estratégia foi escolhida em oposição ao TCLE tradicional para agilizar a execução da pesquisa e facilitar a inclusão de participantes. Dessa forma, nenhum documento contendo dados de identificação dos participantes foi produzido nesse estudo. O projeto foi aprovado na CAPPesq (número do projeto: 0206/10).

3.4 Métodos Laboratoriais

3.4.1 Títulos de AcN contra FA

Títulos de AcN específicos contra FA foram aferidos através do teste de neutralização em placa (*plaque reduction neutralization test*, PRNT), realizado no Laboratório de Tecnologia Viroológica (LATEV) de Biomanguinhos, Fundação Oswaldo Cruz (FIOCRUZ), Rio de Janeiro. O PRNT é considerado o teste de referência para a análise da resposta imune protetora após a vacinação⁷⁷, com resultados quantitativos altamente correlacionados com proteção^{78,79}. O PRNT foi conduzido em placas de 96 orifícios conforme previamente descrito⁷⁶ através de diluições seriadas (fator 2) iniciando-se em 1:5, em alíquotas de 20 µL de soro inativado por calor (56 °C por 30 minutos). Foi utilizado como referência positiva um soro padrão preparado *in house*, previamente calibrado frente a *First International Reference Preparation* (NIBSC code: YF)⁸⁰. Para a etapa de neutralização, foi acrescentada a cada orifício uma suspensão do vírus da FA a uma concentração de cerca de 30 unidades formadoras de placa. Após incubação por uma hora à temperatura ambiente, uma suspensão de células Vero foi acrescentada a esta mistura, e as placas foram novamente incubadas a 37 °C em presença de 5% de dióxido de carbono por um período de três horas. O meio foi então descartado e as células cobertas com meio semissólido contendo carboximetilcelulose, a um volume de 100 µL por orifício. Após incubação por seis dias a 37 °C em presença de 5% dióxido de carbono, a monocamada celular foi fixada com formaldeído a 10% e corada com cristal violeta 0,04%. As placas de lise foram contadas utilizando um projetor de diapositivo adaptado. O título do PRNT foi definido como a recíproca da última diluição onde ocorreu 50% de redução do número de placas de lise. Títulos de AcN foram determinados através de regressão linear. Títulos expressos em mUI/mL foram calculados conforme o conteúdo de anticorpos no Soro de Referência Internacional (143 UI/mL), utilizado para determinação do valor do soro controle positivo (1115

mUI/mL). Dessa forma, foi possível transformar títulos de AcN representados pela diluição em mUI/mL. Para este estudo, foram utilizados os respectivos logaritmos na base 10, a fim de aproximar a distribuição das observações da distribuição normal.

3.4.2 Viremia pelo vírus da VFA

A viremia pelo vírus vacinal foi aferida no Laboratório de Biologia Molecular da Fundação Pró-Sangue Hemocentro de São Paulo, através da amplificação genômica do vírus da VFA pela Reação de Polimerização em Cadeia em Tempo Real (*real time polymerase chain reaction*, RT-PCR). O ácido ribonucléico (*ribonucleic acid*, RNA) de plasma ou soro foi extraído com o Kit de extração QIAGEN conforme protocolo do fabricante e submetido a síntese de ácido desoxirribonucleico complementar (*complementary deoxyribonucleic acid*, cDNA). Ao RNA extraído (10 µl) foram adicionados 300 ng de *random primer* (Random Primer – Amersham) com incubação a 70 °C por 10 minutos. A síntese de cDNA ocorreu na presença da 100 U da enzima transcriptase reversa (Super Script - Invitrogen), 20 U da enzima RNase Out (Invitrogen) e 0,4 mM de dNTs (Amersham). Foi utilizada temperatura de 45 °C por 90 minutos com posterior denaturação da transcriptase reversa a 70 °C por 10 minutos. Para a detecção do vírus da VFA foi amplificado um fragmento da região NS5 do genoma viral por RT-PCR, adicionando-se 10 µl do cDNA à mistura de reação contendo os iniciadores, sonda específicas e Universal PCR Master Mix Taqman (Applied Biosystems). Foi utilizado um ciclo inicial de 95 °C por 2 minutos, seguido de 45 ciclos de 94 °C por 15 segundos, 60 °C por 1 minuto e coleta de dados na fase de extensão. O teste atingiu sensibilidade para detecção de viremia igual ou superior a 200 cópias/mL.

3.4.3 Contagens de linfócitos T CD4⁺ e CD8⁺

Contagens de linfócitos T CD4⁺ e CD8⁺ foram realizadas no Instituto Adolfo Lutz, através de citometria de fluxo (FACSCalibur, BD Biosciences, CA, USA) utilizando reagente Multitest™ (BD Biosciences).

3.4.4 CVHIV

A quantificação da CVHIV foi realizada no Laboratório Central do HCFMUSP, por meio de RT-PCR utilizando o teste Amplicor™ HIV-1 Monitor Test (Roche Diagnostic Systems, NJ, USA), com limite inferior de detecção de 40 cópias/mL.

3.4.5 Viremia pelo GBV-C

A detecção de RNA do GBV-C foi realizada no Laboratório de Investigação Médica (LIM) 60. O RNA viral foi extraído a partir de 140 µl das amostras de soro utilizando o kit QIAamp Viral RNA Mini Kit (QIAGEN Inc., California, USA), de acordo com as instruções do fabricante. Uma alíquota de 5 µl do RNA extraído foi utilizada para realizar o procedimento de RT-PCR quantitativo utilizando o kit SuperScript® III Platinum® One-Step Quantitative RT-PCR System com ROX (Life Technologies) com iniciadores a uma sonda TaqMan que amplifica e quantifica um fragmento de 72 pares de base da região 5' não traduzida (5'UTR) do GBV-C. A reação foi realizada com 0,5 µl da enzima (SuperScript® III RT/Platinum® Taq Mix), 12,5 µl do tampão contendo ROX (2X Reaction Mix with ROX), 0,75 µl do iniciador forward a 10 µM - RTG1 (5'GTGGTGGATGGGTGATGACA3') (Sigma), 1,25 µl do iniciador reverso a 10 µM - RTG2 (5'GACCCACCTATAGTGGCTACCA3') (Sigma), 0,4 µl da sonda TaqMan a 25 µM ([6'FAM]CCGGGATTACGACCTACC[TAMRA-6-FAM]) (Life Technologies) e o volume final de 25 µl da reação foi completado com água tratada com dietilpirocarbonato. A síntese do cDNA se deu nos 15 primeiros minutos de reação à 50 °C. Após 2 minutos à 95 °C a amplificação e a quantificação foram realizadas durante

40 ciclos com os seguintes tempos e temperaturas: 95 °C por 15 segundos, 60 °C por 30 segundos. A leitura da fluorescência de FAM foi realizada durante o período de anelamento (60 °C).

3.4.6 AST, ALT, Bilirrubinas e Hemograma completo

Os testes de AST, ALT, Bilirrubinas e Hemograma completo foram realizados no Laboratório Central do HCFMUSP. O hemograma foi realizado através do método automatizado com estudo morfológico do esfregaço quando necessário. A determinação de bilirrubina total e frações foi realizada pelo método colorimétrico, e a mensuração de AST e ALT pelo metodologia cinética UV-IFCC.

3.4.7 Teste rápido para detecção do HIV a teste de gravidez

Os testes rápidos para detecção de infecção por HIV e os testes de gravidez foram realizados no CPC-HCFMUSP, com execução e orientação de profissional de enfermagem habilitado para esses procedimentos. Para o teste rápido do HIV foi utilizado o kit Determine ou Biopix conforme disponibilidade. Para o teste de gravidez foi utilizado o kit Detect test ou Abbott conforme disponibilidade.

4 Resultados

4 Resultados

4.1 Estudo 1

Sessenta e três participantes foram incluídos no Estudo 1 entre outubro de 2011 e abril de 2014. Após exclusão de 1 participante do grupo de PVHIV e 5 participantes do grupo controle devido a perda de seguimento, 57 participantes foram incluídos na análise, sendo 12 no grupo de PVHIV e 45 no grupo controle.

Não observamos diferença significativa entre os grupos em relação a idade ($p=0,12$) ou proporção de participantes com vacinação anterior contra FA ($p=0,56$). Os grupos diferiram significativamente em relação a distribuição de sexo ($p=0,001$), sendo o sexo masculino observado em 100% dos participantes no grupo de PVHIV e 49% no grupo controle. A mediana de contagem de linfócitos T CD4⁺ foi elevada entre PVHIV (722, intervalo interquartil 526-795 células/mm³) porém ainda significativamente inferior ao grupo controle ($p=0,003$). Como esperado, a relação CD4⁺/CD8⁺ foi menor no grupo de PVHIV em relação ao grupo controle (medianas 0,7 e 1,6, respectivamente; $p<0,0001$).

A prevalência de viremia positiva por GBV-C foi elevada em ambos os grupos, sendo encontrada em 67% dos participantes com HIV e 27% dos controles ($p=0,001$). As características demográficas e clínicas dos participantes a inclusão estão descritas na Tabela 2.

Tabela 2 - Características demográficas e clínicas dos participantes do Estudo 1 à inclusão – 2011 a 2014*

| | PVHIV N=12 | Controles N=45 | Valor p [§] |
|--|---------------|-------------------|----------------------|
| Idade – anos | 33 (30-47) | 43 (31-62) | 0,12 |
| Sexo masculino – N (%) | 12 (100) | 22 (49) | 0,001 |
| VFA prévia – N (%) | 4 (33) | 16 (36) | 0,56 |
| Contagem de linfócitos T CD4 ⁺ /mm ³ | 722 (526-795) | 941 (807-1470) | 0,003 |
| Relação CD4 ⁺ /CD8 ⁺ | 0,7 (0,5-0,8) | 1,6 (1,3-2,6) | <0,0001 |
| CVHIV indetectável – N (%) | 8 (67) | - | - |
| Viremia por GBV-C – N (%) | 8 (67) | 12 (27) | 0,001 |

PVHIV, pessoas que vivem com o vírus da imunodeficiência humana; N, número; VFA, vacina contra febre amarela; CVHIV, carga viral do HIV; GBV-C, GB vírus tipo C

*Variáveis contínuas foram descritas como medianas e intervalos interquartis.

4.1.1 Efeito da infecção por HIV sobre a viremia pelo vírus vacinal, EA clínicos e EA laboratoriais após a vacina FA

A viremia pelo vírus vacinal foi observada em pelo menos uma visita entre os dias 3, 5, 7 e 14 em 4 de 10 participantes no grupo de PVHIV (40%) e 11 de 32 participantes no grupo controle (34%). Em modelo de regressão logística ajustado para idade, sexo e vacinação prévia contra FA, a infecção por HIV associou-se a uma razão de odds de 1,29 em relação à ocorrência de viremia pelo vírus vacinal, porém esta associação não atingiu significância estatística (IC 95% 0,16 a 10,44; $p=0,81$). Também não observamos diferença estatisticamente significativa entre os grupos na análise quantitativa da viremia pelo vírus vacinal em modelo misto ajustado para idade, sexo e vacinação prévia contra FA ($p=0,99$, Tabela 3).

Somente EA clínicos leves foram reportados pelos participantes do estudo em ambos os grupos (Tabela 4). EA locais (dor, vermelhidão e/ou edema) foram descritos por 16,7% das PVHIV e 15,6% dos participantes no grupo controle. EA sistêmicos (náusea, mialgia, mal estar, sonolência e/ou tontura) foram relatados por 50% das PVHIV e 42,4% dos indivíduos no grupo controle. Em modelo de regressão logística ajustado para idade, sexo, viremia pelo vírus vacinal e vacinação prévia contra FA, a infecção por HIV associou-se a uma razão de odds de 0,40 em relação à ocorrência de EA clínicos, porém essa associação não atingiu significância estatística (IC 95% 0,05 a 2,92; $p=0,37$, Tabela 3). Em modelo de regressão logística também ajustado para idade, sexo, viremia pelo vírus vacinal e vacinação prévia contra FA, a infecção por HIV associou-se a uma razão de odds de 1,65 em relação à ocorrência de EA laboratoriais, porém essa associação não atingiu significância estatística (IC 95% 0,22 a 12,21; $p=0,62$, Tabela 3).

Tabela 3 - Efeito da infecção por HIV sobre a viremia pelo vírus da vacina contra febre amarela e eventos adversos em participantes com infecção por HIV e controles após a vacinação – 2011 a 2014

| | PVHIV N=12 | Controles N=45 | Razão de odds (IC 95%) | Valor p |
|---|---------------|-------------------|---------------------------|---------|
| Viremia pelo vírus vacinal ^{&} – N (%) | 4 (40) | 11 (34,4) | 1,29 (0,16 a 10,44) | 0,81 |
| Viremia pelo vírus vacinal, cópias/mL, média (DP) | 112 (628) | 106 (899) | - | 0,99 |
| Eventos adversos clínicos – N (%) | 6 (50) | 22 (48,9) | 0,40 (0,05 a 2,92) | 0,37 |
| Eventos adversos laboratoriais – N (%) | 3 (25) | 13 (28,9) | 1,65 (0,22 a 12,21) | 0,62 |

PVHIV, pessoas que vivem com o vírus da imunodeficiência humana; N, número; IC, intervalo de confiança; DP, desvio padrão.

[&]Dado disponível para 10 participantes no grupo de PVHIV e 32 participantes no grupo controle.

Tabela 4 - Eventos adversos à vacina contra febre amarela apresentados nos primeiros 28 dias após a vacinação em pessoas com HIV e controles – 2011 a 2014

| Eventos adversos | PVHIV N=12 | Controles N=45 | Razão de odds (IC95%) | Valor p |
|-------------------------------|---------------|-------------------|--|---------|
| Locais – N (%) | 2 (16,7) | 7 (15,6) | 0,40 ^{&} (0,05 a 2,92) | 0,37 |
| Sistêmicos – N (%) | 6 (50) | 19 (42,2) | 1,65 [§] (0,22 a 12,21) | 0,62 |
| Laboratoriais – N (%) | | | | |
| Anemia leve | 0 (0) | 3 (6,7) | | |
| Linfopenia leve | 0 (0) | 2 (4,4) | | |
| Neutropenia leve | 1 (8,3) | 6 (13,3) | | |
| Elevação grau I de AST/ALT | 1 (8,3) | 3 (6,7) | | |
| Plaquetopenia leve | 1 (8,3) | 1 (2,2) | | |

PVHIV, pessoas que vivem com o vírus da imunodeficiência humana; N, número; IC, intervalo de confiança; AST, aspartato aminotransferase; ALT, alanina aminotransferase

[&] Referente à ocorrência de EA locais e/ou sistêmicos

[§] Referente à ocorrência de qualquer EA laboratorial

4.1.2 Efeito da infecção por HIV sobre os títulos de AcN específicos contra FA nos primeiros três meses após a vacinação e sobre a persistência de AcN específicos contra FA um ano após a vacinação

Não observamos diferença estatisticamente significativa na resposta inicial à vacina FA, aferida nas visitas dos dias 7, 14, 28, 56 e 84, entre PVHIV e controles em modelo misto ajustado para idade, sexo e vacinação prévia contra FA. O efeito da infecção por HIV não foi estatisticamente significativo em qualquer das visitas ou no conjunto das visitas avaliadas (Tabela 5). O sexo feminino associou-se a menores títulos de AcN (efeito relativo 0,43, IC 95% 0,27 a 0,69, $p < 0,001$). Além disso, como esperado, a vacinação prévia contra FA associou-se a maiores títulos de AcN nesse modelo (efeito relativo 3,41, IC 95% 2,16 a 5,40, $p < 0,001$).

A persistência de AcN, aferida nesse estudo através dos títulos de AcN um ano após a vacinação, mostrou-se significativamente inferior no grupo de PVHIV em relação ao grupo controle (efeito relativo 0,32, IC 95% 0,13 a 0,83, $p = 0,021$). A idade, sexo e vacinação prévia contra FA não apresentaram associação estatisticamente significativa com o título de AcN um ano após a vacinação (Tabela 6).

Tabela 5 - Fatores associados ao título de anticorpos neutralizantes contra FA nos primeiros três meses após a vacinação entre os participantes do Estudo 1 – 2011 a 2014

| | Efeito relativo sobre o título de AcN, mUI/mL | Intervalo de confiança 95% | Valor p |
|-----------------------------|---|----------------------------|---------|
| Idade (cada ano de aumento) | 0,991 | 0,978 a 1,003 | 0,143 |
| Sexo feminino | 0,433 | 0,273 a 0,687 | <0,001 |
| VFA prévia | 3,412 | 2,157 a 5,396 | <0,001 |
| <u>Infecção por HIV:</u> | | | |
| Inclusão | 0,250 | 0,025 a 2,473 | 0,236 |
| Dia 7 | 0,936 | 0,091 a 9,653 | 0,985 |
| Dia 14 | 0,716 | 0,118 a 4,355 | 0,717 |
| Dia 28 | 0,658 | 0,281 a 1,561 | 0,342 |
| Dia 56 | 0,681 | 0,289 a 1,603 | 0,379 |
| Dia 84 | 0,790 | 0,344 a 1,814 | 0,579 |
| Efeito global | | | 0,802 |

AcN, anticorpos neutralizantes; VFA, vacina contra febre amarela; HIV, vírus da imunodeficiência humana

Tabela 6 - Fatores associados ao título de anticorpos neutralizantes contra febre amarela um ano após a vacinação nos participantes de Estudo 1 – 2011 a 2014

| | Efeito relativo sobre o título de AcN, mUI/mL | Intervalo de confiança 95% | Valor p |
|-----------------------------|---|----------------------------|---------|
| Idade (cada ano de aumento) | 1,014 | 0,964 a 1,068 | 0,568 |
| Sexo feminino | 0,539 | 0,116 a 2,502 | 0,418 |
| Vacina FA prévia | 1,265 | 0,247 a 6,478 | 0,771 |
| Infecção por HIV | 0,324 | 0,126 a 0,831 | 0,021 |

AcN, anticorpos neutralizantes; HIV, vírus da imunodeficiência humana

4.1.3 Efeito da contagem de linfócitos T CD4⁺ e CD8⁺, da relação CD4⁺/CD8⁺ e da infecção por GBV-C sobre os títulos de AcN específicos contra FA entre PVHIV

Os resultados da análise da associação entre os títulos de AcN e contagens de linfócitos T CD4⁺ e CD8⁺, relação CD4⁺/CD8⁺ e infecção por GBV-C estão descritos na Tabela 7. A cada 10 unidades de incremento na contagem de linfócitos T CD8⁺, o título de AcN predito pelo modelo é 2% inferior, com IC 95% de 1% a 4% (p=0,006). A cada 0,1 unidade de incremento na relação CD4⁺/CD8⁺, o título de AcN predito pelo modelo foi 35% superior, com IC 95% de 12% a 63% (p=0,002). Não observamos efeito estatisticamente significativo da contagem de linfócitos T CD4⁺ ou da viremia por GBV-C sobre os títulos de AcN contra FA em PVHIV (p=0,704 e 0,880, respectivamente).

Tabela 7 - Fatores associados ao título de anticorpos neutralizantes contra febre amarela um ano após a vacinação entre pessoas que vivem com HIV incluídas no Estudo 1 – 2011 a 2014

| | Efeito relativo sobre o título de AcN, mUI/mL | Intervalo de confiança 95% | Valor p |
|--|---|----------------------------|---------|
| Contagem de linfócitos T CD4 ⁺ /mm ³ (A cada 10 células de aumento) | 0,99 | 0,95 a 1,03 | 0,704 |
| Contagem de linfócitos T CD8 ⁺ /mm ³ (A cada 10 células de aumento) | 0,98 | 0,96 a 0,99 | 0,006 |
| Relação CD4 ⁺ /CD8 ⁺ (A cada aumento em 0,1 unidade) | 1,35 | 1,12 a 1,63 | 0,002 |
| Viremia por GBV-C | 1,13 | 0,22 a 5,80 | 0,880 |

HIV, vírus da imunodeficiência humana; AcN, anticorpos neutralizantes; GBV-C, GB vírus tipo C

4.2 Estudo 2

No período de novembro de 2010 a abril de 2014 foram incluídos 34 participantes com mediana de idade de 46 anos no grupo de PVHIV e 58 participantes com mediana de idade de 38 anos no grupo controle. A proporção de indivíduos do sexo masculino foi maior no grupo de PVHIV (79% vs. 29%, $p < 0,001$). No grupo de PVHIV, 30 participantes (88%) relataram ter recebido a VFA após o diagnóstico da infecção por HIV. A mediana de tempo decorrido entre a vacinação e a inclusão no estudo foi de 41 meses entre as PVHIV e 69 meses no grupo controle, e poucos participantes relataram ter apresentado qualquer EA após a vacinação (9% no grupo de PVHIV e 21% no grupo controle). Como esperado, o grupo de PVHIV apresentou menores contagens de linfócitos T CD4⁺ e relação CD4⁺/CD8⁺. A prevalência de viremia por GBV-C foi maior no grupo de PVHIV, porém esta diferença não atingiu significância estatística. As características dos participantes à inclusão estão descritas na Tabela 8.

Tabela 8 - Características demográficas e clínicas dos participantes do Estudo 2 – 2010 a 2014*

| | PVHIV N=34 | Controles N=58 | Valor p |
|--|---------------|-------------------|---------|
| Idade – anos | 46 (41-49) | 38 (29-48) | 0,088 |
| Sexo masculino – N (%) | 27 (79) | 17 (29) | <0,001 |
| Tempo desde a VFA – meses | 41 (25-119) | 69 (35-131) | 0,156 |
| EA após a vacina – N (%) | 3 (9) | 12 (21) | 0,158 |
| Contagem de linfócitos T CD4 ⁺ /mm ³ † | 790 (603-956) | 1120 (945-1308) | <0,0001 |
| Relação CD4 ⁺ /CD8 ⁺ † | 0,7 (0,5-1,2) | 1,8 (1,3-2,5) | <0,0001 |
| Viremia por GBV-C# – N (%) | 8 (42) | 15 (38) | 0,735 |

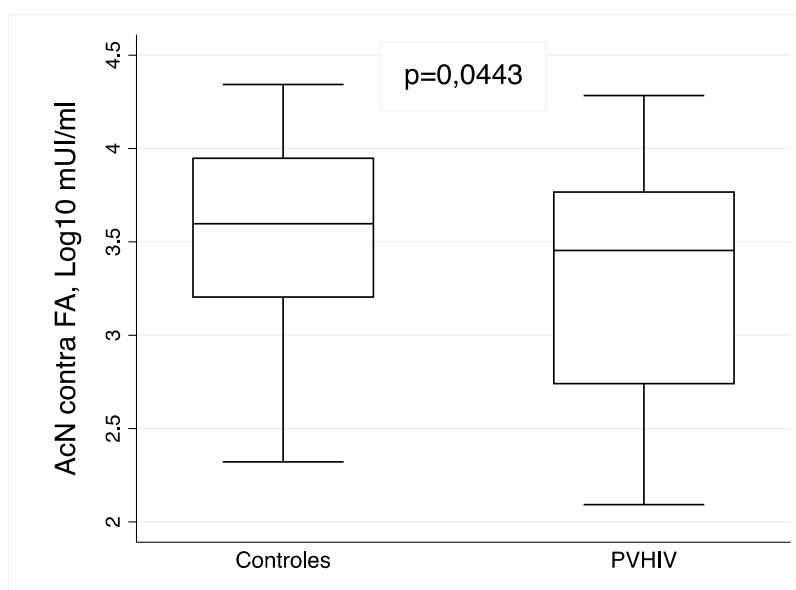
PVHIV, pessoas que vivem com o vírus da imunodeficiência humana; N, número; VFA, vacina contra febre amarela; EA, eventos adversos; GBV-C, GB vírus tipo C

*Variáveis contínuas foram descritas como medianas e intervalos interquartis.

†Disponível para 49 controles

#Disponível para 40 controles e 19 PVHIV

Os títulos médios de AcN foram significativamente menores no grupo de PVHIV (3,3 Log₁₀mUI/mL, IC 95% 3,1 a 3,5) em relação ao grupo controle (3,6 Log₁₀mUI/mL, IC 95% 3,4 a 3,7; p=0,044, Figura 1). Essa diferença se manteve em modelo de regressão linear ajustado para idade, sexo e tempo decorrido desde a vacinação: em média, os títulos de AcN em PVHIV foram 0,44 vezes os títulos preditos para indivíduos do grupo controle (IC 95% CI 0,22 a 0,90, p=0,024). No grupo de PVHIV, não observamos correlação entre os títulos de AcN e as contagens de linfócitos T CD4⁺ (Rho de Spearman: -0,11, p=0,52). Porém os títulos de AcN apresentaram correlação com o tempo decorrido desde a vacinação (Rho de Spearman: -0,38, p=0,027, Figura 2), com as contagens de linfócitos T CD8⁺ (Rho de Spearman: -0,49, p=0,003) e com a relação CD4⁺/CD8⁺ (Rho de Spearman: 0,42, p=0,014, Figura 3). Nenhum desses fatores teve correlação com os títulos de AcN no grupo controle. A presença de viremia por GBV-C não apresentou associação estatisticamente significativa com os títulos de AcN quando avaliada em modelo univariado ou em modelo ajustado para idade, sexo e tempo decorrido desde a vacinação para toda a população do estudo (efeito relativo 0,85, IC 95% 0,42 a 1,69, p=0,64) ou entre PVHIV (efeito relativo 1,40, IC 95% 0,38 a 5,11, p=0,59).



*PVHIV, pessoas que vivem com o vírus da imunodeficiência humana; AcN, anticorpos neutralizantes; FA, febre amarela

Figura 1 - Títulos de anticorpos neutralizantes contra febre amarela entre pessoas que vivem com HIV e controles*

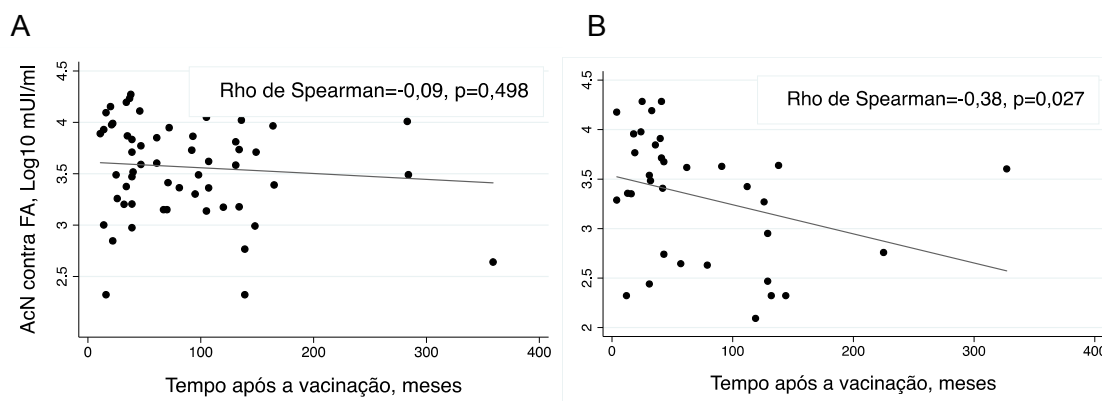


Figura 2 - Correlações entre tempo decorrido desde a vacinação, em meses, e título de anticorpos neutralizantes contra febre amarela em controles (A) e pessoas que vivem com HIV (B)

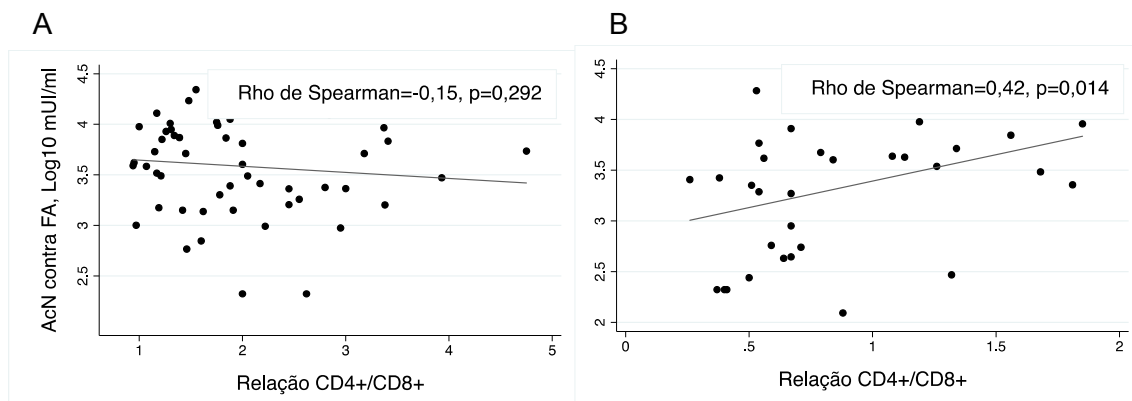


Figura 3 - Correlações entre a relação CD4⁺/CD8⁺ e título de anticorpos neutralizantes contra febre amarela em controles (A) e pessoas que vivem com HIV (B)

4.3 Estudo 3

No período de fevereiro a agosto de 2013, 158 participantes foram incluídos no Estudo 3, sendo 91 acompanhados no ambulatório do IIER, 37 na coorte de recém-infectados do CPC-HCFMUSP e 30 em consultório privado. A mediana de idade dos participantes foi de 44 anos, e 78% dos participantes eram homens. Participantes em acompanhamento no IIER eram significativamente mais velhos e apresentavam maior prevalência comorbidades em relação aos demais participantes. Participantes em acompanhamento no consultório privado apresentavam maior proporção de etnia caucasiana comparativamente aos participantes em seguimento no IIER, e maior proporção de indivíduos com ensino superior completo quando comparados aos demais participantes (Tabela 9).

Tabela 9 - Características demográficas dos participantes incluídos no Estudo 3, de acordo com serviço ambulatorial de origem – 2013*

| | IIER N=91 | CPC N=37 | Consultório N=30 | TOTAL N=158 |
|---------------------------|--------------|-------------|---------------------|----------------|
| Idade – anos [#] | 49 (43-54) | 36 (33-44) | 37 (30-48) | 44 (36-52) |
| Sexo masculino – N (%) | 74 (67) | 84 (31) | 83 (25) | 78 (123) |
| Etnia – N (%) | | | | |
| Caucasiana | 49 (54) | 22 (59) | 25 (83) | 96 (61) |
| Outras | 39 (43) | 15 (41) | 5 (17) | 59 (37) |
| Não informado | 3 (3,3) | - | - | 3 (2) |
| Escolaridade – N (%) | | | | |
| Fundamental incompleto | 4 (4) | - | 1 (3) | 5 (3) |
| Fundamental completo | 18 (20) | 2 (5) | - | 20 (13) |
| Ensino médio | 34 (37) | 16 (43) | 3 (10) | 53 (34) |
| Ensino Superior | 34 (37) | 19 (51) | 26 (87) | 79 (50) |
| Não informado | 1 (1) | - | - | 1 (1) |
| Comorbidades – N (%) | 60 (66) | 12 (33) | 11 (37) | 83 (53) |

*IIER, Instituto de Infectologia Emilio Ribas; CPC, Centro de Pesquisas Clínicas; N, número

[#]Descrita como mediana e intervalo interquartil.

A maioria dos participantes nos três grupos identificou que crianças, adultos com problemas de saúde, adultos saudáveis e idosos são populações para as quais as vacinas são importantes. Uma proporção significativamente menor de participantes acompanhados em consultório privado relatou ter recebido recomendação médica para receber vacinas e ter recebido a vacina contra Influenza na última campanha, quando comparados aos indivíduos em seguimento no IIER.

Em relação ao grau de conhecimento a respeito da FA, embora a maior parte dos participantes tenha corretamente identificado os mosquitos como principais vetores da doença e a vacina como principal estratégia de prevenção, em todos os grupos uma grande porcentagem dos indivíduos demonstrou desconhecer a gravidade potencial e ausência de tratamento específico contra FA.

A presença de discrepância entre a recomendação da vacina FA e o antecedente vacinal, observada quando o participante relatou viajar ou residir em áreas onde a vacina é recomendada mas nunca ter recebido a vacina, foi observada em 19% dos participantes sem diferença estatisticamente significativa entre os grupos (Tabela 10).

Tabela 10 - Respostas ao questionário do Estudo 3 de acordo com serviço ambulatorial de origem – 2013

| | IIER N=91 | CPC N=37 | Consultório N=30 | Total N=158 |
|--|--------------|-------------|---------------------|----------------|
| Para quais grupos de pessoas as vacinas são importantes? – N (%) | | | | |
| Crianças | 82 (90) | 29 (78) | 28 (93) | 139 (88) |
| Adultos com problemas de saúde | 62 (68) | 28 (76) | 26 (87) | 116 (73) |
| Adultos saudáveis | 73 (80) | 33 (89) | 25 (83) | 131 (83) |
| Idosos | 73 (80) | 30 (81) | 28 (93) | 131 (83) |
| Todos os grupos | | | | |
| Recebeu orientação médica para receber alguma vacina durante o tratamento – N (%) | | | | |
| | 81 (89) | 31 (84) | 17 (57) | 129 (82) |
| Recebeu vacina contra Influenza na última campanha – N (%) | | | | |
| | 81 (89) | 30 (81) | 17 (57) | 128 (81) |
| Nível de conhecimento a respeito da febre amarela | | | | |
| Identificou corretamente os mosquitos como vetores – N (%) | | | | |
| | 70 (77) | 31 (86) | 28 (93) | 129 (82) |
| Identificou corretamente que a doença é grave e não tem tratamento específico – N (%) | | | | |
| | 14 (15) | 4 (11) | 5 (17) | 23 (15) |
| Identificou corretamente a vacina como principal forma de prevenção – N (%) | | | | |
| | 74 (81) | 34 (94) | 27 (90) | 135 (86) |
| Discrepância entre recomendação e antecedente de vacinação contra febre amarela | | | | |
| Viaja/reside em áreas onde a vacina é recomendada, mas nunca a recebeu– N (%) | | | | |
| | 17 (19) | 8 (22) | 4 (13) | 29 (19) |

*IIER, Instituto de Infectologia Emilio Ribas; CPC, Centro de Pesquisas Clínicas; N, número

5 Discussão e Conclusões

5 Discussão e Conclusões

Em nosso estudo incluindo PVHIV e controles vacinados contra FA à inclusão (Estudo 1), a infecção por HIV não apresentou efeito estatisticamente significativo sobre o risco de viremia pelo vírus vacinal, ocorrência de eventos adversos clínicos ou eventos adversos laboratoriais. Além disso, não observamos diferença estatisticamente significativa entre os títulos de AcN nos primeiros três meses após a vacinação comparando os grupos de PVHIV e controle. Entretanto a persistência de AcN um ano após a vacinação foi significativamente inferior entre PVHIV. Nessa população, a contagem de linfócitos T CD8⁺ e a relação CD4⁺/CD8⁺ associaram-se ao título de AcN aferido durante o primeiro ano após a vacinação, enquanto a contagem de linfócitos T CD4⁺ e a presença de viremia por GBV-C não apresentaram associação estatisticamente significativa com esse desfecho.

Entre pessoas com vacinação contra FA pregressa (Estudo 2), a infecção por HIV associou-se a títulos inferiores de AcN específicos contra FA independentemente da idade, sexo e tempo decorrido desde a vacinação. Além disso, observamos correlação inversa entre o tempo decorrido desde a vacinação e os títulos de AcN em PVHIV, mas não entre participantes do grupo controle, reforçando a hipótese de menor persistência de AcN após a vacinação identificada do Estudo 1. Finalmente, não observamos em PVHIV associação entre a viremia por GBV-C ou a contagem de linfócitos T CD4⁺ e títulos de AcN contra FA, mas a relação CD4⁺/CD8⁺ correlacionou-se a este desfecho, confirmando os resultados do Estudo 1.

No Estudo 3, demonstramos que PVHIV em seguimento em diferentes serviços ambulatoriais apresentam elevada prevalência de discrepância entre a recomendação e o uso da vacina FA, embora esta seja a principal estratégia de prevenção da doença disponível há mais de 70 anos.

Os resultados do nosso trabalho são coerentes com a observação de diversos estudos prévios, mostrando que PVHIV com contagens de linfócitos T CD4⁺ dentro do limite da normalidade ainda apresentam evolução clínica desfavorável quando comparadas a pessoas não infectadas^{1,15,81}.

Além disso nossos achados proveem importantes respostas para a compreensão da imunogenicidade da VFA entre PVHIV em acompanhamento na atualidade. Enquanto estudos prévios não forneciam dados definitivos sobre o mecanismo da imunogenicidade inferior da VFA entre PVHIV, nosso estudo mostrou que a resposta vacinal inicial é aparentemente adequada, porém a duração da resposta é inferior entre PVHIV. Uma importante implicação prática desse achado diz respeito à necessidade de reforço vacinal após a primeira dose da vacina FA entre PVHIV. Embora a vacina FA seja altamente eficaz em indivíduos saudáveis, produzindo resposta humoral de longa duração^{31,32}, recomendações de uso da vacina em dose única sem reforço periódico³³ provavelmente não se aplicam a PVHIV, e o uso de pelo menos uma dose de reforço é recomendável para esta população⁸². Entretanto, o intervalo ideal entre as doses não é conhecido para esta população.

Enquanto a resposta a VFA em estudos progressos associava-se a contagens de linfócitos T CD4⁺ e CVHIV²³⁻²⁵, no nosso estudo a contagem de linfócitos T CD8⁺ e, mais significativamente, a relação CD4⁺/CD8⁺, associaram-se ao título de AcN aferido durante o primeiro ano após a vacinação. Esse resultado é coerente com diversos estudos publicados que demonstraram que a relação CD4⁺/CD8⁺ é um marcador da ativação imune residual e pode ser um indicador prognóstico possivelmente mais relevante do que a contagem de linfócitos T CD4⁺ entre PVHIV sob TARV eficaz^{51,53,83,84}. Além disso, nossos achados ressaltam a necessidade de identificar intervenções para reduzir a ativação imune excessiva observada entre PVHIV sob tratamento⁵⁰.

Observamos uma prevalência elevada de viremia positiva para GBV-C tanto entre PVHIV como controles, que não teve associação

estatisticamente significativa com os títulos de AcN contra FA. No passado, a infecção crônica por GBV-C, caracterizada pela presença de viremia persistentemente positiva, foi associada a melhor evolução imunológica e clínica entre PVHIV. Os possíveis mecanismos associados a esse efeito foram a inibição da entrada, replicação e reativação viral, e a redução da ativação imune^{56,57,85-91}. Entretanto, a associação entre a viremia por GBV-C e resposta a vacinas não havia sido estudada até o presente. Poucos estudos realizados em períodos mais recentes do uso da TARV não foram consistentes em demonstrar efeito benéfico da infecção por GBV-C sobre a evolução clínica e laboratorial de PVHIV^{92,93}, e estudos avaliando esta associação em PVHIV tratadas precocemente com TARV não estão disponíveis. Nossos resultados sugerem que o efeito benéfico da infecção por GBV-C observado no passado pode ter sido atenuado ou eliminado pelo uso mais precoce e consistente da TARV, resultando na inibição da replicação do HIV e redução da ativação imune; entretanto, essa hipótese necessita investigação adicional.

Nosso trabalho teve limitações importantes. A inclusão de participantes para o Estudo 1 foi dificultada pelo elevado número de visitas. Além disso, a indicação da vacinação foi feita com base em viagens programadas que comprometeram o seguimento no estudo. Embora o número de participantes incluídos tenha sido suficiente para demonstrar a associação entre a infecção por HIV e menores títulos de AcN específicos contra FA um ano após a vacinação, não podemos descartar definitivamente a existência de um efeito mais tênue da infecção por HIV sobre os títulos de AcN nos primeiros 3 meses após a vacinação. Além disso o tamanho amostral foi inadequado para a análise conclusiva do efeito da infecção por HIV sobre o risco de viremia pelo vírus vacinal e ocorrência de EA clínicos ou laboratoriais. A associação entre infecção por HIV e menor persistência de AcN contra FA pode ter sido parcialmente distorcida pela presença de fatores de confusão tais como variáveis comportamentais (tabagismo, etilismo, uso de drogas ilícitas), nutricionais e comorbidades mais prevalentes entre PVHIV e possivelmente associadas a menor resposta a

vacinas. Porém esses potenciais fatores de confusão foram em grande parte eliminados através da aplicação dos critérios de exclusão dos estudos 1 e 2, e é improvável que tenham exercido efeito determinante nos resultados. Finalmente, a infecção crônica por GBV-C foi avaliada através da detecção de viremia em uma única amostra, não discriminando as infecções recentes ainda não resolvidas das infecções crônicas.

Em conclusão, a menor imunogenicidade da VFA entre PVHIV demonstrada no passado parece persistir entre PVHIV em seguimento na atualidade, principalmente devido a menor persistência de AcN após a vacinação. A ativação imune persistente, quantificada em nosso estudo através da relação $CD4^+/CD8^+$, associou-se inversamente ao título de AcN específicos contra FA entre PVHIV. Nossos resultados enfatizam a necessidade de novas intervenções na população de PVHIV a fim de melhorar a adesão às recomendações de uso da vacina, e reduzir a ativação imune excessiva, persistente em detrimento de TARV eficaz. Além disso, novos estudos são necessários para determinar o intervalo de tempo ideal para administração de reforço da VFA nessa população.

6 Anexos

6.1 Anexo A: Cartão de sintomas do Estudo 1

Avaliação da imunogenicidade da vacina contra Febre Amarela 17DD em populações especiais

Data da vacinação:

___/___/___

| Projeto | Subestudo | Grupo | Número | | |
|---------|-----------|-------|--------|--|--|
| | S__ | | | | |

CARTÃO DE SINTOMAS – 10 dias

___/___/___

| D0 | D1 | D2 | D3 | D4 | D5 | D6 | D7 | D8 | D9 | D10 |
|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|-----|
|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|-----|

Instruções para preenchimento:

-Você deve medir a temperatura com termômetro na axila caso perceba mal estar ou calafrios.

-Os sintomas apresentados podem ser de intensidade leve, moderada ou grave, conforme a descrição abaixo:

-Sintomas leves: apenas desconforto mínimo. Eu fiz todas as minhas atividades habituais.

-Sintomas moderados: eu notei o sintoma. Não consegui fazer tudo o que faço habitualmente.

-Sintomas graves: o sintoma realmente me incomodou. Não me permitiu fazer tarefas importantes.

-Sangramento: assinale sim se houve algum sangramento nas fezes, vômito ou urina. Anote também se você observou sangramento maior que o normal em algum corte ou pelo nariz.

| | | |
|--|---------------------------|--|
| Você teve alguma reação a vacina contra Febre Amarela? | () Não (fim da ficha) | () Sim |
| Dor | () Não | () Sim. Assinale a intensidade: () Sensibilidade (dói somente quando tocado) () Dor leve (o local dói mesmo sem ser tocado, mas consegui usar meu braço como sempre uso) () Dor moderada (notei a dor e não usei meu braço como habitualmente) () Dor grave (a dor não me permitiu fazer tarefas importantes) |
| Vermelhidão | () Não | () Sim. Assinale a intensidade: () Leve () Moderada () Grave |

| | | |
|----------------------------------|------------------------------|---|
| Inchaço | <input type="checkbox"/> Não | <input type="checkbox"/> Sim. Assinale a intensidade: <input type="checkbox"/> Leve <input type="checkbox"/> Moderado <input type="checkbox"/> Grave |
| Febre | <input type="checkbox"/> Não | <input type="checkbox"/> Sim. Temperatura: _____ graus |
| Dor no corpo | <input type="checkbox"/> Não | <input type="checkbox"/> Sim. Assinale a intensidade: <input type="checkbox"/> Leve <input type="checkbox"/> Moderada <input type="checkbox"/> Grave |
| Dor de cabeça | <input type="checkbox"/> Não | <input type="checkbox"/> Sim. Assinale a intensidade: <input type="checkbox"/> Leve <input type="checkbox"/> Moderada <input type="checkbox"/> Grave |
| Náuseas | <input type="checkbox"/> Não | <input type="checkbox"/> Sim. Assinale a intensidade: <input type="checkbox"/> Leve <input type="checkbox"/> Moderada <input type="checkbox"/> Grave |
| Vômitos | <input type="checkbox"/> Não | <input type="checkbox"/> Sim. Assinale a intensidade: <input type="checkbox"/> Leve <input type="checkbox"/> Moderada <input type="checkbox"/> Grave |
| Mal estar | <input type="checkbox"/> Não | <input type="checkbox"/> Sim. Assinale a intensidade: <input type="checkbox"/> Leve <input type="checkbox"/> Moderado <input type="checkbox"/> Grave |
| Manchas na pele | <input type="checkbox"/> Não | <input type="checkbox"/> Sim. Assinale a intensidade: <input type="checkbox"/> Leve <input type="checkbox"/> Moderada <input type="checkbox"/> Grave |
| Chiado no peito | <input type="checkbox"/> Não | <input type="checkbox"/> Sim |
| Inchaço nos lábios ou pálpebras | <input type="checkbox"/> Não | <input type="checkbox"/> Sim |
| Sonolência | <input type="checkbox"/> Não | <input type="checkbox"/> Sim. Assinale a intensidade: <input type="checkbox"/> Leve <input type="checkbox"/> Moderada <input type="checkbox"/> Grave |
| Tontura | <input type="checkbox"/> Não | <input type="checkbox"/> Sim. Assinale a intensidade: <input type="checkbox"/> Leve <input type="checkbox"/> Moderada <input type="checkbox"/> Grave |
| Confusão mental ou desorientação | <input type="checkbox"/> Não | <input type="checkbox"/> Sim |
| Convulsões | <input type="checkbox"/> Não | <input type="checkbox"/> Sim |
| Olhos amarelos | <input type="checkbox"/> Não | <input type="checkbox"/> Sim |
| Sangramento | <input type="checkbox"/> Não | <input type="checkbox"/> Sim |

6.2 Anexo B: Questionário do Estudo 3

Projeto de Pesquisa: Avaliação do nível de informação e adesão a vacinas em serviços ambulatoriais de atendimento a pessoas que vivem com HIV do município de São Paulo.

Pesquisadora: Dra. Vivian Iida Avelino-Silva Data: ____/____/____

Esta pesquisa tem como objetivo esclarecer qual é seu grau de conhecimento a respeito da Febre Amarela e a respeito de vacinas em geral. Seu tratamento não sofrerá qualquer alteração se você optar por participar. Sua identidade não será revelada durante a pesquisa. Você concorda em responder este questionário?

Sim Não

Rubrica: _____

1. Data de nascimento: ____/____/____ Masculino Feminino

2. Etnia

Branco Negro Pardo Amarelo Outro

3. Escolaridade

Até 4ª fundamental 4ª – 8ª fundamental 1º–3º ano ensino médio

Ensino superior (completo ou incompleto)

4. Para quais grupos de pessoas as vacinas são importantes? Assinale todas as alternativas que você acredita que são corretas:

Crianças Adultos saudáveis

Adultos com problemas de saúde Idosos

5. Você foi orientado(a) por seu médico(a) para receber alguma vacina durante o tratamento?

Sim Não Não sei

6. Recebeu vacina contra gripe na última campanha?

Sim Não Não sei

7. Você possui outros problemas crônicos de saúde?

- Sim Não Não sei

8. Se sim, qual (quais):

- Pressão Alta Diabetes Colesterol elevado Hepatite B ou C

Outro. Qual: _____

9. Você sabe como ocorre a transmissão da Febre Amarela? Assinale todas as alternativas que você acredita que são corretas:

- Sangue contaminado Secreções respiratórias Picadas de mosquitos
 Alimentos contaminados Outro Não sei

10. A pessoa que adoece por Febre Amarela pode apresentar:

- Um quadro muito leve de febre, que geralmente passa sozinho sem maiores consequências
 Um quadro grave de febre e alterações no fígado e em outros órgãos, mas que tem tratamento eficaz e melhora em quase todos os casos
 Um quadro grave de febre e alterações no fígado e em outros órgãos, que não tem tratamento específico e tem alta letalidade
 Não sei

11. Como é possível prevenir a Febre Amarela? Assinale todas as corretas.

- Uso de repelentes contra insetos Vacina
 Medicamentos contra o vírus Não sei
 Outro (s). Qual: _____

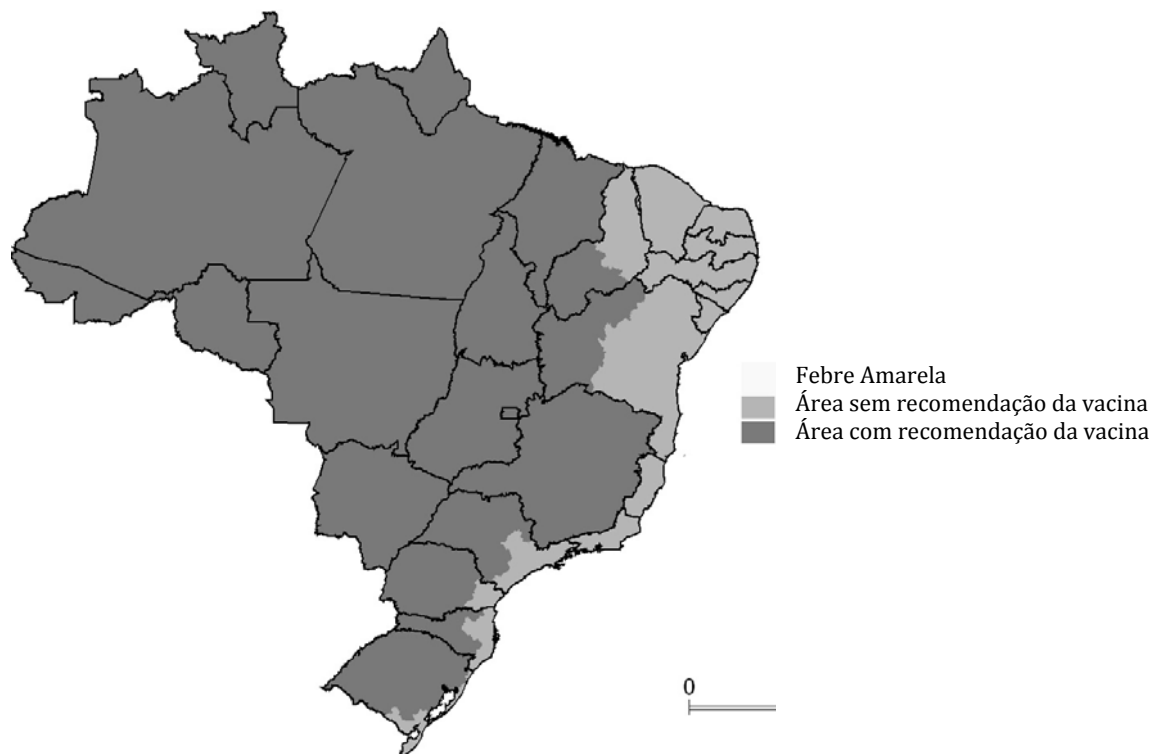
12. As áreas escuras no mapa da próxima folha mostram as regiões de indicação da vacina contra Febre Amarela. Você mora ou viaja para essas áreas?

- Sim Não Não sei

13. Já recebeu vacina contra Febre Amarela?

- Sim Não Não sei

Muito obrigada por sua contribuição!



7 Referências

7 Referências

1. Bhaskaran K, Hamouda O, Sannes M, Boufassa F, Johnson AM, Lambert PC, Porter K; CASCADE Collaboration. Changes in the risk of death after HIV seroconversion compared with mortality in the general population. *JAMA*. 2008;300(1):51-59.
2. Antiretroviral Therapy Cohort C. Life expectancy of individuals on combination antiretroviral therapy in high-income countries: a collaborative analysis of 14 cohort studies. *Lancet*. 2008;372(9635):293-299.
3. Schouten J, Wit FW, Stolte IG, Kootstra NA, van der Valk M, Geerlings SE, Prins M, Reiss P; AGEHIV Cohort Study Group. Cross-sectional comparison of the prevalence of age-associated comorbidities and their risk factors between HIV-infected and uninfected individuals: the AGEHIV cohort study. *Clin Infect Dis*. 2014;59(12):1787-97.
4. Salmon-Ceron D, Lewden C, Morlat P, Bévilacqua S, Jouglu E, Bonnet F, Héripert L, Costagliola D, May T, Chêne G; Mortality 2000 Study Group. Liver disease as a major cause of death among HIV infected patients: role of hepatitis C and B viruses and alcohol. *J Hepatol*. 2005;42(6):799-805.
5. Choi AI, Shlipak MG, Hunt PW, Martin JN, Deeks SG. HIV-infected persons continue to lose kidney function despite successful antiretroviral therapy. *Aids*. 2009;23(16):2143-2149.

6. Hsue PY, Deeks SG, Hunt PW. Immunologic basis of cardiovascular disease in HIV-infected adults. *J Infect Dis.* 2012;205 Suppl 3:S375-382.
7. Heaton RK, Franklin DR, Ellis RJ, McCutchan JA, Letendre SL, Leblanc S, Corkran SH, Duarte NA, Clifford DB, Woods SP, Collier AC, Marra CM, Morgello S, Mindt MR, Taylor MJ, Marcotte TD, Atkinson JH, Wolfson T, Gelman BB, McArthur JC, Simpson DM, Abramson I, Gamst A, Fennema-Notestine C, Jernigan TL, Wong J, Grant I; CHARTER Group; HNRC Group. HIV-associated neurocognitive disorders before and during the era of combination antiretroviral therapy: differences in rates, nature, and predictors. *J Neurovirol.* 2011;17(1):3-16.
8. Brown TT, Qaqish RB. Antiretroviral therapy and the prevalence of osteopenia and osteoporosis: a meta-analytic review. *Aids.* 2006;20(17): 2165-2174.
9. Silverberg MJ, Chao C, Leyden WA, Xu L, Tang B, Horberg MA, Klein D, Quesenberry CP Jr, Towner WJ, Abrams DI. HIV infection and the risk of cancers with and without a known infectious cause. *Aids.* 2009;23(17):2337-2345.
10. Danel C GD, Le Carrou J, Anglaret X, Moh R, Eholie S, Ménan H, Badje A, Kouame G, Ntakpe JB. Early ART and IPT in HIV-Infected African adults with high CD4 count (Temprano Trial). Paper presented at: Conference on Retroviruses and Opportunistic Infections; February 23-26, 2015, 2015; Seattle, Washington, USA.

11. Sogaard OS, Lohse N, Gerstoff J, Kronborg G, Ostergaard L, Pedersen C, Pedersen G, Sørensen HT, Obel N. Hospitalization for pneumonia among individuals with and without HIV infection, 1995-2007: a Danish population-based, nationwide cohort study. *Clin Infect Dis*. 2008;47(10): 1345-1353.
12. Group TAS. A trial of early antiretrovirals and isoniazid preventive therapy in Africa. *N Engl J Med*. 2015 Jul 20.
13. Richardson K, Weinberg A. Reduced immunogenicity of influenza vaccines in HIV-infected compared with uninfected pregnant women is associated with regulatory T cells. *Aids*. 2011;25(5):595-602.
14. Weinberg A, Gona P, Nachman SA, Defechereux P, Yogev R, Hughes W, Wara D, Spector SA, Read J, Elgie C, Cooper M, Dankner W; Pediatric AIDS Clinical Trials Group 1008 Team. Antibody responses to hepatitis A virus vaccine in HIV-infected children with evidence of immunologic reconstitution while receiving highly active antiretroviral therapy. *J Infect Dis*. 2006;193(2):302-311.
15. Okulicz JF, Le TD, Agan BK, Camargo JF, Landrum ML, Wright E, Dolan MJ, Ganesan A, Ferguson TM, Smith DM, Richman DD, Little SJ, Clark RA, He W, Ahuja SK. Influence of the timing of antiretroviral therapy on the potential for normalization of immune status in human immunodeficiency virus 1-infected individuals. *JAMA Intern Med*. 2015;175(1):88-99.
16. Rubin LG, Levin MJ, Ljungman P, Davies EG, Avery R, Tomblyn M, Bousvaros A, Dhanireddy S, Sung L, Keyserling H, Kang I, Infectious Diseases Society of America. 2013 IDSA clinical practice guideline for vaccination of the immunocompromised host. *Clin Infect Dis*. 2014; 58(3):e44-100.

17. Miraglia JL, Abdala E, Hoff PM, Luiz AM, Oliveira DS, Saad CG, Laurindo IM, Viso AT, Tayra A, Pierrotti LC, Azevedo LS, Campos LM, Aikawa NE, Timenetsky Mdo C, Luna E, Cardoso MR, Guedes Jda S, Raw I, Kalil J, Precioso AR. Immunogenicity and reactogenicity of 2009 influenza A (H1N1) inactivated monovalent non-adjuvanted vaccine in elderly and immunocompromised patients. *PLoS One*. 2011;6(11):e27214.
18. Abzug MJ, Pelton SI, Song LY, Fenton T, Levin MJ, Nachman SA, Borkowsky W, Rosenblatt HM, Marcinek 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):920-929.
19. Bamford A, Kelleher P, Lyall H, Haston M, Zancolli M, Goldblatt D, Kampmann B. Serological response to 13-valent pneumococcal conjugate vaccine in children and adolescents with perinatally acquired HIV infection. *Aids*. 2014;28(14):2033-2043.
20. Crum-Cianflone NF, Wilkins K, Lee AW, Grosso A, Landrum ML, Weintrob A, Ganesan A, Maguire J, Klopfer S, Brandt C, Bradley WP, Wallace MR, Agan BK; Infectious Disease Clinical Research Program HIV Working Group. Long-term durability of immune responses after hepatitis A vaccination among HIV-infected adults. *J Infect Dis*. 2011;203(12):1815-1823.
21. Lopes VB, Hassing RJ, de Vries-Sluijs TE, El Barzouhi A, Hansen BE, Schutten M, de Man RA, van der Ende ME. Long-term response rates of successful hepatitis B vaccination in HIV-infected patients. *Vaccine*. 2013;31(7):1040-1044.

22. Sibailly TS, Wiktor SZ, Tsai TF, Cropp BC, Ekpini ER, Adjorlolo-Johnson G, Gnaore E, DeCock KM, Greenberg AE. Poor antibody response to yellow fever vaccination in children infected with human immunodeficiency virus type 1. *Pediatr Infect Dis J.* 1997;16(12):1177-1179.
23. Veit O, Niedrig M, Chapuis-Taillard C, Cavassini M, Mosssdorf E, Schmid P, Bae HG, Litzba N, Staub T, Hatz C, Furrer H; Swiss HIV Cohort Study. Immunogenicity and safety of yellow fever vaccination for 102 HIV-infected patients. *Clin Infect Dis.* 2009;48(5):659-666.
24. Sidibe M, Yactayo S, Kalle A, Sall AA, Sow S, Ndoutabe M, Perea W, Avokey F, Lewis RF, Veit O. Immunogenicity and safety of yellow fever vaccine among 115 HIV-infected patients after a preventive immunisation campaign in Mali. *Trans R Soc Trop Med Hyg.* 2012;106(7):437-444.
25. Pacanowski J, Lacombe K, Campa P, Dabrowska M, Poveda JD, Meynard JL, Poirot JL, Fonquernie L, Girard PM. Plasma HIV-RNA is the key determinant of long-term antibody persistence after Yellow fever immunization in a cohort of 364 HIV-infected patients. *J Acquir Immune Defic Syndr.* 2012;59(4):360-367.
26. Monath TP. Yellow fever: an update. *Lancet Infect Dis.* 2001;1(1):11-20.
27. Mandell GL BJ, Dolin R. *Principles and practice of infectious disease.* Vol 1. 6th ed. Pennsylvania, Elsevier; 2005.
28. Novas Recomendações para Vacinação Contra Febre Amarela no Estado de São Paulo. Centro de Vigilância Epidemiológica “Prof. Alexandre Vranjac”. 2009.

29. Hamer DH, Connor BA. Travel health knowledge, attitudes and practices among United States travelers. *J Travel Med.* 2004;11(1):23-26.
30. Perez-Molina JA, Martinez-Perez A, Serre N, Treviño B, Ruiz-Giardín JM, Torrús D, Goikoetxea J, Echevarría EM, Malmierca E, Rojo G, Calabuig E, Gutierrez B, Norman F, Lopez-Velez R; +REDIVI Collaborative Network. Characteristics of HIV infected individuals traveling abroad. Results from the +REDIVI Collaborative Network. *Enferm Infecc Microbiol Clin.* 2015 May 25.
31. Camacho LA, Freire Mda S, Leal Mda L, Aguiar SG, Nascimento JP, Iguchi T, Lozana Jde A, Farias RH; Collaborative Group for the Study of Yellow Fever Vaccines. Immunogenicity of WHO-17D and Brazilian 17DD yellow fever vaccines: a randomized trial. *Rev Saude Publica.* 2004;38(5):671-678.
32. Poland JD, Calisher CH, Monath TP, Downs WG, Murphy K. Persistence of neutralizing antibody 30-35 years after immunization with 17D yellow fever vaccine. *Bull World Health Organ.* 1981;59(6): 895-900.
33. Who. Vaccines and vaccination against yellow fever: WHO Position Paper, June 2013-Recommendations. *Vaccine.* 2014.
34. Monath TP, Seligman SJ, Robertson JS, Guy B, Hayes EB, Condit RC, Excler JL, Mac LM, Carbery B, Chen RT; Brighton Collaboration Viral Vector Vaccines Safety Working Group (V3SWG). Live virus vaccines based on a yellow fever vaccine backbone: standardized template with key considerations for a risk/benefit assessment. *Vaccine.* 2015;33(1):62-72.

35. Martins MA, Bonaldo MC, Rudersdorf RA, Piaskowski SM, Rakasz EG, Weisgrau KL, Furlott JR, Eernisse CM, Veloso de Santana MG, Hidalgo B, Friedrich TC, Chiuchiolo MJ, Parks CL, Wilson NA, Allison DB, Galler R, Watkins DI. Immunogenicity of seven new recombinant yellow fever viruses 17D expressing fragments of SIVmac239 Gag, Nef, and Vif in Indian rhesus macaques. *PLoS One*. 2013;8(1): e54434.
36. Martins MA, Wilson NA, Piaskowski SM, Weisgrau KL, Furlott JR, Bonaldo MC, Veloso de Santana MG, Rudersdorf RA, Rakasz EG, Keating KD, Chiuchiolo MJ, Piatak M Jr, Allison DB, Parks CL, Galler R, Lifson JD, Watkins DI. Vaccination with Gag, Vif, and Nef gene fragments affords partial control of viral replication after mucosal challenge with SIVmac239. *J Virol*. 2014;88(13):7493-7516.
37. Brasil. Ministério da Saúde. *Mortes de macacos e a prevenção da febre amarela no Brasil, 2007 e 2008*. Brasília: Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de Vigilância Epidemiológica, Coordenação Geral de Doenças Transmissíveis; 2008.
38. Brasil. Ministério da Saúde. *Áreas de risco para Febre Amarela silvestre*. Brasília: Ministério da Saúde; 2003.
39. Brasil. Ministério da Saúde. *Situação da Febre Amarela Silvestre no Brasil, 2007 e 2008*. Brasília: Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde; 2008.
40. Brasil. Ministério da Saúde. *Áreas com recomendação de vacina contra a Febre Amarela no Brasil, 2008/2009*. Brasília: Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de Vigilância Epidemiológica, Coordenação Geral de Doenças Transmissíveis; 2008.

41. Brasil. Ministério da Saúde. *Febre Amarela Silvestre, Estado de São Paulo, 2009*. Brasília: Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de Vigilância Epidemiológica, Secretaria de Estado da Saúde, Centro de Vigilância Epidemiológica "Alexandre Vranjac";2009.
42. Brasil. Ministério da Saúde. *Emergências em Saúde Pública de Importância Nacional (ESPIN) de Febre Amarela Silvestre em São Paulo e no Rio Grande do Sul e a Situação Epidemiológica Atual no Brasil (2008/2009)*. Boletim de atualização dezembro - 2009. Brasília: Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde; 2009.
43. Brasil. Ministério da Saúde. *Mapa das Áreas com e sem recomendação de vacinação para febre amarela no Brasil*. Brasília: Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde; 2009.
44. Romano AP, Costa ZG, Ramos DG, Andrade MA, Jayme Vde S, Almeida MA, Vettorello KC, Mascheretti M, Flannery B. Yellow Fever outbreaks in unvaccinated populations, Brazil, 2008-2009. *PLoS Negl Trop Dis*. 2014;8(3):e2740.
45. Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Programa Nacional de DST e Aids. *Recomendações para Terapia Anti-retroviral em Adultos Infectados pelo HIV*. 7a. ed. Brasília: Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Programa Nacional de DST e Aids; 2008.
46. Centers for Disease Control and Prevention. Yellow fever vaccine; recommendations of the Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP). *MMWR*. 2002;51(RR-17).

47. Centers for Disease Control and Prevention. Yellow Fever Vaccine. Recommendations of the Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP). *MMWR* 2010; 59 (No. RR-7): 32 pp.
48. Boyer J RL, Frank I, Teba P. Chronic inflammation in HIV-1 infected individuals reduces T-cell responsiveness to vaccines. Paper presented at: Conference on Retroviruses and Opportunistic Diseases 2015; Seattle, Washington.
49. Muyanja E, Ssemaganda A, Ngauv P, Cubas R, Perrin H, Srinivasan D, Canderan G, Lawson B, Kopycinski J, Graham AS, Rowe DK, Smith MJ, Isern S, Michael S, Silvestri G, Vanderford TH, Castro E, Pantaleo G, Singer J, Gillmour J, Kiwanuka N, Nanvubya A, Schmidt C, Birungi J, Cox J, Haddad EK, Kaleebu P, Fast P, Sekaly RP, Trautmann L, Gaucher D. Immune activation alters cellular and humoral responses to yellow fever 17D vaccine. *J Clin Invest*. 2014;124(7):3147-3158.
50. Hunt PW. HIV and inflammation: mechanisms and consequences. *Curr HIV/AIDS Rep*. 2012;9(2):139-147.
51. Hunt PW, Cao HL, Muzoora C, Ssewanyana I, Bennett J, Emenyonu N, Kembabazi A, Neilands TB, Bangsberg DR, Deeks SG, Martin JN. Impact of CD8+ T-cell activation on CD4+ T-cell recovery and mortality in HIV-infected Ugandans initiating antiretroviral therapy. *Aids*. 2011;25(17):2123-2131.
52. Lederman MM, Funderburg NT, Sekaly RP, Klatt NR, Hunt PW. Residual immune dysregulation syndrome in treated HIV infection. *Adv Immunol*. 2013;119:51-83.

53. Serrano-Villar S, Sainz T, Lee SA, Hunt PW, Sinclair E, Shacklett BL, Ferre AL, Hayes TL, Somsouk M, Hsue PY, Van Natta ML, Meinert CL, Lederman MM, Hatano H, Jain V, Huang Y, Hecht FM, Martin JN, McCune JM, Moreno S, Deeks SG. HIV-infected individuals with low CD4/CD8 ratio despite effective antiretroviral therapy exhibit altered T cell subsets, heightened CD8+ T cell activation, and increased risk of non-AIDS morbidity and mortality. *PLoS Pathog.* 2014;10(5):e1004078.
54. Giret MT, Miraglia JL, Sucupira MC, Nishiya A, Levi JE, Diaz RS, Sabino EC, Kallas EG. Prevalence, incidence density, and genotype distribution of GB virus C infection in a cohort of recently HIV-1-infected subjects in Sao Paulo, Brazil. *PLoS One.* 2011;6(4):e18407.
55. Bhattarai N, Rydze RT, Chivero ET, Stapleton JT. GB virus C viremia is associated with higher levels of double-negative T cells and lower T-cell activation in HIV-infected individuals receiving antiretroviral therapy. *J Infect Dis.* 2012;206(9):1469-1472.
56. Maidana-Giret MT, Silva TM, Sauer MM, Tomiyama H, Levi JE, Bassichetto KC, Nishiya A, Diaz RS, Sabino EC, Palacios R, Kallas EG. GB virus type C infection modulates T-cell activation independently of HIV-1 viral load. *Aids.* 2009;23(17):2277-2287.
57. Stapleton JT, Martinson JA, Klinzman D, Xiang J, Desai SN, Landay A. GB virus C infection and B-cell, natural killer cell, and monocyte activation markers in HIV-infected individuals. *Aids.* 2013;27(11):1829-1832.
58. Lindsey NP, Schroeder BA, Miller ER, Braun MM, Hinckley AF, Marano N, Slade BA, Barnett ED, Brunette GW, Horan K, Staples JE, Kozarsky PE, Hayes EB. Adverse event reports following yellow fever vaccination. *Vaccine.* 2008;26(48):6077-6082.

59. Vasconcelos PF, Luna EJ, Galler R, Silva LJ, Coimbra TL, Barros VL, Monath TP, Rodrigues SG, Laval C, Costa ZG, Vilela MF, Santos CL, Papaiordanou PM, Alves VA, Andrade LD, Sato HK, Rosa ES, Froguas GB, Lacava E, Almeida LM, Cruz AC, Rocco IM, Santos RT, Oliva OF; Brazilian Yellow Fever Vaccine Evaluation Group. Serious adverse events associated with yellow fever 17DD vaccine in Brazil: a report of two cases. *Lancet*. 2001;358(9276):91-97.
60. Silva ML, Espirito-Santo LR, Martins MA, Silveira-Lemos D, Peruhype-Magalhães V, Caminha RC, de Andrade Maranhão-Filho P, Auxiliadora-Martins M, de Menezes Martins R, Galler R, da Silva Freire M, Marcovistz R, Homma A, Teuwen DE, Elói-Santos SM, Andrade MC, Teixeira-Carvalho A, Martins-Filho OA. Clinical and immunological insights on severe, adverse neurotropic and viscerotropic disease following 17D yellow fever vaccination. *Clin Vaccine Immunol*. 2010;17(1):118-126.
61. Doblaz A, Domingo C, Bae HG, Bohórquez CL, de Ory F, Niedrig M, Mora D, Carrasco FJ, Tenorio A. Yellow fever vaccine-associated viscerotropic disease and death in Spain. *J Clin Virol*. 2006;36(2):156-158.
62. Hayes EB. Acute viscerotropic disease following vaccination against yellow fever. *Trans R Soc Trop Med Hyg*. 2007;101(10):967-971.
63. Kitchener S. Viscerotropic and neurotropic disease following vaccination with the 17D yellow fever vaccine, ARILVAX. *Vaccine*. 2004;22(17-18):2103-2105.
64. Gerasimon G, Lowry K. Rare case of fatal yellow fever vaccine-associated viscerotropic disease. *South Med J*. 2005;98(6):653-656.

65. Whittembury A, Ramirez G, Hernandez H, Ropero AM, Waterman S, Ticona M, Brinton M, Uchuya J, Gershman M, Toledo W, Staples E, Campos C, Martínez M, Chang GJ, Cabezas C, Lanciotti R, Zaki S, Montgomery JM, Monath T, Hayes E. Viscerotropic disease following yellow fever vaccination in Peru. *Vaccine*. 2009;27(43):5974-81.
66. Struchiner CJ, Luz PM, Dourado I, Sato HK, Aguiar SG, Ribeiro JG, Soares RC, Codeço CT. Risk of fatal adverse events associated with 17DD yellow fever vaccine. *Epidemiol Infect*. 2004;132(5):939-946.
67. De Menezes Martins R, Da Luz Fernandes Leal M, Homma A. Safety of yellow fever vaccine. *Hum Vaccin Immunother*. 2015 Jun 19:0.
68. Bruyand M, Receveur MC, Pistone T, Verdiere CH, Thiebaut R, Malvy D. [Yellow fever vaccination in non-immunocompetent patients]. *Med Mal Infect*. 2008;38(10):524-532.
69. Kengsakul K, Sathirapongsasuti K, Punyagupta S. Fatal myeloencephalitis following yellow fever vaccination in a case with HIV infection. *J Med Assoc Thai*. 2002;85(1):131-134.
70. Tattevin P, Depatureaux AG, Chapplain JM, Dupont M, Souala F, Arvieux C, Poveda JD, Michelet C. Yellow fever vaccine is safe and effective in HIV-infected patients. *Aids*. 2004;18(5):825-827.
71. Ho YL, Enohata T, Lopes MH, De Sousa Dos Santos S. Vaccination in Brazilian HIV-infected adults: a cross-sectional study. *AIDS Patient Care STDS*. 2008;22(1):65-70.
72. Receveur MC, Thiebaut R, Vedy S, Malvy D, Mercie P, Bras ML. Yellow fever vaccination of human immunodeficiency virus-infected patients: report of 2 cases. *Clin Infect Dis*. 2000;31(3):E7-8.

73. Pistone T, Verdiere CH, Receveur MC, Ezzedine K, Lafon ME, Malvy D. Immunogenicity and tolerability of yellow fever vaccination in 23 French HIV-infected patients. *Curr HIV Res.* 2010;8(6):461-466.
74. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Transmission of yellow fever vaccine virus through breast-feeding --- Brazil, 2009. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep.* 2010;59(5):130-132.
75. U.S. Department of Health and Human Services, National Institutes of Health, National Institute of Allergy and Infectious Diseases, Division of AIDS. *Division of AIDS (DAIDS) Table for Grading the Severity of Adult and Pediatric Adverse Events, Version 2.0. [November 2014].* Disponível em: http://rsc.tech-res.com/Document/safetyandpharmacovigilance/DAIDS_AE_GRADING_TABLE_v2_NOV2014.pdf
76. Simoes M, Camacho LA, Yamamura AM, Miranda EH, Cajaraville AC, da Silva Freire M. Evaluation of accuracy and reliability of the plaque reduction neutralization test (micro-PRNT) in detection of yellow fever virus antibodies. *Biologicals.* 2012;40(6):399-404.
77. Niedrig M, Kursteiner O, Herzog C, Sonnenberg K. Evaluation of an indirect immunofluorescence assay for detection of immunoglobulin M (IgM) and IgG antibodies against yellow fever virus. *Clin Vaccine Immunol.* 2008;15(2):177-181.
78. Niedrig M, Lademann M, Emmerich P, Lafrenz M. Assessment of IgG antibodies against yellow fever virus after vaccination with 17D by different assays: neutralization test, haemagglutination inhibition test, immunofluorescence assay and ELISA. *Trop Med Int Health.* 1999; 4(12):867-871.

79. Dobler G, Jelinek T, Frosner G, Nothdurft HD, Loscher T. [Cross reactions of patients with acute dengue fever to tick-borne encephalitis]. *Wien Med Wochenschr.* 1997;147(19-20):463-464.
80. Control. NifBSa. WHO reference reagent. The 1st international reference preparation for anti-yellow fever serum monkey NIBSC code: YF. Disponível em: <http://www.nibsc.ac.uk/documents/ifu/YF.pdf>; [cited 15.03.2011]. 2008.
81. Klatt NR, Chomont N, Douek DC, Deeks SG. Immune activation and HIV persistence: implications for curative approaches to HIV infection. *Immunol Rev.* 2013;254(1):326-342.
82. Collaborative group for studies on yellow fever vaccines. Duration of post-vaccination immunity against yellow fever in adults. *Vaccine.* 2014;32(39):4977-4984.
83. Mussini C LP, Cozzi-Lepri A, Lapadula G, Marchetti G, Nicastrì E, Cingolani A, Lichtner, M, Antinori A, Gori A, Monforte A. CD4/CD8 ratio normalisation and non-AIDS related events in individuals with HIV who achieve viral load suppression with antiretroviral therapy: an observational cohort study. *The Lancet HIV.* 2015;2(3):e98-e106.
84. Hunt PW, Martin JN, Sinclair E, Bredt B, Hagos E, Lampiris H, Deeks SG. T cell activation is associated with lower CD4+ T cell gains in human immunodeficiency virus-infected patients with sustained viral suppression during antiretroviral therapy. *J Infect Dis.* 2003;187(10):1534-1543.
85. Bhattarai N, Stapleton JT. GB virus C: the good boy virus? *Trends Microbiol.* 2012;20(3):124-130.

86. Heringlake S, Ockenga J, Tillmann HL, Trautwein C, Meissner D, Stoll M, Hunt J, Jou C, Solomon N, Schmidt RE, Manns MP. GB virus C/hepatitis G virus infection: a favorable prognostic factor in human immunodeficiency virus-infected patients? *J Infect Dis.* 1998;177(6):1723-1726.
87. Lefrere JJ, Roudot-Thoraval F, Morand-Joubert L, Petit JC, Lerable J, Thauvin M, Mariotti M. Carriage of GB virus C/hepatitis G virus RNA is associated with a slower immunologic, virologic, and clinical progression of human immunodeficiency virus disease in coinfecting persons. *J Infect Dis.* 1999;179(4):783-789.
88. Tillmann HL, Heiken H, Knapik-Botor A, Heringlake S, Ockenga J, Wilber JC, Goergen B, Detmer J, McMorrow M, Stoll M, Schmidt RE, Manns MP. Infection with GB virus C and reduced mortality among HIV-infected patients. *N Engl J Med.* 2001;345(10):715-724.
89. Rydze RT, Bhattarai N, Stapleton JT. GB virus C infection is associated with a reduced rate of reactivation of latent HIV and protection against activation-induced T-cell death. *Antivir Ther.* 2012; 17(7):1271-1279.
90. Xiang J, McLinden JH, Kaufman TM, Mohr EL, Bhattarai N, Chang Q, Stapleton JT. Characterization of a peptide domain within the GB virus C envelope glycoprotein (E2) that inhibits HIV replication. *Virology.* 2012;430(1):53-62.
91. Xiang J, Wunschmann S, Diekema DJ, Klinzman D, Patrick KD, George SL, Stapleton JT. Effect of coinfection with GB virus C on survival among patients with HIV infection. *N Engl J Med.* 2001;345(10):707-714.

-
92. Ernst D, Greer M, Akmatova R, Pischke S, Wedemeyer H, Heiken H, Tillmann HL, Schmidt RE, Stoll M. Impact of GB virus C viraemia on clinical outcome in HIV-1-infected patients: a 20-year follow-up study. *HIV Med.* 2014;15(4):245-250.
 93. Sahni H, Kirkwood K, Kyriakides TC, Stapleton J, Brown ST, Holodniy M; OPTIMA Study Team. GBV-C viremia and clinical events in advanced HIV infection. *J Med Virol.* 2014;86(3):426-432.

Apêndice

YELLOW FEVER PREVENTION STRATEGIES AWARENESS AMONG HIV-INFECTED PATIENTS IN SÃO PAULO, BRAZIL

Vivian Iida AVELINO-SILVA(1), Hilario Sousa FRANCELINO(2) & Esper Georges KALLÁS(1,2)

SUMMARY

Introduction: Vaccination is the main preventive strategy against Yellow Fever (YF), which is a public health concern in Brazil. However, HIV-infected patients might have insufficient knowledge regarding YF, YF prevention, and vaccines in general. **Methods:** In this questionnaire-based study, data from 158 HIV-infected individuals were addressed in three distinct outpatient clinics in São Paulo. Information was collected on demographic and clinical characteristics, as well as patients' knowledge of vaccines, YF and YF preventive strategies. In addition, individual YF vaccine recommendations and vaccine status were investigated. **Results:** Although most participants adequately ascertain the vaccine as the main prevention strategy against YF, few participants were aware of the severity and lack of specific treatment for YF. Discrepancy in YF vaccine (patients who should have taken the vaccine, but did not) was observed in 18.8% of participants. **Conclusion:** YF is an important and preventable public health concern, and these results demonstrate that more information is necessary for the HIV-infected population.

KEYWORDS: HIV; AIDS; Yellow Fever; Vaccine; Questionnaire.

INTRODUCTION

Yellow fever (YF) is a public health concern in several Latin American and African countries. Vaccination is the main preventive strategy for this highly lethal disease, for which a specific treatment is lacking⁶.

In Brazil, the areas with recommendation for YF vaccine have been subjected to extension during the last decades after new YF epidemics and epizooties were documented in regions previously considered as out of risk¹⁻². Nevertheless, the population's awareness on the disease, as well as the prevention strategies, is probably far from ideal.

HIV-infected patients are supported by the Brazilian public health system, for inpatient and outpatient care, antiretroviral therapy, and vaccines. A very small percentage of HIV-infected patients attend private medical offices. Despite regular access for treatment and health information during their clinical follow up, there is a hypothesis that HIV-infected patients have insufficient knowledge regarding YF, YF preventive strategies, and vaccines in general.

To address this issue, a self-completion questionnaire was applied to 158 HIV-infected patients regularly monitored in three outpatient clinics in São Paulo, Brazil.

METHODS

A cross sectional study was performed from March to November 2013, and included HIV-infected patients regularly monitored in three outpatient clinics in São Paulo, Brazil: one large public outpatient clinic (Group 1), one HIV clinical research cohort (Group 2), and one private clinic (Group 3). All participants provided an informed consent, and participants' identities were kept confidential. The study was approved by the Ethics Committee of the University of São Paulo Medical School.

Self-completion questionnaires were applied in the clinic's waiting area, either before or immediately after the medical appointment. Data were collected regarding demographic and clinical characteristics, last season's Influenza vaccination history, and patients' knowledge of vaccines, YF and YF preventive strategies. In addition, individual YF vaccine status was investigated. All data were collected in the form of closed questions.

The demographic and clinical characteristics referred by the three groups of patients were compared by Pearson's chi-square test or by Fisher's two-sided exact test. The age between the groups was compared using the Kruskal-Wallis-test. The Bonferroni correction was calculated for each pairwise comparison performed. The 95% confidence intervals for the percentage of binomial variables were calculated using the exact binomial method. All statistical tests used a significance level of 0.05

(1) Department of Infectious Diseases, University of São Paulo Medical School, São Paulo, SP, Brazil.

(2) Discipline of Clinical Immunology and Allergy, University of São Paulo Medical School, São Paulo, SP, Brazil.

Correspondence to: Vivian Iida Avelino-Silva. E-mail: viviansilva87@gmail.com

and were performed using STATA 13.0 (StataCorp. College Station, TX: StataCorp LP).

RESULTS

The study enrolled 91 participants in Group 1, 37 participants in Group 2 and 30 participants in Group 3, for an overall population of 158 HIV-infected patients.

Most participants were male (77.9%), with a median age of 44 years. Group 1 was significantly older than Groups 2 and 3, while Group 3 had a higher proportion of white ethnicity when compared to Group 1, and a higher proportion of graduate participants when compared to Groups 1 and 2.

According to the age distribution, chronic conditions other than HIV were found more frequently in Group 1.

Most participants in the three groups reported that children, healthy adults, adults with chronic conditions and elderly are populations to whom vaccines are important. A significantly smaller proportion of participants in Group 3 reported receiving a medical recommendation for vaccines during follow up, when compared to Group 1. In addition, fewer patients in Group 3 reported receiving the flu vaccine in the last season when compared to Group 1.

Regarding YF knowledge, although most participants adequately identify mosquitoes as YF transmission agents and vaccine as the main prevention strategy, in all three groups few participants are aware of the severity and lack of specific treatment for YF.

A higher proportion of participants in Group 3 reported traveling to or living in YF endemic areas, and accordingly Group 3 had a higher proportion of vaccinated participants. Discrepancy in YF vaccine (patients who should have taken the vaccine, but did not) was observed in 18.8% of participants (CI 95% = 13.0-25.9).

Table 1
Demographic characteristics of participants and survey results

| | Total (N=158) | Group 1 (N=91) | Group 2 (N=37) | Group 3 (N=30) |
|---|------------------|-------------------|-------------------|-------------------|
| Age (median, p25-75) | 44 (36-52) | 49 | 36 | 37 |
| Male (% (N)) | 77.8 (123) | 73.6 (67) | 83.8 (31) | 83.3 (25) |
| Ethnicity (% (N)) | | | | |
| White | 60.8 (96) | 53.8 (49) | 59.5 (22) | 83.3 (25) |
| Black | 8.9 (14) | 13.2 (12) | 5.4 (2) | - |
| Mulatto | 27.9 (44) | 29.7 (27) | 35.1 (13) | 13.3 (4) |
| Other/not reported | 2.5 (4) | 3.3 (3) | - | 3.3 (1) |
| Education level (% (N)) | | | | |
| Elementary | 3.2 (5) | 4.4 (4) | - | 3.3 (1) |
| Middle school | 12.7 (20) | 19.8 (18) | 5.4 (2) | - |
| High school | 33.5 (53) | 37.4 (34) | 43.2 (16) | 10 (3) |
| College/Graduate | 50 (79; 42-58) | 37.4 (34) | 51.4 (19) | 86.7 (26) |
| Not informed | 0.6 (1) | 1.1 (1) | - | - |
| Chronic conditions other than HIV (% (N)) | 52.9 (83) | 65.9 (60) | 33.3 (12) | 36.7 (11) |
| To which groups are vaccine important? (% (N)) | | | | |
| Children | 88.0 (139) | 90.1 (82) | 78.4 (29) | 93.3 (28) |
| Healthy adults | 82.9 (131) | 80.2 (73) | 89.2 (33) | 83.3 (25) |
| Adults c. conditions | 73.4 (116) | 68.1 (62) | 75.7 (28) | 86.7 (26) |
| Elderly | 82.9 (131) | 80.2 (73) | 81.1 (30) | 93.3 (28) |
| All the above | 63.3 (100) | 59.3 (54) | 64.9 (24) | 73.3 (22) |
| Personal physician recommended vaccines during follow up (% (N)) | 81.6 (129) | 89.0 (81) | 83.8 (31) | 56.7 (17) |
| Received last season's Flu vaccine | 81.0 (128) | 89.0 (81) | 81.1 (30) | 56.7 (17) |
| Knowledge in YF (% (N)) | | | | |
| Correctly identifies mosquitoes as transmission route | 82.2 (129) | 76.9 (70) | 86.1 (31) | 93.3 (28) |
| Correctly identifies YF as potentially severe disease, with no specific treatment | 14.6 (23) | 15.4 (14) | 11.1 (4) | 16.7 (5) |
| Correctly identifies vaccine as YF prevention strategy | 86.0 (135) | 81.3 (74) | 94.4 (34) | 90 (27) |
| Travels to YF endemic areas | 44.6 (70) | 28.6 (26) | 66.7 (24) | 66.7 (20) |
| Past YF vaccine | 27.4 (43) | 15.4 (14) | 25 (9) | 66.7 (20) |
| Travels to YF endemic areas but never received YF vaccine | 18.8 (29) | 19.3 (17) | 22.2 (8) | 13.3 (4) |

DISCUSSION

Brazilian state policies define selected regions in which the vaccine is recommended, either for those living or traveling to these locations. In the last decades, massive vaccination campaigns have followed the expansions in the YF vaccine recommendation area^{1,2}. Nevertheless, this study found a large percentage of HIV-infected patients who are unaware of YF severity and lack of specific treatment. Furthermore, a significant proportion of participants should have been vaccinated, but remains unprotected.

Although several countries keep border vigilance systems for YF vaccine adequacy, vigilance for persons already inside the country's frontiers are frequently lacking. Thus, non-immune individuals may enter the vaccine recommendation regions, posing a significant individual risk, as well as a risk for YF urbanization⁷.

Several previous studies have addressed knowledge, attitudes and practices (KAP) of travelers towards travel-related infectious diseases in airport surveys, also demonstrating important drawbacks in travelers' KAP, which emphasize the need for better knowledge among travelers regarding preventable diseases^{3,8,9}.

Although income was not investigated in this survey, it is likely due to better financial conditions that more patients in Group 3 reported traveling to YF risk areas and, accordingly, more participants in this Group had been vaccinated against YF, with only 13% reporting traveling to endemic areas without previous vaccination. Group 3 had less patients vaccinated against influenza in the last season, and a smaller proportion of patients in Group 3 had received recommendation for vaccines during follow up. One possible explanation is related to the existence of a vaccination unit inside the clinic attended by Groups 1 and 2, but not by Group 3.

A general notion, possibly more consistent among individuals with a lower level of education, states that vaccines are beneficial only in extreme ages - young children and the elderly - and unnecessary in adults. This hypothesis has been tested in this study. These results may be biased due to the fact that this population of HIV-infected patients is different to the average adult population, either due to a higher level of education, or to the information delivered by the health care providers during clinical follow up. In addition, adult HIV-infected patients have specific vaccine recommendations, which might also increase awareness regarding vaccines in this population.

Risk perception is a complex issue, and previous studies have addressed the importance of effective communication on the risk of preventable diseases, as opposed to the risk of vaccination and other social, cultural and economic factors that may influence vaccination decisions¹⁷.

Anti-vaccination movements might also have an influence on vaccine compliance, but they do not seem to bring a particular impact on YF vaccine. On the other hand, reports on severe adverse events of the YF vaccine, and more specifically the YF vaccine-associated viscerotropic disease, have been described with increasing frequency. Even though the increasing frequency may be, at least, partially attributed to surveillance, the fear of such adverse events might have diminished vaccine uptake by travelers and residents in risky areas, or even health care providers'

recommendations for the vaccine; however, this hypothesis needs further investigation.

It is believed that these results are essential for this group of patients. First, they point out the main deficiencies in the knowledge of the HIV-infected population, and provide hints for education strategies. Second, they are indicators of the quality of HIV care in this setting. This is increasingly important in the Highly Active Antiretroviral Therapy era, when opportunistic conditions become rarer, and focus has changed to prevention strategies and primary care management. Third, the presence of unvaccinated participants who should have taken the vaccine in this group points to a deficiency in vaccination strategies.

This study has some limitations. The sample size was not very large and not randomly attained. Furthermore, selected outpatient clinics may not adequately represent the overall HIV-infected population. However, the results revealed important information on YF and YF vaccine awareness that may guide future actions to spread the knowledge of these issues and other preventable infectious diseases with immunogens, especially to those travelling to infectious disease-endemic areas.

In conclusion, YF is an important and preventable public health concern, and these results demonstrate that more information is necessary for the HIV-infected population.

RESUMO

Nível de conhecimento sobre estratégias de prevenção contra febre amarela entre pessoas que vivem com HIV em São Paulo, Brasil

A vacinação é a principal forma de prevenção contra a Febre Amarela (FA), doença de importância em saúde pública no Brasil. Entretanto, pessoas que vivem com HIV possivelmente possuem conhecimentos insuficientes a respeito da FA, suas formas de prevenção e também sobre vacinas de modo geral. **Métodos:** Neste estudo baseado em questionários de autopreenchimento, avaliamos dados de 158 pacientes infectados por HIV atendidos em três diferentes serviços ambulatoriais do Município de São Paulo. Foram coletados dados demográficos, clínicos, e dados relacionados ao grau de conhecimento a respeito de vacinas, da FA e de suas formas de prevenção. Além disso, avaliamos individualmente a indicação e antecedente de vacinação contra FA. **Resultados:** Embora a maioria dos participantes tenha identificado corretamente que a vacina é a principal forma de prevenção da FA, poucos tinham conhecimento a respeito da gravidade clínica e ausência de tratamento específico da doença. Discrepância na vacinação (caracterizada quando o participante deveria ter recebido a vacina, mas não a recebeu) foi observada em 18,8% dos casos. **Conclusão:** A FA é importante agravamento em saúde pública, passível de prevenção, e nossos resultados demonstram que são necessárias mais ações de educação voltadas à população de pessoas que vivem com HIV.

ACKNOWLEDGEMENTS

The authors would like to thank Karina Takesaki Miyaji, Ana Marli Sartori and Marta Heloisa Lopes for reviewing the original survey and providing useful suggestions. The authors would also like to thank Tamara Newman Lobato Sousa, Jessica Fernandes Ramos and Fabiana Stroma for helping the application of the questionnaires. This study was supported by CAPES (Ministério da Educação - Brazil).

AUTHORS' CONTRIBUTION

VIAS devised the study, participated in the collection of clinical data, study design and manuscript writing; HSF participated in the collection of clinical data and manuscript revision; EGK coordinated the study and helped to draft the manuscript. All of the authors read and approved the final manuscript.

REFERENCES

1. Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Emergências em saúde pública de importância nacional (ESPIN) de febre amarela silvestre em São Paulo e no Rio Grande do Sul e a situação epidemiológica atual no Brasil (2008/2009). Brasília: Ministério da Saúde; 2009.
2. Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Situação da febre amarela silvestre no Brasil, 2007 e 2008. Brasília: Ministério da Saúde; 2008.
3. Hamer DH, Connor BA. Travel health knowledge, attitudes and practices among United States travelers. *J Travel Med.* 2004;11:23-6.
4. Larson H, Brocard Paterson P, Erondu N. The globalization of risk and risk perception: why we need a new model of risk communication for vaccines. *Drug Saf.* 2012;35:1053-9.
5. Lima JTF. Risco de urbanização da febre amarela no Brasil. *Cad Saúde Pública.* 1985;1:377-84.
6. Monath TP. Yellow fever: an update. *Lancet Infect Dis.* 2001;1:11-20.
7. Reyna VF. Risk perception and communication in vaccination decisions: a fuzzy-trace theory approach. *Vaccine.* 2012;30:3790-7.
8. Toovey S, Jamieson A, Holloway M. Travelers' knowledge, attitudes and practices on the prevention of infectious diseases: results from a study at Johannesburg International Airport. *J Travel Med.* 2004;11:16-22.
9. Van Herck K, Van Damme P, Castelli F, Zuckerman J, Nothdurft H, Dahlgren AL, *et al.* Knowledge, attitudes and practices in travel-related infectious diseases: the European airport survey. *J Travel Med.* 2004;11:3-8.

Received: 12 November 2013
Accepted: 14 March 2014